

**BAZI ADAÇAYI VE KEKİK TÜRLERİNİN UÇUCU YAĞLARININ  
SÜPER ISITILMIŞ SU İLE EKSTRAKSİYONLARI VE GC-MS İLE  
KARAKTERİZASYONLARI**

**Pamukkale Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Yüksek Lisans Tezi  
Kimya Anabilim Dalı**

**Özkan KUTLULAR**

**Danışman: Doç. Dr. Mustafa Zafer ÖZEL**

**Haziran, 2007  
DENİZLİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAY FORMU**

Özkan KUTLULAR tarafından Doç. Dr. Mustafa Zafer ÖZEL yönetiminde hazırlanan “**Bazı Adaçayı ve Kekik Türlerinin Uçucu Yağlarının Süper Isıtılmış Su ile Ekstraksiyonları ve GC-MS ile Karakterizasyonları**” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Latif ELÇİ  
Jüri Başkanı



Doç. Dr. Adnan ÖZCAN  
Jüri Üyesi



Doç. Dr. Mustafa Zafer ÖZEL  
Jüri Üyesi (Danışman)

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun  
.../.../..... tarih ve..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

**Prof. Dr. Mehmet Ali SARIGÖL**  
Müdür

## TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca ilgi ve desteğiyle her zaman yanımda olan, değerli bilgileriyle beni yönlendiren ve kendisiyle çalışmaktan büyük onur duyduğum değerli Danışman Hocam Doç. Dr. Mustafa Zafer ÖZEL'e;

En rahat şartlarda çalışmamızı sağlayan ve ellerinden geldiği sürece her türlü olanağı sağlayan Kimya Bölüm Başkanlığı'na;

Üniversite hayatım boyunca bilgileriyle beni yönlendiren, ilgi ve destekleriyle her zaman yanımda olan Kimya Bölümümüz çok değerli Hocalarına;

Çalışmalarım boyunca her zaman yanımda olan ve hiçbir zaman beni yalnız bırakmayan Kimya Bölümü Araştırma Görevlileri ve Uzmanlarına;

Bitkilerin tanınmasında katkılarından dolayı fakültemiz Biyoloji Bölümü Öğretim Üyelerinden Doç. Dr. Ali ÇELİK'e;

GC-MS analizlerinin gerçekleştirilmesinde desteklerinden dolayı Denizli Tarım ve Köy Hizmetleri İl Kontrol Laboratuvarı Personeline;

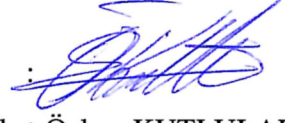
Laboratuvar çalışmalarım boyunca birlikte çalışmaktan büyük zevk aldığım Yüksek Lisans Öğrencileri Güllü Heybeli ULUTAŞ, Demirhan ÇITAK ve Selcen YILMAZ'a;

Eğitim-öğretim hayatım boyunca bana güvenerek her zaman yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, beni bugünlere kadar yetiştiren ve bana en büyük desteği veren çok sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Özkan KUTLULAR

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulguların analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğini beyan ederim.

İmza



Öğrenci Adı Soyadı : Özkan KUTLULAR

**ÖZET****BAZI ADAÇAYI VE KEKİK TÜRLERİNİN UÇUCU YAĞLARININ SÜPER  
ISITILMIŞ SU İLE EKSTRAKSİYONLARI VE GC-MS İLE  
KARAKTERİZASYONLARI**

Kutlular, Özkan

Yüksek Lisans Tezi, Kimya ABD

Tez Yöneticisi: Doç. Dr. Mustafa Zafer ÖZEL

Haziran 2007,83 Sayfa

Bu çalışmada *Origanum onites*, *Salvia fruticosa*, *Salvia officinalis*, *Sideritis montana* ve *Sideritis pisidica* türlerinin uçucu yağları süper ısıtılmış su ile ekstrakte edildi. Toplama zamanı ve tohum yaprak arasındaki miktar ve analit farkları *Origanum onites* uçucu yağlarında incelendi. C-18 katı faz kartuşu kullanılarak katı faz ekstraksiyonu tekniği ile sulu ekstraktlardan, uçucu yağ bileşenleri uzaklaştırıldı. Uçucu bileşenlerin karakterizasyonları Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Süper ısıtılmış su ekstraksiyonu, katı faz ekstraksiyonu, uçucu yağ, *Origanum onites*, *Salvia fruticosa*, *Salvia officinalis*, *Sideritis montana*, *Sideritis pisidica*, GC-MS.

Prof. Dr. Latif ELÇİ

Doç. Dr. Mustafa Zafer ÖZEL

Doç. Dr. Adnan ÖZCAN

**ABSTRACT****EXTRACTION OF ESSENTIAL OILS OF SOME SAGE AND ORİGANUM SPECIES USING SUPERHEATED WATER AND CHARACTERIZATION WITH GC-MS**

Kutlular, Özkan

M. Sc. Thesis in Chemistry

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Mustafa Zafer ÖZEL

June 2007, 83 Pages

Superheated water extraction is used to extract essential oils of *Origanum onites*, *Salvia fruticosa*, *Salvia officinalis*, *Sideritis montana* ve *Sideritis pisidica*. The effect of different collecting dates of the leaves and grains of *Origanum onites* on the essential oils amount is investigated. C-18 solid phase extraction was used to elute the essential oils from aqueous extract. The volatile components were characterized by gas chromatography -mass spectrometry (GC-MS).

**Keywords:** Superheated water extraction, solid phase extraction, essential oils, *Origanum onites*, *Salvia fruticosa*, *Salvia officinalis*, *Sideritis montana*, *Sideritis pisidica*, GC-MS.

Prof. Dr. Latif ELÇİ

Assoc. Prof. Dr. Mustafa Zafer ÖZEL

Assoc. Prof. Dr. Adnan ÖZCAN

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
Yüksek Lisans Tez Onay Sayfası.....	I
Teşekkür.....	II
Bilimsel Etik .....	III
Özet .....	IV
Abstract .....	V
İçindekiler .....	VI
Şekiller Dizini .....	VIII
Tablolar Dizini .....	IX
Simge ve Kısaltmalar Dizini .....	X
1. GİRİŞ .....	1
2. TIBBİ BİTKİLERİN TEDAVİ AMAÇLI KULLANIMI.....	3
2.1. <i>Salvia</i> ve <i>Salvia</i> Yağının Önemi .....	5
2.2. <i>Salvia</i> Yağının Tıbbi Etkileri .....	6
2.3. Türkiye’de Yetişen Bazı Endemik <i>Salvia</i> Türleri.....	8
2.3.1. <i>Salvia fruticosa</i> Mill. (Anadolu adaçayı).....	8
2.3.2. <i>Salvia officinalis</i> L. (Tıbbi adaçayı).....	9
2.3.3. <i>Salvia sclarea</i> (Misk adaçayı).....	10
2.3.4. <i>Salvia vermifolia</i> .....	11
2.3.5. <i>Salvia aucheri</i> .....	11
2.4. <i>Sideritis</i> ve <i>Sideritis</i> Yağının Önemi.....	12
2.5. Kekik ve Kekik Yağının Önemi.....	13
3. UÇUCU YAĞ VE ELDE ETME YÖNTEMLERİ.....	17
3.1. Uçucu Yağların Kimyasal Bileşimi .....	19
3.2. Uçucu Yağların Sınıflandırılması .....	20
3.3. Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri.....	21
3.3.1. Destilasyon (Damıtma) .....	22
3.3.1.1. Su destilasyonu (Basit destilasyon).....	22
3.3.1.2. Su buharı destilasyonu .....	23
3.3.1.3. Vakum destilasyonu .....	24
3.3.1.4. Ayrımsal (Fraksiyonlu) destilasyon .....	24
3.3.1.5. Kuru destilasyon .....	25
3.3.2. Ekstraksiyon.....	25
3.3.2.1. Katı faz ekstraksiyonu (Solid Phase Extraction, SPE).....	26
3.3.2.2. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu (SFE).....	29
3.3.2.3. Süper ısıtılmış sıvı su ile ekstraksiyon (SWE).....	33
3.3.2.4. Katı-sıvı ekstraksiyonu .....	36
3.3.2.5. Sıvı-sıvı ekstraksiyonu .....	38
3.3.2.6. Sıvı gaz ekstraksiyonu .....	38
3.3.2.7. Katı-gaz ekstraksiyonu.....	38
3.3.2.8. Çözücü ekstraksiyonu .....	38
3.3.3. Ekstraksiyona etki eden faktörler.....	39
3.3.3.1. Çözücü .....	39
3.3.3.2. Parçacık büyüklüğü ve dağılımı.....	40
3.3.3.3. Sıcaklık.....	40

3.3.3.4. Katı /sıvı oranı.....	40
3.3.4. Sıkma .....	41
3.3.5. Sabit yağ ile tüketme.....	41
4. GAZ KROMATOĞRAFİSİ.....	42
4.1. Gaz–Katı Kromatografisi .....	44
4.2. Gaz–Sıvı Kromatografisi .....	44
4.2.1. Hareketli faz.....	45
4.2.2. Sabit faz (kolon) ve fırın .....	46
4.2.3. Dedeksiyon sistemi .....	47
4.2.3.1. Alev iyonlaşma dedektörü (FID) .....	48
4.2.3.2. Gaz kromatografi / kütle spektrometri ( GC/ MS ) .....	48
4.3. GC’de Karşılaşılan Güçlükler .....	49
4.4. İki Boyutlu Gaz Kromatografisi (GC x GC).....	50
4.5. Gaz Kromatografisinin Gıda Analizlerinde Uygulamaları .....	53
5. MATERYAL VE YÖNTEM .....	55
5.1. Numunelerin Toplanması.....	55
5.2. Kimyasallar .....	55
5.3. Cihaz ve Malzemeler.....	56
5.3.1. Süper ısıtılmış su ile ekstraksiyon cihazı .....	56
5.3.2. Katı faz ekstraksiyonu cihazı ve SPE kartuşu.....	56
5.3.3. Gaz kromatografi-kütle spektroskopisi (GC-MS) sistemi.....	58
5.4. Süper Isıtılmış Su ile Ekstraksiyon .....	58
5.5. Katı Faz Ekstraksiyonu ile Önderiştirme .....	60
5.6. Gaz Kromatografisi.....	62
6. SONUÇLAR VE TARTIŞMA .....	63
6.1. <i>Origanum onites</i> Bitkisi ile Yapılan Çalışmaların Sonuçları.....	63
6.2. <i>Salvia</i> Türleri ile Yapılan Çalışmaların Sonuçları .....	69
6.2.1. <i>S. fruticosa</i> ile yapılan çalışmanın sonuçları.....	69
6.2.2. <i>S. officinalis</i> ile yapılan çalışmanın sonuçları .....	71
6.3. <i>Sideritis</i> Türleri ile Yapılan Çalışmaların Sonuçları.....	73
6.3.1. <i>S. montana</i> ile yapılan çalışmaların sonuçları.....	73
6.3.2. <i>S. pisidica</i> ile yapılan çalışmanın sonuçları .....	75
KAYNAKLAR .....	78
ÖZGEÇMİŞ .....	83



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1 Uçucu yağlar içerisinde bulunan bazı bileşiklerin kimyasal yapıları .....	20
Şekil 3.2 Basit Destilasyon Düzeneği .....	22
Şekil 3.3 Su Buharı Destilasyonu Düzeneği .....	23
Şekil 3.4 Vakum Destilasyonu Düzeneği .....	24
Şekil 3.5 Ayrımsal (Fraksiyonlu) Destilasyon Düzeneği .....	25
Şekil 3.6 Tek bir maddenin faz diyagramı .....	29
Şekil 3.7 SFE sisteminin basit görünüşü .....	30
Şekil 3.8 SWE sistemi alet şeması .....	34
Şekil 3.9 Katı-sıvı ekstraksiyon cihazı (Soxhlet Cihazı) .....	36
Şekil 4.1 Bir gaz kromatografi cihazı .....	45
Şekil 4.2 GC x GC cihazının şematik gösterimi .....	51
Şekil 5.1 Analiz çalışmalarında kullanılan SWE sistemi .....	56
Şekil 5.2 Çoklu SPE manifoldu .....	57
Şekil 5.3 SPE kolonu .....	57
Şekil 5.4 Ekstraksiyon hücresi .....	59
Şekil 6.1 <i>O. onites</i> bitkisi .....	63
Şekil 6.2 <i>O. onites</i> yaprağının (5 Temmuz) uçucu bileşenlerinin iki boyutlu kromatogramı .....	67
Şekil 6.3 <i>S. fruticosa</i> bitkisi .....	69
Şekil 6.4 <i>S. officinalis</i> bitkisi .....	71
Şekil 6.5 <i>S. montana</i> bitkisi .....	74
Şekil 6.6 <i>S. pisidica</i> bitkisi .....	75

**TABLolar DİZİNİ**

<b>Tablo 2.1</b> Bazı <i>Salvia</i> türleri ve içerdikleri toplam yağ miktarları.....	8
<b>Tablo 2.2</b> Bazı <i>Sideritis</i> türleri ve buldukları yerler.....	13
<b>Tablo 3.1</b> Uçucu yağ elde etme yöntemleri.....	21
<b>Tablo 3.2</b> Süperkritik akışkan, sıvı ve gaz halindeki durumlarının yoğunluk viskozite ve difüzyon katsayıları.....	31
<b>Tablo 3.3</b> Süperkritik akışkan olarak bazı önemli maddelerin kritik değerleri.....	31
<b>Tablo 3.4</b> Chlorathalonil'in süper ısıtılmış sudaki çözünürlüğüne sıcaklık etkisi .....	35
<b>Tablo 4.1</b> Kolon kromatografik yöntemlerin sınıflandırılması .....	43
<b>Tablo 6.1</b> <i>O. onites</i> yaprak GCXGC-TOF/MS sonuçları .....	65
<b>Tablo 6.2</b> <i>O. onites</i> tohum GCxGC-TOF/MS sonuçları .....	66
<b>Tablo 6.3</b> <i>S. fruticosa</i> GC-MS sonuçları .....	70
<b>Tablo 6.4</b> <i>S. officinalis</i> GC-MS sonuçları .....	72
<b>Tablo 6.5</b> <i>S. montana</i> GC-MS sonuçları .....	74
<b>Tablo 6.6</b> <i>S. pisidica</i> GC-MS sonuçları.....	76

**SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ**

SWE	Süper ısıtılmış Su ile Ekstraksiyon
SPE	Katı Faz Ekstraksiyonu
SFE	Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu
GLC	Gaz-sıvı Kromatografisi
GC	Gaz Kromatografisi
GCxGC	İki Boyutlu Gaz Kromatografisi
MS	Kütle Spektroskopisi
TOF-MS	Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi
FID	Alev İyonlaşma Dedektörü

## 1. GİRİŞ

Son yıllarda tıbbi bitkiler, organik tarım, doğal bileşikler, aromaterapi gibi terimlerle hem görsel hem de yazılı basında sıkça karşılaşılmaktadır. Aromalı ve tıbbi bitkilerin direkt veya dolaylı olarak kullanımının son yıllarda artması, çalışılmamış bitkiler üzerindeki ilgiyi arttırmıştır.

Adaçayı olarak bilinen ve Türkiye’de genellikle bitkisel çay olarak tüketilen *Salvia* türleri ülkemizde sıklıkla kullanılmaktadır. Türkiye’de mevcut olan 89 *Salvia* türünden 45 tanesi endemiktir.

Bu çalışmada, *Lamiaceae* familyasına ait *origanum*, *salvia* ve *sideritis* bitki türleri ekstrakte edilerek, içerisindeki uçucu yağlar ve oksijenli bileşikler belirlenmiştir. Bu türlerin uçucu yağlarının bazı rahatsızlıkların tedavisinde kullanımı son yıllarda artış göstermektedir. Antiseptik, uyarıcı, iltihap önleyici, terlemeyi azaltıcı, sakinleştirici olarak kullanılmaktadır.

Ekstraksiyon işlemi, kimya biliminin birçok dalında kullanılan önemli bir tekniktir. Ekstraksiyon genellikle, ya çözücülerde çözülmüş halde bulunan maddelerin ya da katı karışımlardaki maddelerin ayrılması amacı ile kullanılır. Özellikle de uçucu yağların ve oksijenli bileşiklerin elde edilmesinde en etkili metotlardan biri çözücü ekstraksiyonudur. Bu işlem tohumların ve yağ içeriği düşük maddelerin işlenmesinde pek çok avantaja sahiptir.

Ekstraksiyon aynı zamanda önderiştirme (zenginleştirme) işleminde de kullanılır. Önderiştirme işlemi için genellikle katı faz ekstraksiyonu (SPE) kullanılır. Bağlı olarak daha az organik çözücü kullanılması, hızlı, basit ve ucuz olması sebebiyle katı faz ekstraksiyonu yöntemi daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Çözücü ekstraksiyonu ve

iyon değiştirme yöntemlerine göre daha az miktarda organik çözücü gereksinimi katı faz ekstraksiyonunu çevre kirliliği açısından daha az riskli hale getirmektedir.

Su destilasyonu, su buharı destilasyonu ve çeşitli ekstraksiyon türleri uçucu yağ elde etme yöntemleri olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Süper ısıtılmış su ile ekstraksiyon (SWE) tekniği son yıllarda bitki ekstraksiyonlarında kullanılan oldukça yeni bir tekniktir. Bu tekniğin diğer ekstraksiyon yöntemlerine göre en avantajlı özelliği, çözücü olarak suyun kullanılmasıdır. Çünkü su bilinen en ucuz çözücü olmasının yanı sıra, aynı zamanda kolay bulunan, toksik olmayan, organik atık bırakmayan ve çevre dostu bir çözücüdür.

Yirminci yüzyılın ortalarına kadar analitik ayırmalar, çöktürme, destilasyon ve ekstraksiyon gibi klasik yöntemlerle yapılıyordu. Günümüzde ise bu ayırmalar özellikle numune çok bileşenli ve karmaşık ise çoğunlukla kromatografi ile yapılmaktadır.

Kromatografi, bilimin bütün dallarında uygulaması bulunan güçlü bir ayırma yöntemidir. Ancak bir analizciden istenen en kısa zamanda ve en uygun maliyette en iyi ayırmayı gerçekleştirmesidir. Bunun içindir ki son yıllarda bilim insanları karmaşık karışımları ayırmak için bir çok yeni kromatografik teknik geliştirmişlerdir.

Bu çalışmada bitki örnekleri SWE tekniği ile optimum şartlarda ekstrakte edilmiştir. SWE ile elde edilen sulu ekstraktlar uygun SPE kartuşları kullanılarak organik çözücü fazına geçirilmiştir. Çözücü fazına alınan uçucu yağlara uygun iç standartlar ilave edilerek GC-MS ile kalitatif ve kantitatif analizleri gerçekleştirilmiştir.

## 2. TIBBİ BİTKİLERİN TEDAVİ AMAÇLI KULLANIMI

Bitkilerle tedavi yöntemlerinin geçmişi çok eski yıllara dayanır. Tedavi amaçlı kullanılan bitki sayısı, antik çağlardan beri devamlı artış göstermektedir. Mezopotamya Uygarlığı döneminde kullanılan bitkisel drog miktarı 250 civarında idi. Eski Yunanlılar döneminde 600 kadar tıbbi bitki tanınıyordu. Arap-Fars uygarlığı döneminde bu miktar 4000 civarına kadar yükselmiştir. XIX. yüzyılın başlarında ise bilinen tıbbi bitki miktarı 13000 sayısına ulaşmıştır (Tan 1992).

Tüm dünya ülkelerinde olduğu gibi, Türkiye’de de tıbbi açıdan önemli bitkiler, yüzyıllardan beri halk arasında hastalıkların tedavisi amacıyla kullanılmaktadır. Türkiye, mevcut bitkisel çeşitliliği yönünden oldukça dikkate değer ve zengin bir floraya sahiptir. Bu zenginlik; üç fitocoğrafik bölgenin kesiştiği bölgede bulunması, Güney Avrupa ile Güney Batı Asya floraları arasında köprü olması, pek çok cins ve seksiyonun orijin ve farklılaşım merkezlerinin Anadolu’da oluşu, olası ekolojik ve fitocoğrafik farklılaşma ile ilgili olarak tür endemizminin yüksek oluşu gelmektedir (Tan 1992).

Son yıllarda üretilen sentetik kökenli maddelerin yan etkilerinin daha fazla olması, özellikle antimikrobiyal olarak kullanılan sentetik ilaçlara karşı organizmaların direnç oluşturmaları gibi sebepler doğal bitkisel kaynakların ve bu maddeleri taşıyan tıbbi bitkilerin önemini daha çok arttırmıştır (Nakipoğlu ve Otan 1992).

Gelişmekte olan ülkelerde nüfusun %80’i sağlık gereksinimlerini ilk etapta geleneksel tıbbi bitkilerden sağlamaktadır. Dünya nüfusunun %80’inin gelişmekte olan ülkelerde yaşadığı düşünülürse toplam nüfusun %64’ü bitkileri tedavi amaçlı kullanmaktadır (Farnworth 1990). Gelişmiş ülkelerde reçete ile satılan ilaçların yaklaşık %25’i bitkisel kökenli kimyasallardır (Principe 1991).

Tedavi amaçlı kullanılan bitkilerin en önemli biyolojik aktif maddelerinden biri alkaloidlerdir. Bunlar organik azotlu bileşiklerdir, bazik ve yakıcı özelliktedirler. Suda erimezler ve değişik asitlerle tuz oluştururlar. Tatları acıdır ve bazı türevleri de zehirlidir. Bu nedenle de bileşimi önemlidir. Ancak bitkilerin asıl şifa veren bileşikleri içerdikleri glikozitlerin kaynatılmasıyla bölünmesinden oluşan aglikonlardır. Bunlar suda çözünmeyen, hazmı zor olan bileşiklerdir ve glikozitlerin içinde bulunan şeker ile aktiviteleri artmaktadır. Aglikonlar buldukları bitkiye göre ve de bölündükleri glikozitlere göre çok farklılık göstermektedirler. Her bir aglikon türevi de farklı hastalıkları tedavide kullanılır. Genelde bitkilerin şifalı olmaları bir maddeye değil maddelerin karmaşık karışımlarına bağlıdır.

Besin maddelerine değişik tat ve koku vermek amacıyla kullanılan soğan, sarımsak, hardal ve değişik kekik türleri gibi birçok baharat ve aromatik otsu bitkilerin antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları bilinmektedir (Beuchat 1976, Zaika ve Kissinger 1981, Aureli vd 1992, Pandit ve Shelef 1994, Sivropoulou vd 1996, Marino vd 1999, Tassou vd 2000).

Son yıllarda tıbbi bitkiler ve bunlardan elde edilen aktif maddeler üzerindeki çalışmalar ve bunlara karşı olan ilgi oldukça artmıştır. Bunun başlıca sebepleri şunlardır:

1. Yeterli düzeyde bir kimya endüstrisine sahip olmayan gelişmekte olan ülkelerin, memleketlerindeki bitkilerden yararlanarak, kolay ve ucuz bir tedavi olanağı elde etmek.
2. Tedavi alanına sokulan yeni sentetik bileşiklerin bazılarında görülen tehlikeli yan etkiler. Bitkisel droglar çok uzun süreden beri tedavide kullanıldıkları için yan etkileri iyi bilinmektedir.
3. Bazı ilaç ilkel maddelerinin, bitkisel droglardan, sentetik olanlardan daha ucuza ve daha kolaylıkla elde edilebilmesi.
4. Bitkisel drogların diğer bir üstün yanı da birkaç etkiye birden sahip olmalarıdır. Sentetik bileşikler genellikle bir tek etkiye sahiptir. Bunlardan bazıları ise

antibiyotikler gibi yan etkileri önlemek için diğerk bazı ilaçlara ihtiyaç gösterirler. Bitkisel droglarda böyle bir durum yoktur.

Çalışmalarda *Lamiaceae* familyasına ait bazı *salvia ve sideritis* türleri ve bir kekik türü olan *Origanum onites* incelenmiştir. Çok eski devirlerden beri bilinen ve önemini bugüne kadar hiç kaybetmemiş olan faydalı bitkilerin bir bölümünü *salvia* oluşturur. Cinsin uçucu yağlarının bileşiminde bulunan monoterpenler ve bunların oksijenli türevleri antiseptik etkiye sahiptir. Son yıllarda bu bitki üzerine yapılan çalışmalarda hücre DNA sentezini yavaşlatan bileşiklerin varlığı ortaya konmuştur. Bu bulgu kanser araştırmaları ve tedavisi açısından önem taşımaktadır (Nakipoğlu 1989).

## 2.1. *Salvia* ve *Salvia* Yağının Önemi

Adaçayının, 6000 yıl önce Mezopotamya’da şifa amaçlı olarak kullanılan bitkilerin arasında olduğu çok uzun yıllardan beri bilinmektedir. Yapılan kazılarda elde edilen taş yazı tabletlerinde adaçayı türlerinden de bahsedilmekte ve hangi hastalıklarda şifa amaçlı olarak nasıl kullanılacağı anlatılmaktadır. Bu bilgiler, hekimlerce yeni nesillere aktarılarak bugüne kadar gelinmiştir. Tıbbın babası kabul edilen Hippokrates’in, adaçayının gücünü biraz da esprili olarak şöyle belirttiği söylenir; “Bahçesinde adaçayı ekili olan birisinin nasıl olup da öldüğünü anlayamıyorum...”

Binlerce yıldan bu yana halk hekimliğinde gözde bir ilaç olarak kullanılan adaçayı, kimya sanayinin ve laboratuvar ortamlarının gelişmesinden sonra, milyonlarca çeşit bitki gibi analizlere tabi tutularak bileşimindeki aktif maddeler tespit edilmiştir. Bu aktif maddeler, ilaç, kozmetik, gıda gibi çeşitli sanayi dallarında kullanılmaktadır. Pek çok ilacın terkinde adaçayı ekstreleri bulunur. Bileşimdeki uçucu yağı çok iyi bir antiseptiktir.

Adaçayına cins ismini veren “*salvia*” kelimesi, iyileştirmek anlamına gelen Latince “*salvare*” kelimesinden gelmektedir. Yapılan pek çok çalışmada bitkinin %1-2,5 arasında değişen oranlarda uçucu yağlara, sahip olduğu tespit edilmiştir.  $\alpha$ -humulen,  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, borneol, camphen, camphor, cineol, isothujon, limonen, manool, salven, sesquiterpenler ve tujon bitkinin önemli uçucu yağ bileşenleridir. Bunlardan tujon



yüksek miktarda alındığında zehirlidir. Bu daha çok yağ şeklinde veya alkol ile birlikte alındığında problem oluştururken, çay şeklinde içilmesinin bir zararı yoktur. *Salvia*'nın fenolik asitlerinin özellikle *Staphylococcus aureus*'a karşı etkili olduğu bulunmuştur. Laboratuvar çalışmalarında, adaçayının bazı bakteri kökenli endeksiyonlara karşı etkili olduğu tespit edilmiştir. Bitkinin uçucu yağında bulunan tujon, antiseptik ve antibiyotik özelliğe sahiptir.

Adaçayı, Balkanlar'da ve Akdeniz'de doğal olarak yetişmektedir. Dünyada sıcak ve ılıman bölgelerde yetişen 450 kadar adaçayı türü vardır. Ülkemizin Batı ve Güneybatı bölgelerinde bunlardan bazıları yetişmektedir. Ülkemizde *salvia* cinsine ait 89 tür bulunmaktadır. Bunların yaklaşık olarak yarısı endemik, yani Dünya üzerinde sadece bölgemizde yetişmektedir. 30-75 cm aralığında boylanabilen adaçayı türleri, kışın yapraklarını dökmeyen, dayanıklı otsu ve çalimsı bitkilerdir. Genellikle yakıcı kokusu olan yaprakları; bazı türlerde alacalı, hatta kırmızı ve mor renklerde olabilmektedir. Uzun saplardaki yaprakları bol yumuşak tüylerle kaplı, kadifemsi, oval, uçları sivri, soluk yeşil renklidir. Gövdenin ucunda sarmal şeklinde bir başak üzerinde bulunan mavi çiçekleri Haziran-Temmuz aylarında açmaktadır.

## 2.2. *Salvia* Yağının Tıbbi Etkileri

Tedavi amacıyla kullanılan diğer bitkilerden farklı olarak adaçayında bulunan aromatik yağ, terlemeyi azaltır ve ona dezenfektan bir özellik kazandırır. Bitkinin uçucu yağları buhar makinesinde buharlaştırılırsa, hasta odalarının bu buhar ile dezenfekte edilebileceği bildirilmektedir. Laboratuvar çalışmalarında, adaçayı yağının gram-negatif ve gram pozitif bakterilere karşı kullanılabileceği, ayrıca *Candida albicans* gibi ipliksi mantarlar ve mayalara karşı etkili olduğu da tespit edilmiştir (Baricevic vd 2001, Akhondzadeh vd 2003).

Adaçayının içerdiği rosmarinik asit, iltihap giderici etki göstermektedir. Antiseptik özelliği ile de bağırsak enfeksiyonlarında etkilidir. Antispazmik özelliğiyle adaçayı düz kaslardaki gerilimi azaltır.

Adaçayında bulunan uçucu yağlar, sindirim üzerinde uyarıcı ve gaz giderici özelliğe sahiptir. İçerdiği keskin bileşimlerle de mide salgılarının artırılmasına, bağırsak hareketliliğine, safra salgısına ve pankreas fonksiyonlarının düzenlenmesine yardımcı olur.

Adaçayının sağladığı rahatlatıcı etki nedeniyle sinirlilik, baş dönmesi ve heyecana karşı kullanılır ve zayıflamış sinir sistemini destekler.

Adaçayının diğer yararlı özellikleri de aşağıda sıralanmıştır;

- Midevidir. Sindirimi kolaylaştırır.
- Dispepsi (hazımsızlık) durumunda çok etkili bir gaz söktürücüdür.
- Gece terlemelerini en aza indirger.
- İdrar söktürücüdür.
- Kadınlarda döl yatağı kaslarını uyarır.
- Adaçayının içerdiği uçucu yağ, mukoza zarlarını iyileştirdiği için ağız, dişeti ve dildeki şikayetlerle boğaz ve bademcik enfeksiyonlarına karşı iyileştiricidir.
- Bitki antifungal etkiler taşır. Yani ciltteki mantara yağı sürülürse onları yok eder.
- Yaraların iyileşmesini hızlandırır.
- Dişleri beyazlaştırır ve sağlamlaştırır.
- Tüm bedeni güçlendirir ve kalp krizi riskini azaltır.
- Kan temizleyici etkisi vardır.
- Solunum organlarını ve mideyi balgamsı salgılardan temizler.
- Tüm ruh ve sinir hastalıklarının tedavisinde sakinleştirici olarak kullanılabilir.
- Hormonal bozuklukları düzene sokar.
- Karaciğer yağlanmalarında, beyin ve kalp damarları tıkanıklıkları, damar sertliklerinde ve daralmalarında olumlu etkileri görülmektedir.
- Kramp, omurilik rahatsızlıkları, beze hastalıkları ve organ titrekliliklerinde başarı ile kullanılır.
- Karaciğer hastalıklarında faydalıdır, vücuttaki toksini atar.
- Mide sularının düzenli çalışmasını sağlar.
- Antiseptiktir, ateşi düşürür ve vücudu dinlendirir.

### 2.3. Türkiye’de Yetişen Bazı Endemik *Salvia* Türleri

Türkiye bitki endemizmi olarak oldukça zengin bir bölgedir. Dünya üzerinde bitki endemizmi olarak önemli bir yere sahiptir. Dünya üzerinde adaçayı türü olarak 450 çeşit tür bulunmaktadır. Bunların bir kısmı sıcak ve ılıman iklim kuşaklarında bulunan Akdeniz ve batı bölgelerimizde yetiştirilmektedir. Bu türlerin birçoğu da endemik yapıdadır.

Tablo 2.1’de ülkemizde yetişen olan bazı *salvia* türleri, buldukları yerler ve yapılan araştırmalara göre toplam yağ miktarları verilmektedir.

**Tablo 2.1** Bazı *Salvia* türleri ve içerdikleri toplam yağ miktarları (Azcan vd 2004)

Türler	Yer	Uçucu yağ (%)
<i>S. albimaculata</i>	İçel: Yumrutepe	3,2
<i>S. candidissima</i>	Eskişehir: Bozdağ	5,6
<i>S. cedronella</i>	Denizli: Acıpayam	3,0
<i>S. cryptantha</i>	Eskişehir	4,7
<i>S. forskahlei</i>	Samsun: Taflan	2,7
<i>S. fruticosa</i>	Akdeniz Bölgesi	11,0
<i>S. halophila</i>	Konya: Karakulluk	20,8
<i>S. hypargeia</i>	İçel: Tekeçatı	2,0
<i>S. sclarea</i>	Adana	4,0
<i>S. tomentosa</i>	Kütahya: Darıtepe	4,6
<i>S. tchihatcheffii</i>	Ankara:Sarıaba	3,9
<i>S. virgata</i>	Kütahya: Domaniç	20,9

#### 2.3.1. *Salvia fruticosa* Mill. (Anadolu Adaçayı)

Türkiye florasında *salvia* genusuna ait 87 tür doğal yayılış göstermektedir. Ülkemizde *S. fruticosa* Mill. (Anadolu Adaçayı) bitkisi *salvia* genusunun en önemli türlerinden biridir. *Salvia triloba* L.’nin sinonimi *S. fruticosa* olarak tanımlanmaktadır. *S. fruticosa* Mill.’in anavatanı Akdeniz Bölgesi, özellikle Batı ve Güney Anadolu ve

Yunanistan olarak belirtilmektedir. Türkiye’de hem iç, hem de dış ticareti yapılan bir bitkidir. Ülkemizde Anadolu adaçayı, elma çaplası gibi isimlerle anılmaktadır.

Bitki 120 cm yüksekliğe kadar erişebilen çalimsı görünüşte ve çok yıllık olup, dalları beyaz renkli tüylerle kaplıdır. Yapraklar saplı, grimsi yeşil renkli, esas yaprakların yanında bir veya iki tarafı az veya çok gelişmiş yan yaprakçık taşımaktadır.

Bitkinin yapraklarından su buharı destilasyonu ile, renksiz veya açık sarı renkli elma yağı (*Oleum Salvia trilobae*) adı verilen bir uçucu yağ elde edilmektedir. Bu yağın elma yağı olarak isimlendirilmesinin nedeni, bazı bitki türleri dallarının ucunda 2-3 cm çapında elmayı andıran yeşilimsi kahverengi mazıların bulunmasıdır.

Bitkinin yaprakları %1-3 oranında uçucu yağ taşımaktadır. Alman kodeksine göre bitkinin içerdiği en az uçucu yağ oranının %1,8 olduğu belirtilmektedir. Uçucu yağın başlıca bileşenleri; 1,8-cineol (%40-65), camphor, borneol olup, bu türde thujon (%5) oranı oldukça düşüktür.

*Salvia officinalis* L. uçucu yağının esas maddesi thujon olmasına rağmen *S. fruticosa* Mill. uçucu yağının esas maddesini 1,8-cineol oluşturmaktadır.

*S. fruticosa* Mill. antimikrobiyal, antihipertansif, kan şekeri düşürücü ve spazmolitik etkisinden dolayı önemlidir.

### 2.3.2. *Salvia officinalis* L. (Tıbbi Adaçayı)

*Lamiaceae* familyasına dahil olan ve uçucu yağ içeren adaçayı türleri (*Salvia* spp.) özellikle Akdeniz Bölgesi’nde yaygın durumdadır. Bu tür Türkiye’de yabani olarak yayılış göstermemektedir. Ancak nadiren park ve bazı bahçelerde yetiştirilmektedir. Son yıllarda ülkemizde, bazı özel firmalar tarafından tarımına başlanmıştır.

Bu türün özellikle Almanya, Güney Fransa, Macaristan, Rusya ve Amerika’da kültürü yapılmaktadır. Hegi’ye göre *S. officinalis*’in birbirinden oldukça farklı en az 3 alt türü vardır.

Bunlar;

- *S. officinalis* spp. minor (GMELIN) GAMS
- *S. officinalis* spp. major (GARSAULT) GAMS
- *S. officinalis* spp. lavandulifolia (VAHL) GAMS'dır.

Drog olarak bitkinin yaprakları (Folia Salviae) kullanılmaktadır. Adaçayı yapraklarının en önemli maddesi uçucu yağı (*Oleum Salviae*)'dir. Bunun yanında tanen ve acı madde de taşımaktadır.

Yapraklarda uçucu yağ oranı %1-2,5 arasında değişir. Kodekslerde bu oranın en az %1,5 olması istenir. Uçucu yağın bileşimi incelendiğinde esas maddenin  $\alpha$ - $\beta$  thujon (%35-60) olduğu bunun yanında 1,8-cineol, borneol, camphor ve bornyl acetat içerdiği görülmüştür.

*S. officinalis* L. (tıbbi adaçayı) ilk çağlardan beri yararlanılan bir tıbbi bitki olup; gıda, eczacılık, parfümeri ve kozmetikte kullanılmaktadır.

### 2.3.3. *Salvia sclarea* (misk adaçayı)

Misk adaçayı olarak bilinen *S. sclarea* ülkemizin sadece Akdeniz Bölgesi değil, diğer bölgelerimizde de doğal olarak yetişmektedir. *S. sclarea* kurak taşlı bölgelerde yetişmekle beraber besin maddeleri ve humus oranı fazla olan verimli topraklarda yetişmektedir. Asitli topraklarda uçucu yağın kalitesi en iyi olmakla beraber bazik topraklarda da iyi yetiştiği tespit edilmiştir.

Misk adaçayı çiçeği solma dönemine doğru daha fazla uçucu yağ içerir. Uçucu yağın bileşiminde linalool ve linalil asetatın yanında sclareol (C<sub>20</sub>H<sub>36</sub>O<sub>2</sub>) diye bilinen alkol bulunmaktadır. Uçucu yağın büyük kısmını linalil asetat ve linalool asidik monoterprenik (%70-75) ile terpinol, pinen, cineol gibi maddeler oluşturmaktadır. Ayrıca bitki kısmında tanenler ve acı maddeler, tohumunda ise %29 oranında yağ vardır (Ay 1992, Baytop 1999).

#### 2.3.4. *Salvia vermifolia*

*S. vermifolia*, Türkiye’de dar bir dağılım göstermekte olup, *Lamiaceae* familyasının Türkiye’de yetişen endemik bir türüdür. 25-40 cm’lik gövdesi, basit yaprakları ile birkaç yıl yaşayabilen bir türdür (Davis 1982).

*S. vermifolia* yağında bulunan başlıca uçucu bileşenler, çeşitli analitik metotlar ile tespit edilmiştir. Spathulenol,  $\alpha$ -pinen, caryophyllene oxide, borneol ve camphene esans yağın içerdiği ana bileşenlerdir (Nacar ve Ilcim 2002).

*Salvia* türlerinin bileşenleri üzerindeki literatürlerde, *salvia* yağlarında ana bileşen olarak spathulenol içeren yalnızca bir rapor bulunmaktadır. *S. vermifolia* türü yüksek miktarda spathulenol (%10,95) içermektedir, yalnız ana bileşen carvacrol’dür. Aynı etken madde Başer (1993) tarafından yapılan bir çalışmada *S. amasiaca* türünde de %17 oranında tespit edilmiştir (Başer vd 1993). Bunun yanında *S. aethiopsis* örneğinde de spathulenol yüksek miktarlarda tespit edilmiştir (Torres vd 1997).

#### 2.3.5. *Salvia aucheri*

Türkiye florası içinde çok fazla çeşit *salvia* türü bulunduğu bilinmektedir. Türkiye’de en fazla tıbbi adaçayı ve misk adaçayı olarak bilinen *S. officinalis* ve *S. sclarea* bilinmektedir. *S. aucheri*’de sıklıkla bitkisel çay olarak kullanılan Türkiye’ye endemik bir türdür.

*S. aucheri*’nin esans yağları üzerine yapılan çalışmalarda uçucu yağ miktarlarının sınırlı olduğu tespit edilmiştir. *S. aucheri* türünün esans yağları üzerine yapılan diğer çalışmalarda ise ana bileşen olarak 1,8-cineole (%32,3) ve camphor (%18,9) içerdiği belirtilmiştir. Bunların yanında daha düşük miktarlarda  $\alpha$ -pinene, camphene ve  $\beta$ -pinene bulunmaktadır (Özcan vd 2003).

## 2.4. *Sideritis* ve *Sideritis* Yağının Önemi

*Lamiaceae* familyasında yer alan *Sideritis* cinsinin revizyonu, Flora of Turkey kitabında A. Huber-Morath tarafından yapılmıştır. Bu revizyona göre cinsin ülkemizde 40 kadar türü bulunmaktadır.

Son 10 yıl içerisinde Duman ve arkadaşlarının çalışmaları sonucu, dünya için 5 yeni *sideritis* tespit edilmiştir. İlk kez Duman ve Karavelioğulları tarafından Sivrihisar-Afyon arasından 1993 yılında toplanan türün teşhisi, aynı yazarlar tarafından yapılmış ve isimlendirilmiştir.

Aromatik bitkiler açısından oldukça zengin olan *Lamiaceae* familyasının üyelerinden *sideritis* cinsi, 46 tür 53 taksondan oluşmaktadır. İçerdiği taksonlardan 39 tanesi endemik olan bu cins %78,2'lik endemizm oranı ile Türkiye Florası'nda oldukça dikkat çekici bir özelliğe sahiptir.

*Sideritis* türlerinin toprak üstü kısımları çay ve halk ilacı olarak eski yıllardan beri kullanılmaktadır. Bu türlerin antispazmodik, antifeedant (böceklerde iştah önleyici), karminatif, analjezik, sinir sistemi stimulanı, sedatif, antitussif ve antikonvulzan etkilere sahip olduğu kayıtlıdır (Yeşilada vd 1989, Baytop 1999, Bond vd 2000). Ayrıca halk arasında “dağ çayı, yayla çayı” olarak isimlendirilen bu türlerden hazırlanan bu çaylar soğuk algınlığı, öksürük ve sindirim sistemi rahatsızlıklarında kullanılmakta ve bal yapıcı özelliklerinden dolayı arılarca tercih edilmektedir (Tabata vd 1993).

Bu türler fitokimyasal olarak birçok araştırmacı tarafından incelenmiş ve uçucu yağ, diterpenoid, yağ asidi kumarin ve flavonoit grubu varlıkları rapor edilmiştir (Sezik vd 1983, Özcan vd 2001).

Türkiye’de yetişen bazı *sideritis* türleri ve bunların buldukları yerler Tablo 2.2’de gösterilmiştir.

**Tablo 2.2** Bazı *sideritis* türleri ve buldukları yerler

<b>Türler</b>	<b>Buldukları Yerler</b>
<i>S. amasiaca</i> Bornm*	Çorum: İskilip-Tosyo
<i>S. armeniaca</i> Bornm*	Giresun: Alucra-Şebinkarahisar
<i>S. cilicica</i> Boiss. Et Bal.*	Adana: Kozan
<i>S. galatica</i> Bornm*	Ankara: Akyurt
<i>S. germanicopolitana</i> Bornm. subsp. <i>gemanicopolitana</i> *	Çankırı: Ilgaz yolu
<i>S. phlomoides</i> Boiss. Et Bal*	Kayseri: Yahyalı
<i>S. scardica</i> Griseb.	Kırklareli: Demirköy
<i>S. taurica</i> Stephan ex Willd	Karabük: Keltepe
<i>S. vulcanica</i> Hub.- Mor*	Elazığ: Maden-Ergani
<i>S. dichotoma</i> Huter*	Kütahya: Domaniç

\*endemik türler

## 2.5. Kekik ve Kekik Yağının Önemi

Zengin bir bitki örtüsüne sahip Anadolu’da, pek çok *origanum* türü halk arasında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

*Origanum* cinsi Türkiye’de 23 tür 32 takson, dünyada 41 tür 52 taksonla temsil edilir. *Origanum* türleri ticari öneme sahip, büyük miktarlarda ihraç edilen bir bitkidir. 2000 yılı dış ticaret istatistiklerine göre doğada toplanarak ihraç edilen kekik miktarı yaklaşık olarak 7000 tondur (Davis 1982, Başer 2000).

*O. onites* Türkiye’de ticareti yapılan beş tür arasında en çok ihracatı gerçekleştirilen türdür. Ülkemizde Ege ve Akdeniz Bölgelerinde doğal olarak yetişir. Halk arasında “Bilyalı kekik, taş kekik, peynir kekiği, İzmir kekiği” gibi yöresel adlarla bilinen *O. onites*, doğal floramızın bir türü olmasının yanı sıra kültür bitkisi olarak yetiştirilen tek ticari *origanum* türüdür. *O. onites*’in Ege bölgesinde tarımı yapılmaktadır. Oldukça yaygın kullanıma sahip ve ekonomik açıdan önemli bu bitki, halk arasında yemeklerde baharat olarak ve çeşitli şekillerde hastalıkların tedavisinde kullanılır. Toprak üstü



kısımlar midevi olarak, soğuk algınlığı ve baş ağrısı gibi durumlarda kullanılır. Uçucu yağı ile yapılan çalışmalarda analjezik etkisi tespit edilmiştir. Yüksek miktarda fenol içermesi nedeni ile antibakteriyel, antispazmodik ve antiseptik etkileri bilinmektedir (Başer vd 1993, Özhatay vd 1997).

*O. onites* Avrupa’da bilinen ismi ile “Turkish Oregano” ile yapılan çalışmalarda %1-5 uçucu yağ verimi ve uçucu yağında %50-82 carvacrol tespit edilmiştir. Antalya ve Isparta’da yetişen kemotipinde linalool (%91,9) ana bileşendir (Baytop 1991, Ögütveren vd 1992).

Şifalı bitki olarak kekik, öncelikle kramp çözücü, dezenfekte edici, balgam söktürücü olarak kullanılır. Akciğer ve bronşlar, mide ve bağırsaklar, kekiğin başlıca kullanım alanlarıdır. Bitkinin önemli etken maddesi olan uçucu yağ, kana karışıp, bronşiyal kasları etkileyerek krampları çözebilir. Aynı zamanda, o bölgede bakteri oluşmasını önler.

Kekik iştah açar ve sindirim sistemini uyarır. Bedeni kuvvetlendirir, hazmı kolaylaştırır, kalp çarpıntısını keser. Kekik çay olarak içildiğinde göğsü yumuşatmak, öksürüğü kesmek, sinirleri yatıştırmak gibi değerli niteliklere sahiptir. Kandaki şeker miktarını azaltır. Lezzet artırıcı yönlerinin yanı sıra sağlığa da çok yararlı bir bitkidir.

Kekiğin, carvacrol ve thymol gibi monoterpenik fenollerce zengin olan yağı çok güçlü mikrop öldürücü özelliğe sahip olduğundan bakteri ve mantar enfeksiyonlarında etkilidir. Bu yağ gıda endüstrisinde sıkça kullanılır. Farmakolojik deneylerde, kekik suyunun aşırı dozda bile kullanılmasıyla hiçbir toksik etki bırakmadığı bulunmuştur (Başer 2001).

Carvacrol’ün akciğer kanserinde güçlü antikanserojen etkiye sahip olduğu, sıçanlarda yapılan deneylerde gösterilmiştir. Carvacrol ve carvacrol bakımından zengin kekik yağlarının gıdaların saklanmasıdaki rolleri çeşitli çalışmalarla belirlenmiş bulunmaktadır. Gıdaların bozulmasına yol açan bakteri ve küf mantarları üzerinde güçlü antimikrobik etkilere sahip olan bu maddelerin, aflatoksin üreten *Aspergillus* türü mantarlara karşı da etkili oldukları artık bilinmektedir.

Carvacrol'un kanıtlanmış diğer yararlı etkileri ise şunlardır; bazı böceklere karşı insektisit (böcek öldürücü) etki, bitki büyümesini önleyici etki, antihistaminik (alerji ve kaşıntıyı önleyici) etki, antioksidan etki.

Türkiye'den en fazla ihracatı yapılan kekik türü "bilyalı kekik" ismiyle bilinen *O. onites* ihracatı yapılan kekiklerin %80'ini bu tür oluşturmaktadır. Yurdumuzun Ege ve Batı Akdeniz bölgelerinde yayılış gösteren bu kekik türü genellikle doğadan toplanıyor. Dünya pazarlarında rağbet gördüğü için talebi karşılamak amacıyla Ege bölgesinde tarımı da yapılmaktadır.

Bu türün çiçekleri küçük küreleri andırıldığından halk arasında bilyalı kekik adıyla bilinmektedir. Bu türün uçucu yağında karvakrol oranı %50-82 arasındadır (Başer 2001).

Dünyada kekik çeşitleriyle ilgili birçok araştırma yapılmakta, bu araştırmalar sonucunda bu bitkilerin mikrop öldürücü özellikte olduğu ve yoğun şekilde fenolik madde içerdiğinin saptanmasından dolayı, kekiğin sağlığa faydalarını şöyle özetlenebilir:

Kekik, içerdiği maddelerle hücrelerden salgılanan serbest radikalleri bağlayarak sağlık açısından birçok fayda oluşturmaktadır. Kekik, içeriğindeki maddelerle vücutta hücre koruma sistemlerini geliştirmesiyle antioksidan, kanser oluşumunu engellemesiyle antikanserojen, diyabet hastalığını engellemesiyle antidiyabetik ve vücuttaki kolesterol oranını ayarlamasıyla antikolestremik özellikler taşımaktadır. Bu özellikleri ile kekik, yaşlılığı geciktirmekte, tümör oluşumunu engellemekte, şeker hastalığına iyi gelmekte ve gıdaların bozulmasını doğal yollarla engellemektedir.

Kekik üretimi ve ticaretinin geliştirilmesiyle ülke ekonomisine ciddi katkılar sağlanabilmektedir. Türkiye'de yıllık ortalama 11 bin ton civarında kekik üretimi yapılmaktadır ve bundan 21 milyon dolar gelir elde edilmektedir.

Türkiye'nin ABD, Avustralya, Kanada ve Avrupa ülkelerine ihraç ettiği kekik türleri arasında Türk kekiği (*O. onites*), sütçüler kekiği (*O. minutiflorum*), karabaş kekiği (*Thymbra spicata*) ve beyaz kekik (*O. majorana*) bulunmaktadır. Kekik

üretimnin ülke ekonomisine sağladığı katkının artırılması için, üretimin teşvik edilmesi gerekmektedir.

Türk kekiği kalitesini dünyaya kabul ettirmiştir. Ülkemizdeki işletme tesislerinde üretilen kekik; temiz olması ve yüksek oranda yabancı madde taşımaması nedeniyle kabul görmektedir (Olivier 1997, Oflaz, 2001). Bu nedenle, yılda 650 ton kadar başka ülkelerin kekik ürünü Türkiye’de işlenerek tekrar ihraç edilmektedir (Oflaz 2001).

### 3. UÇUCU YAĞ VE ELDE ETME YÖNTEMLERİ

Uçucu yağlar, aromatik bitkilerden veya bitkisel droglardan elde edilen, bitkiler aleminde yaygın olarak bulunan, kendine has koku, tat, renk ve görünümünün yanı sıra uçucu özelliğe sahip, oda sıcaklığında sıvı halde olan fakat bazen donabilen yağimsı karışımlardır (Tanker vd 1976, Baytop 1983).

Açıkta bırakıldığında, oda sıcaklığında bile buharlaşabildiklerinden “uçucu yağ”, “eterik yağ”, “esans” gibi adlar verilen bu yağlarda terpenik hidrokarbonlar ve bunların oksijenli türevlerinin yanı sıra organik asitler, alkoller, fenoller ve ketonlar da bulunabilmektedir (Tanker vd 1976, Baytop 1983).

Bitkilerdeki uçucu yağlar; bitkilerin salgı sistemleri olan salgı tüyleri, salgı hücreleri, salgı kanalları ve salgı ceplerinde oluşmaktadır. Bazen *Piperaceae* familyasında olduğu gibi değişikliğe uğramış parenkima dokusu içine yayılmıştır. Bazen de gülde olduğu gibi epiderm ya da parenkima hücrelerinde dağılmış halde bulunur. Uçucu yağın bitkide doğrudan doğruya protoplazmada olduğu ya da hücre çeperinin reçinemi tabakasının dekompozisyonu ile olduğu ileri sürülmektedir. Bazen de glikozitlerin hidrolizi ile oluşur (Tanker vd 1976, Baytop 1986).

Bitkide herhangi bir biyolojik olaya katılmayan bu salgı maddesinin hangi amaçla olduğu tam olarak bilinmemektedir. Ancak, bitkinin, artık metabolizma ürünlerinin atılmasında rol oynadıkları ileri sürülmektedir. Bitkinin yaralanması sonucu oluşan reçineyi çözme özelliğine sahiptir. Uçucu yağların yaydıkları koku ile böcekleri cezp ederek tozlaşmaya yardımcı olduğu, böcekleri kaçırıcı etkide olanları ise bitkinin korunmasında etkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, uçucu yağ taşıyan bitkilerin genellikle Akdeniz ve step iklimleri gibi sıcak iklimlerde fazla miktarda olması

sebebiyle uçucu yağın bitkinin üzerindeki havayı bağlayarak fazla su kaybını önlemek amacıyla salgılandığı düşünülmüştür (Berk 1953, Tanker vd 1976, Manville vd 1989).

Uçucu yağların çoğu sudan hafiftir ve suyla karışmadığından suyun üstünde toplanır. Ancak bileşimindeki oksijenli bileşiklerin bir kısmı suda çözünürler. Bu özelliklerine dayanılarak aromatik sular hazırlanabilmektedir. Uçucu yağlar, petrol eteri, benzen, eter, etanol gibi organik çözücülerin çoğunda çözünürler. Sulu etanolde çözünebilme özellikleri uçucu yağları sabit yağlardan ayırır. Uçucu yağın belli derecedeki etanolde çözünürlük oranı saflık kontrolünde yardımcı olur. Kırılma indisleri yüksek olup çoğunlukla optikçe aktiftirler. Spesifik çevirmeleri uçucu yağı tanımaya yardımcı olur. Ayrıca kırılma indisi ve polarize ışığı çevirme derecesindeki farklılıklar uçucu yağın saflığının bozulmuş olduğunu gösterir (Tanker vd 1976).

Çoğu uçucu yağlar çok sayıda bileşiğin karışımından oluşmaktadır. Bu yüzden kimyasal kompozisyonları oldukça karmaşıktır. Genellikle hidrokarbonlar ve oksijenli hidrokarbon türevlerinden meydana gelmiştir. Uçucu yağların çoğu terpenoit kökenlidir. Çok az bir kısmında aromatik benzen türevleri terpenlerle karışım halindedir. Terpenler  $(C_5H_8)_n$  genel formülüne uyan hidrokarbonlardır ve 2 izopren molekülünün kondenzasyonu ile meydana gelirler.

Bitkilerde doğal olarak oluşan yağların, bitkinin gerçek özü olduğu ve de hiçbirinin diğerine eşit olmadığı düşünülmektedir. Bitki metabolizmasının artıkları da olabilecek bu ürünlerin, tam olarak ne olduğunu hiç kimse bilmemektedir. Bunlar bitkinin değişik bölümlerinde oluşur ve dolaşırlar, örneğin akşamları çiçeklerde çok yoğun olan esanslar, sabahları yapraklarda toplanabilir. Bir bitkinin özel bir yerinden elde edilen bir esansın kimyasal ve tıbbi özellikleri, bitkinin ait olduğu kısma göre farklılıklar gösterebilir. Örneğin portakal ağacı çiçeğinden elde edilen esans, insan vücudunda, portakal kabuğundan elde edilene göre çok farklı etki gösterir. Onun için yağları ve özelliklerini çok iyi bilmek gerekir.

### 3.1. Uçucu Yağların Kimyasal Bileşimi

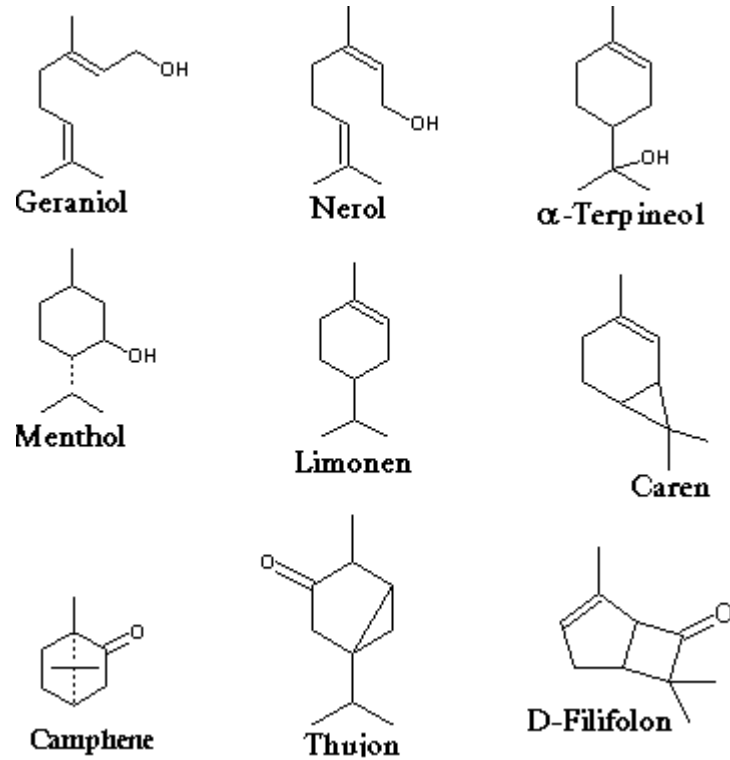
Kimyasal bileşimleri bakımından uçucu yağlar elde edildikleri bitkilere göre farklılık gösterirler. Ancak içerdikleri maddelere göre sınıflandırabiliriz;

- Terpenik maddeler
- Aromatik maddeler
- Düz zincirli hidrokarbonlar
- Azot ve kükürt taşıyan bileşikler.

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

Monoterpenleri üç grupta inceleyebiliriz. Bunlardan birincisi etken maddeleri asiklik monoterpen türevleri olanlardır ve bunlara örnek olarak ocimen, citral, citronellal, geraniol verilebilir. Bu bileşikler özellikle gül, bergamut, kişniş, melissa, limon, safran gibi bitkilerden elde edebiliriz. Monoterpenlerin ikinci grubunda ise etken maddesi monosiklik monoterpen türevleri yer almaktadır. Bunlara örnek olarak nane, kimyon, okaliptus, defne gibi bitkilerden elde edilen terpinen, menthol, cuminal gibi maddeler yer almaktadır. Son grupta ise etken maddeleri disiklik monoterpen türevi olan maddeler yer alır. Sabinen, thujon, camphen örnek olarak gösterilebilirler. Bu bileşiklerin yaygın olarak bulunduğu bitkiler ise halk dilinde pelin otu, kuş dili, kedi otu, solucan otu, pire otu olarak bilinmektedir.

Uçucu yağlar içerisinde monoterpenler olarak bulunabilenlere; geraniol, nerol,  $\alpha$ -terpineol, menthol, limonen gibi maddeler örnek olarak verilebilir.



**Şekil 3.1** Uçucu yağlar içerisinde bulunan bazı bileşiklerin kimyasal yapıları

### 3.2. Uçucu Yağların Sınıflandırılması

Uçucu yağlar koku ve tat özelliklerine göre, farmakolojik ve terapik etkilerine göre de sınıflandırılabilirler. Aromatik özelliklerine göre kısaca üç gruba ayırabiliriz;

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

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

Farmakolojik olarak ve terapik etkilerine göre de uçucu yağlar gruplandırılabilirler. Bu grupta yer alan uçucu yağlar genellikle tedavi amaçlıdır ve alternatif tıbbın önem kazanmasıyla da önemleri artmıştır (Ceylan 1997).

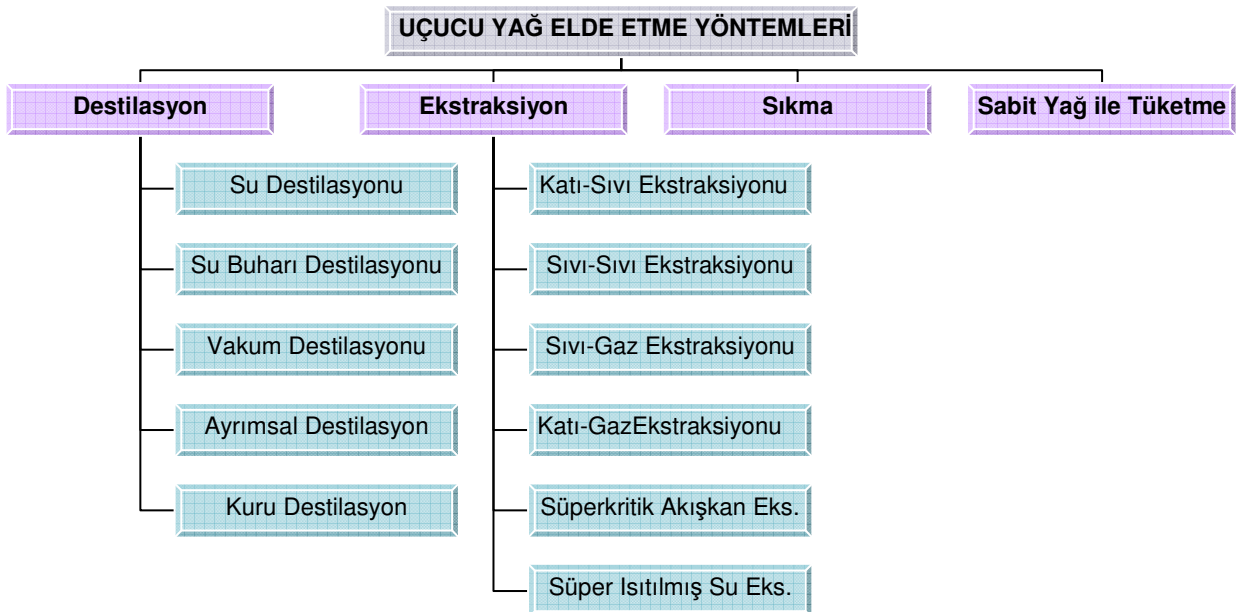
Uçucu yağlar buldukları bitkilere göre aşağıdaki gibi sınıflandırılmıştır:

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

### 3.3. Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri

Uçucu yağlar genellikle bitkinin uçucu yağı taşıyan kısımlarından elde edilir. Esans yağları bitkinin tomurcuklarından, çiçeklerinden, yapraklarından, gövdesinden, dallarından ve köklerinden elde edilebilir. Uygulanacak yöntem bitkinin ısıya dayanıklılığına, uçucu yağın miktarına, suda çözünüp çözünmemesine ve bileşenlerine bağlı olarak seçilir (Hill 1952).

**Tablo 3.1** Uçucu yağ elde etme yöntemleri





### 3.3.1. Destilasyon (Damıtma)

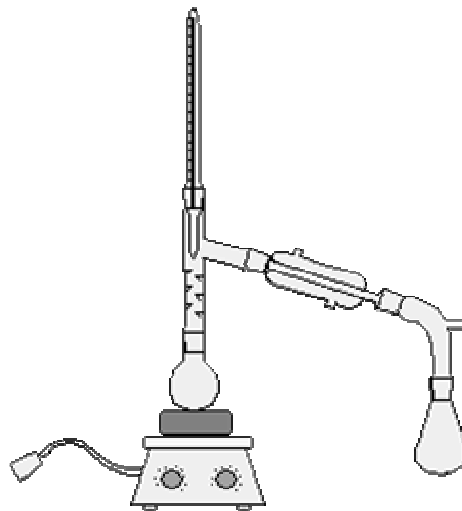
Organik bileşikler için ayırma ve saflaştırma yöntemlerinden en önemlisi destilasyondur. Sabit basınç altında kaynatılan bir sıvı karışım üzerinde oluşan buharın soğutucudan geçirilerek yoğunlaştırıldığı her işleme genel olarak “destilasyon” yada “damıtma” denir (Sarıkaya 1997).

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

#### 3.3.1.1. Su destilasyonu (Basit destilasyon)

Su ile temasta iken ısı etkisiyle bozulmayan bitkisel materyalden uçucu yağ, su destilasyonu yöntemi ile elde edilir. Bu yöntemle bitkilerden uçucu yağ elde edilebildiği gibi aromatik suda elde edilebilmektedir.

Uçucu yağların çoğunun kaynama noktası suyun kaynama noktasından yüksek olmasına rağmen uçucu yağların su buharı ile sürüklenilme özeliğinden faydalanılarak ve su buharının kısmi basıncının da etkisiyle normal kaynama noktalarının altındaki sıcaklıklarda buharlaştırılabilmektedir (Guenther 1972).



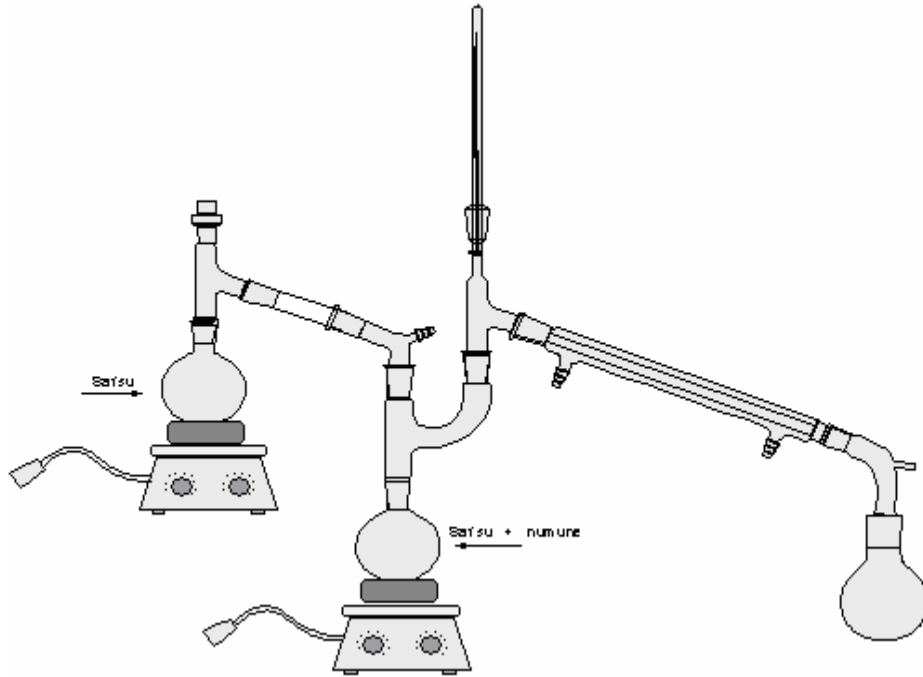
**Şekil 3.2** Basit Destilasyon Düzenegi

Su destilasyonu ile uçucu yağ elde edilmesi sırasında uçucu yağ bitki membranlarından sıcak su ile difüzlendirilmektedir. Ancak bu işlemler sırasında bazı istenmeyen etkilerde ortaya çıkmaktadır. Bu etkiler;

- Uçucu yağdaki bazı bileşenlerin hidroliz olması.
- Isı etkisi ile yağda bozunma-parçalanma olmasıdır (Guenther 1972).

### 3.3.1.2. Su buharı destilasyonu

Doygun ve aşırı ısıtılmış buharla bitkilere uygulanan bir yöntemdir. Su buharı damıtması ile kendi kaynama noktasında bozunmaya uğrayan maddeler düşük sıcaklıklarda bozunmadan damıtılabilir. Atmosfer basıncında yapılabildiği gibi nispeten atmosfer basıncından yüksek basınçlarda da uygulanabilen bir yöntemdir.

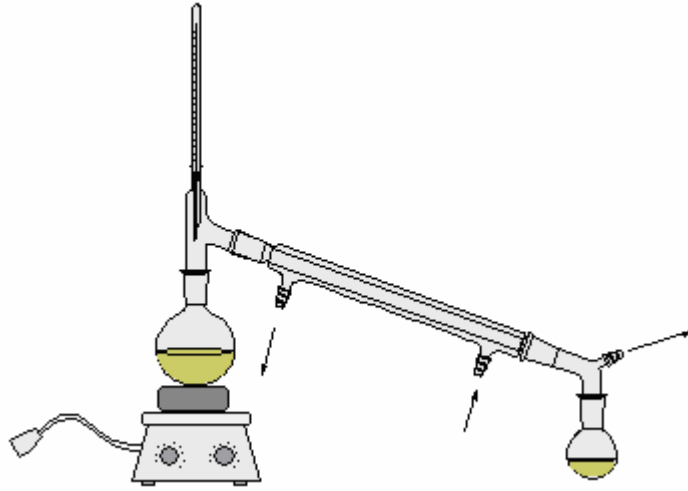


**Şekil 3.3** Su Buharı Destilasyonu Düzenegi

Buhar destilasyonu boyunca bazı maddeler dayanıklılıklarını sürdürebildikleri halde bazı maddeler ısı etkisiyle hidroliz olurlar. Bu hidrolizi engellemek yada en düşük düzeye indirebilmek için hücre zarından su ve buhara difüzyon hızını çok iyi düzenlemek ve destilasyonu mümkün olduğu kadar hızlı yapmak gerekir (Tanker vd 1976).

### 3.3.1.3. Vakum destilasyonu

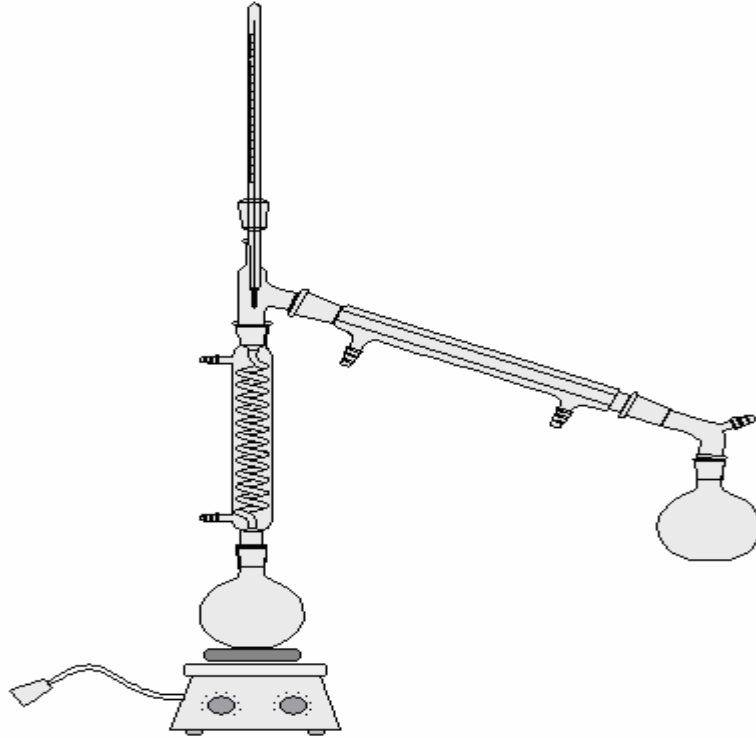
Bazı maddeler atmosfer basıncında destile edildikleri zaman bozunurlar. Bunları düşük basınçta, daha düşük sıcaklıklarda destile etmek mümkündür. Böylece madde bozunmadan destile edilebilir. Atmosfer basıncından daha düşük bir basınçta yapılan destilasyona “vakum destilasyonu” denir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4 Vakum Destilasyonu Düzenegi

### 3.3.1.4. Ayrımsal (Fraksiyonlu) destilasyon

Endüstride çok uygulanan ve birden fazla maddenin birbirinden ayrılmasında kullanılan yöntemdir. Karışımdaki ayrılacak maddelerin kaynama sıcaklıkları birbirine yakın ise bunlar “ayrımsal damıtma” ile ayrılırlar (Şekil 3.5). Bu işlem için su destilasyonundaki balon ile soğutucu arasına fraksiyon başlığı takılır.



**Şekil 3.5** Ayrımsal (Fraksiyonlu) Destilasyon Düzeneği

### 3.3.1.5. Kuru destilasyon

Bazı bitki materyalleri kuru kuruya ısıtıldıkları zaman uçucu maddeler kısmen de olsa parçalanarak destile olurlar. Pirojenasyon adını alan bu işlem özel imbiklerde uygulanır. Kuru destilasyon uygulanacak materyal kurutulur. Küçük parçalar halinde kazanlara doldurulur ve yüksek ısıda kuru kuruya destile edilir. Destilasyon ürünleri soğutucudan geçirilerek toplama kabında toplanır.

### 3.3.2. Ekstraksiyon

Sabit sıcaklık ve basınçta bir maddenin iki fazdaki denge derişimlerinin farklı olmasından yararlanılarak yapılan ayırma işlemine “ekstraksiyon” denir.

Genellikle, ya çözücülerde çözülmüş halde bulunan maddelerin yada katı karışımlardaki maddelerin ayrılması amacı ile kullanılır. Bazen bir maddenin ihtiva ettiği çözünebilir maddelerin uzaklaştırılması için de ekstraksiyon yöntemine başvurulur. Ekstraksiyon işleminin temeli Nernst dağılma yasasına dayanır.

Hem anorganik hem de organik çözücülerin birbirleriyle karışmayan iki sıvı arasında dağılma dereceleri önemli ölçüde birbirinden farklıdır ve bu dağılma farkları analitik ayırmalarda yıllardır kullanılmaktadır.

Ekstraksiyon için çözücü seçilirken dikkat edilmesi gereken bazı özellikler vardır.

- Ana çözültideki çözücü ile karışmaması veya çok az karışması
- Ekstrakte edilecek maddeyi iyi çözmesi
- Ekstrakte edilen maddeyi kolayca ayırabilmeli
- Ucuz ve kolay bulunur olması

Bir maddeyi bir çözücü vasıtasıyla bir ortamdan başka bir ortama alma işlemine ekstraksiyon denir. Çeşitli ekstraksiyon çeşitleri vardır. Bunlar;

1. Katı faz ekstraksiyonu (SPE)
2. Süper kritik akışkan ekstraksiyonu (SFE)
3. Süper ısıtılmış su ile ekstraksiyon (SWE)
4. Katı-sıvı ekstraksiyonu
5. Sıvı-sıvı ekstraksiyonu
6. Katı-gaz ekstraksiyonu
7. Sıvı-gaz ekstraksiyonu
8. Çözücü ekstraksiyonu
9. Basınçlı sıcak çözücü ekstraksiyonu (ASE)

### **3.3.2.1. Katı faz ekstraksiyonu (Solid phase extraction, SPE)**

Katı faz üzerinde tutulma yoluyla analitlerin çözültiden saflaştırılması ve önderiştirme için örnek hazırlanması ve enstrümantal analizler için uygun bir çözücü ile analize hazırlanması metodudur. Sıvıdaki analitlerin katı fazda tutulması, daha sonra ortama ilave edilen bir çözücü ile katı fazdan analitlerin geri alınmasıdır. SPE nin iki tür kullanıma amacı vardır.

1. Eser miktarda bulunan elementin deriştirilmesi (zenginleştirme yöntemi).
2. Numunenin bulunduğu ortamı analize uygun hale getirilmesi.

Sıvı-sıvı ekstraksiyonunda emülsiyon fazı oluşabilir ve bu ekstraksiyon verimini azaltır. Bu nedenden dolayı sıvı-sıvı ekstraksiyonu yerine katı faz ekstraksiyonu kullanılabilir.

Katı faz ekstraksiyonunda üç ayrı yöntem kullanılabilir;

1. Ters faz (Reversed phase) SPE: Apolar moleküller tutulur. Apolar etkileşimler ve Van der Waals kuvvetleri ile tutunma gerçekleşir. Silikanın ucuna  $C_{18}H_{37}$  bağlanmıştır ve bu aktif uç yardımıyla apolar moleküller tutulabilir.

Ters faz sisteminde analitin bulunduğu sıvı faz polar, katı faz ise apolar olup dolgu materyali olarak kullanılır. Ters fazda kullanılan dolgu materyalleri; LC-18, ENVI-18, LC-8, ENVI-8, LC-4, LC-Ph ve Hisep'tir. Adsorblanmış bileşiği ters faz SPE tüpünden ayırmak için apolar çözücü kullanılır. Böylelikle adsorblayıcı yüzeyiyle bileşik arasındaki bağ koparılmış olur.

2. Normal faz (Normal phase) SPE: Polar moleküller tutulur. Silikanın ucunda alümina, CN gibi polar madde vardır. Tutunma dipol-dipol etkileşimi, dipol-indüklenmiş dipol etkileşimi veya hidrojen bağları ile gerçekleşir.

Normal faz sisteminde analitin bulunduğu sıvı apolar, katı sabit faz ise polar karakterlidir. Polar analit, apolar matriks (aseton, hegzan, klorlu çözücü) ve polar sabit fazın ortasındadır. Polar fonksiyonel bağlı silikalar; LC-CN, LC-NH<sub>2</sub>, LC-Diol, LC-S, LC-Florosil, ENVI-Florosil ve LC-Alümina'dır. Normal fazda; hidrojen bağı, dipol-dipol etkileşimi ve dipol-indüklenmiş dipol etkileşimleri görülür. Bu mekanizmalar tarafından adsorbe edilen bir bileşik, mekanizma bağlarını bozan bir polar çözücünün geçmesi ile ayrılır. Genellikle bu çözücü maddenin orijinal matriksinden daha polardır.

3. İyon değiştirme (Ion Exchange) SPE: Katyon değiştirme ve anyon değiştirme mekanizması olmak üzere iki çeşit iyon değiştirme mekanizması vardır. Katyon tutuculara SCX, anyon tutuculara SAX adı verilir.

Katı faz ekstraksiyonu beş basamakta gerçekleşir;

- **Uygun katı faz kartuşu seçilir.**
- **Şartlandırma basamağı:** İlgilenilen bileşiğin tutulmasını sağlamak için, örnek uygulamadan önce absorbanın çözücüsü ile yıkanır. Bu aşamada, paketlenmiş materyalden (kartuş) çözücü baştan sona geçirilerek sorbentin fonksiyonel gruplarının çözünmesini sağlar. Kolon içindeki hava uzaklaştırılır ve boşluklar çözücü ile doldurulur. Tipik hazırlama çözücüsü metanoldür. Ardından su veya sulu tampon çözeltisi kullanılır. Böylece kolon aktive edilir. Kolonun aktive edilmesi sulu örneklerin tutunma mekanizmalarının uygun çalışmasını sağlamak içindir.
- **Alıkoyma Basamağı:** Numune sistemden geçirilir ve adsorban tarafından tutulur. Bu basamakta analiti içeren örnek kolona ilave edilir. Örnekler; yerçekimi, pompalama, vakum veya otomatik sistemlerle kolona yerleştirilir. En önemli mekanizma, örnek ilave edilirken kolon üzerinde analitin tutunmasıdır. Bu basamakta, analit sorbent üzerinde konsantre edilir.
- **Yıkama Basamağı:** Ortamda tutunan istenmeyen bileşikler kolondan yıkama ile uzaklaştırılır.
- **Çözerek Alma Basamağı:** Katı fazda tutunan bileşik uygun bir çözücü ile elüe edilir. Uygun bir çözücü ile analitin sorbentten ayrılması sağlanır. Uygun çözücü analiti iyi ayırmalı ve analit-sorbent etkileşimine sebep olmamalıdır.

Bu beş basamaklı metot SPE'nin temel metodudur.

SPE için kullanılan sorbentler; diskler, kartuşlar ve şırıngalar olarak üç temel şekilde paketlenir.

Diskler, 4-90 mm arasındaki farklı yarıçaplarda kullanılabilir. En popüler ekstraksiyon disklerinden biri Empore ekstraksiyon diskidir. Bu disk politetrafloretillen

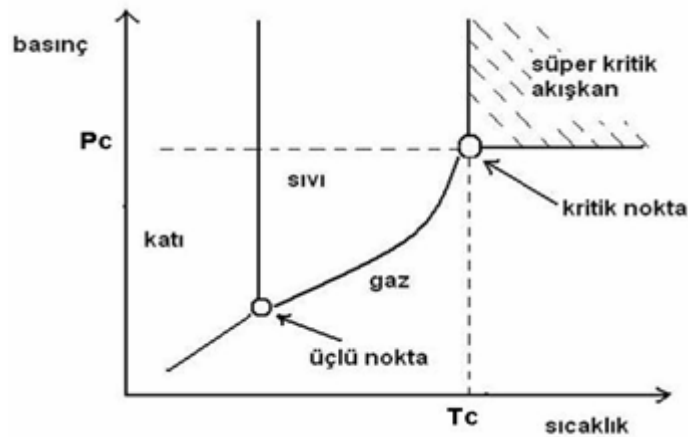
fibrillerinden oluşan inert bir matris içine yerleştirilir. Diskin en büyük avantajı büyük hacimli örnekler için yüksek akış oranı sağlayan geniş yüzey alanına sahip olmasıdır ve hızlı kütle transferidir. Kartuşlar,  $100 \text{ mg}^{-1} \text{ g}$ 'a kadar küçük veya daha fazla oranlarda değişir.

Şırıngalar ise farklı hacimlerde ve farklı kütlelerde paketlenmiş malzemeler kullanılır. Bunlar 1-25 mL hacimli olup paket ağırlıkları 50 mg–10 g arasındadır. Halen SPE 'de en çok kullanılan format şırıngalardır.

Ekstraksiyon işleminin çok kısa sürede olması ve sistemin karmaşık olmaması bu yöntemin avantajlarından. Dezavantajı ise üretici firmaların kartuşları genellikle tek kullanımlık üretilmelerinden dolayı maliyetinin biraz yüksek olmasıdır.

### 3.3.2.2. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu (Supercritical fluid extraction, SFE)

Süperkritik akışkan, kritik sıcaklık ve kritik basınç bariyerlerini aşmış maddeler şeklinde tanımlanabilir. Bir madde için kritik sıcaklık, basınç ne olursa olsun o sıcaklığın yukarısında maddenin sıvı bir faz olarak bulunamayacağı sıcaklıktır. Maddenin kritik sıcaklığındaki buhar basıncına da kritik basınç denir. Yirmi yılı aşkın bir süredir süperkritik akışkanlar birçok önemli çalışmada sıklıkla kullanılmaya başlandı ve uygulama alanları da artmaktadır. Şekil 3.6'da bir maddenin faz diyagramında süper kritik akışkan hali gösterilmiştir.



Şekil 3.6 Tek bir maddenin faz diyagramı

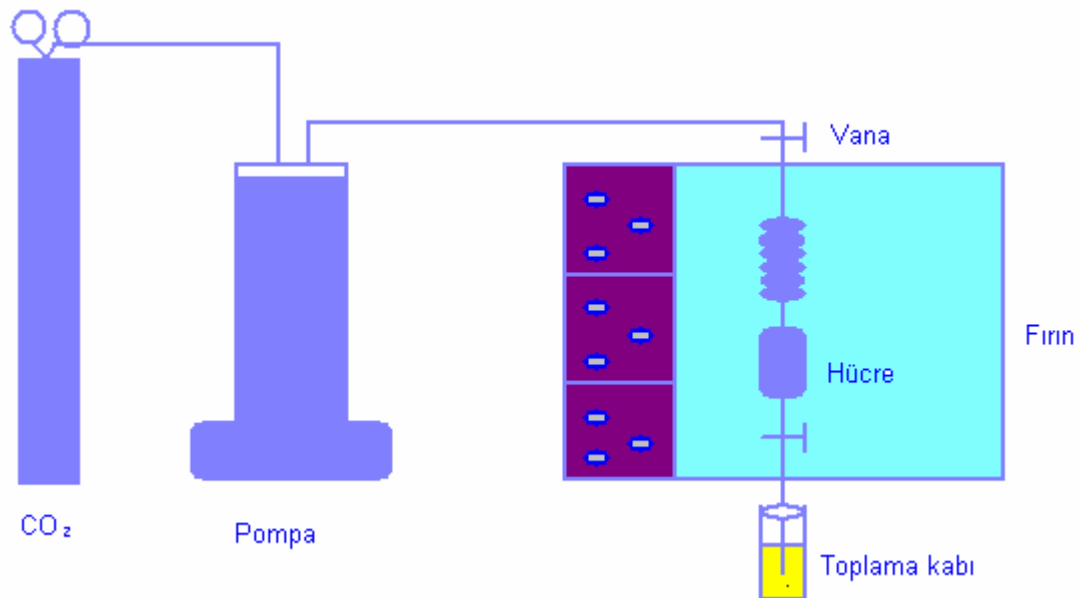


Süperkritik akışkanlar, yüksek derecede sıkıştırılmış gazlar gibi, hem sıvı hem de gaz özellikleri kombine ederler. Süperkritik akışkanlar; basınç altında, kritik sıcaklığın üzerindeki maddeler olarak tanımlanabilir. Kritik sıcaklıkta, sıvı ve gaz fazların arasındaki farkın ortadan kalkması, grafik olarak şekil 3.6'daki gibi verilebilmektedir.

Süperkritik akışkanların özelliklerini şu şekilde sıralamak mümkündür;

- Süperkritik akışkanlar, sıkıştırılabilir, homojenlik ve sürekli değiştirilebilir özellikleri gibi önemli karakteristikler gösterir.
- Süperkritik akışkanlar, gaz ve sıvı arasında özelliklere sahiptirler, basınçla kontrol edilirler.
- Sıvı ve gaz olarak kondense edilemezler veya buharlaştırılmazlar.
- Çözünürlük, artan basınçla dolayısıyla artan yoğunlukla beraber artar.
- Süperkritik akışkanlar, permanent gazlar ile (örneğin  $N_2$  ve  $H_2$  gibi) tamamen karışabilir.

Süper kritik akışkan elde etmek için kullanılan bir düzenek şekil 3.7'de gösterilmiştir.



**Şekil 3.7** SFE sisteminin basit görünüşü

Çözünürlük ve ekstraksiyonda akışkan yoğunluğu önemli rol oynamaktadır. Tablo 3.2’de süperkritik akışkanın sıvı ve gaz halindeki durumlarının yoğunluk, viskozite ve difüzyon katsayıları karşılaştırılmıştır. Tablo 3.3’de de süperkritik akışkan olarak kullanılan bazı maddelerin kritik değerleri verilmiştir.

**Tablo 3.2** Süperkritik akışkan, sıvı ve gaz halindeki durumlarının yoğunluk, viskozite ve difüzyon katsayıları

Faz	Yoğunluk(g/cm <sup>3</sup> )	Viskozite (g/cm. s)	Difüzyon Katsayısı (cm <sup>2</sup> /s)
<b>Gaz</b>	$(0,6-2,0) \times 10^{-3}$	$(0,1-3,0) \times 10^{-3}$	0,1-0,4
<b>Süperkritik akışkan</b>	0,2-0,5	$(1,0-3,0) \times 10^{-4}$	$7 \times 10^{-4}$
<b>Sıvı</b>	0,6-1,6	$(0,2-3,0) \times 10^{-2}$	$(0,2-2,0) \times 10^{-5}$

Sabit sıcaklıkta, basınç arttıkça akışkan yoğunluğu artar, yoğunluk artışıyla da hem çözünürlük hem de ekstraksiyon verimi artar. Sabit basınçta ise sıcaklık artışı ile yoğunluk azalırken bazen çözünürlük artar ki burada etkin güç kinetik enerji artışıdır, eğer düşüyorsa ki buradaki etkin güçte yoğunluk azalmasıdır. Çözünürlük devamlı yoğunluk artışı ile artmaktadır.

**Tablo 3.3** Süperkritik akışkan olarak bazı önemli maddelerin kritik değerleri

Akışkan	Kritik Sıcaklık (T <sub>c</sub> / °C)	Kritik Basınç (P <sub>c</sub> / bar)
<b>Karbon dioksit</b>	31	74
<b>Su</b>	373	221
<b>Propan</b>	97	43
<b>Ksenon</b>	17	58
<b>Etan</b>	32	49
<b>Amonyak</b>	133	114
<b>Nitröz oksit</b>	37	72
<b>Floroform</b>	26	49

Gazlar yüksek basınç altında sıvı veya süperkritik evre bölgesinde önemli bir çözücü özelliği kazanırlar. Bu özellik, basınç ve sıcaklık değişimleri ile istenildiği gibi yönlendirilebilmektedir. Ayrıca bu akışkanlarda çözülmüş analitlerin, çözeltilere

nispeten düşük sıcaklıklarda atmosferle dengeye getirilerek kolayca geri kazanılabilmektedir.

Pek çok süperkritik akışkanın diğer önemli üstünlükleri de ucuz ve zararsız olmaları, zehir etkisi göstermemeleridir. Bu akışkanlar çevreye hiçbir zarar vermedikleri için rahatlıkla atmosfere verilebilirler. Süperkritik akışkan ekstraksiyonunda CO<sub>2</sub>, amonyak, etilen ve toluen genel olarak amaca uygun olan çözücülerdir. Bunlar içinde amaca en uygun ve uygulamalarda en çok denenmiş olan CO<sub>2</sub>'dir. Bunun nedeni aşağıda sayılan birçok özelliğe sahip olmasıdır.

Süperkritik akışkan olarak karbondioksit çok geniş bir kullanım alanına sahiptir (% 95'in üzerinde). Karbondioksit, apolar maddeler için çok iyi bir çözücüdür. Alkanlar ve terpenler bunların başlıcalarıdır. *Euphorbia macroclada* bitkisindeki hidrokarbonlar ve terpenler SFE ve Soxhlet ekstarasyonu yapılmış ve GC ile karakterize edilmiştir (Özcan ve Özcan 2004). Polarlığı orta düzeyde olan polisiklik aromatik hidrokarbonlar poliklorlanmış bifeniller, aldehitler, esterler, alkoller, organik kloropestisitler ve yağlar içinde çözücülük gücü orta düzeyde olan karbondioksit kullanılmıştır. CO<sub>2</sub>'nin spesifik özellikleri sebebiyle en çok kullanılan çözücü olmasının nedenleri şu şekilde sıralanabilir.

1. Hemen hemen hiç tükenmeyen bir kaynaktır. Atmosferden, fermantasyondan, amonyak sentezlerinden, yanma proseslerinden, doğal jeolojik kaynaklardan elde edilir.
2. Kullanımı kolaydır, çalışma ortamlarında CO<sub>2</sub> problem yaratmaz.CO<sub>2</sub> bir proses yardımıyla tekrar geri kazanılabilir.
3. Teknik anlamda CO<sub>2</sub> 'in kritik noktası çalışmaya uygundur (Kritik sıcaklığı 31°C ve kritik basıncı 74 bar).
4. Toksik, korrozif, yanıcı ve tehlikeli değildir, ucuzdur.
5. Kimyasal olarak kararlı, radyoaktif uygulamalarda da kararlıdır.
6. Çevrecidir. Süper kritik CO<sub>2</sub> ile prosesler atık suya neden olmazlar.
7. Kullanımdan sonra prosesten uzaklaştırmak mümkündür. Çünkü CO<sub>2</sub> oda sıcaklığında gaz olarak bulunduğu için, atmosfere kısa sürede hızlı bir biçimde bırakabilir.

8. Polar olmamasına rağmen birçok organik analiti çözebilmekte, bazen polarlığı yüksek olan maddelerin ekstraksiyonlarında CO<sub>2</sub>'e %1-10 arasında metil alkol gibi organik çözücüler ilave edilerek de ekstraksiyon verimli hale getirilebilmektedir.

SFE verimini kontrol eden birçok parametre vardır. Bunlar:

- Basınç
- Sıcaklık
- Süperkritik akışkanın türü ve oranı
- Analit toplama tekniği
- Örnek büyüklüğü
- Matriks
- Sistem kaçaqları ve sistem birikintileri

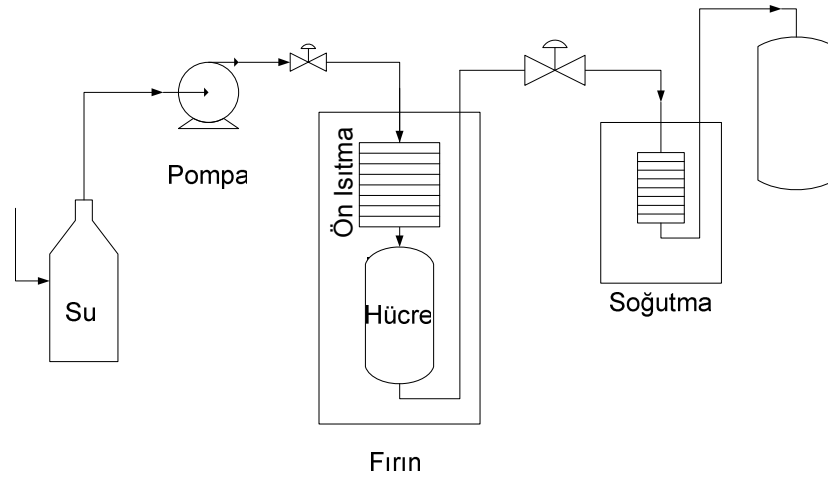
### **3.3.2.3. Süper ısıtılmış su ile ekstraksiyon (Superheated water extraction - subcritical water extraction; SWE)**

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

Süper ısıtılmış su, oda sıcaklığındaki sudan çok daha az polardır. Sıcaklık yükseldikçe suyun polaritesi düşmektedir. Verilen şartlar altında polar veya düşük polarlıktaki birçok maddeyi ekstrakte edebilmektedir. Ayrıca büyük organik moleküllerin çözülmesinde de iyi bir çözücü olarak kullanılabilir. Organik bileşiklerin süper ısıtılmış sudaki çözünürlükleri oda sıcaklığında bulunan sudaki çözünürlüğünden çok yüksek bulunmuştur. Yani çözünürlük sıcaklık artışıyla birlikte artmaktadır.

Sonuç olarak süper ısıtılmış su, özellikle aromatik bileşikler gibi polarizlenebilen ya da bazı polar gruplara sahip büyük organik bileşikler için iyi bir çözücüdür. Son yıllarda yapılan çalışmalarda poliaromatik hidrokarbon (PAHs), poliklorlu bifeniller (PCBs) ile bitki ve gıda örneklerinden pek çok kimyasal bileşiğin ekstraksiyonları mümkündür. Bunun yanında fraksiyonlama ve kromatografik uygulamaları yapılmaktadır. Naphthalene ve benz(e)pyrene gibi poliaromatik hidrokarbonların ve bazı pestisitlerin süper ısıtılmış sudaki çözünürlükleri incelenmiş ve 100°C 'den 473°C 'ye kadar bir artışta, çözünürlüklerinde  $10^6$  civarında bir artış gözlenmiştir ve bu mükemmel bir sonuçtur.

Tipik bir SWE sisteminin alet şeması Şekil 3.8'de görülmektedir.



**Şekil 3.8** SWE sistemi alet şeması

Yapılan çalışmalar gösteriyor ki naftalinin ağırlıkça %10'unu ekstrakte edebilmek için SWE de 270°C'e, benzer şekilde ağırlıkça %10 benz(e)pyrene veya nanodecylbenzen'i ekstrakte edebilmek için 350°C'e ulaşmak gerekir. Bu da gösteriyor ki sıcaklık çözünürlük ve ekstraksiyonda çok etkilidir. Tablo 3.4'de klorathonil bileşiğinin çözünürlüğüne sıcaklık etkisi verilmektedir.

**Tablo 3.4** Chlorathalonil'in süper ısıtılmış sudaki çözünürlüğüne sıcaklık etkisi (Miller ve Hawthorne 1998).

Sıcaklık (°C)	Mol Kesri
50	$5,41 \times 10^{-8}$
100	$1,8 \times 10^{-6}$
150	$6,43 \times 10^{-5}$
200	$1,58 \times 10^{-3}$

Süper ısıtılmış suyun, bugün kullanılmakta olan organik solventlere bir alternatif olarak, organik bileşik proseslerinde kullanılması gün geçtikçe yaygınlaşmaktadır. Elde edilen üründe organik atık yoktur, kirlilik çalışmalarında avantajları gözlenmiştir ve çevrecidir.

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

Süper ısıtılmış su ile bitki materyallerinin ekstraksiyonu sonucunda elde edilen yağın terpen ve oksijenli bileşikleri oranı, su buharı destilasyonu ile karşılaştırıldığında fazla bulunmuş, bu yüzden de verimin iyi olduğu kabul edilmiştir. Bunun yanında yüksek sıcaklık ve basınç altında çözücü, bitki materyaline daha fazla nüfuz eder. Ayrıca su buharı destilasyonundan iki kat daha fazlası gerektirdiği halde, harcanan enerji daha azdır.

Süper ısıtılmış su ayrıca; petrol ürünlerinden aromatik bileşiklerin ekstraksiyonunda, gıda maddelerinden yeni tatların elde edilmesinde, çevresel örneklerden ve yağlardan kirliliklerin ekstraksiyonunda da kullanım alanı bulmaktadır. Bu tekniğin, çevreci, ucuz olması nedeniyle kozmetik, gıda ve eczacılık endüstrisinde büyük gelişmelerin olması sağlanabilecektir. Bitki ekstraksiyonu için oldukça elverişli bir sistemdir. Süre 10-20 dakikadır (Özel vd 2003).

Toprak numuneleri de ekstrakte edilerek içindeki organik bileşikler %100 verimle ayrılabilmiştir.

Bunların yanında HPLC de hareketli faz olarak da kullanılmaya başlanmıştır.

#### 3.3.2.4. Katı-sıvı ekstraksiyonu

Katı-sıvı ekstraksiyonu ile katı içinde bulunan bir madde, bu maddeyi büyük ölçüde çözebilen bir sıvı yardımı ile alınır. Fazlar ayrıldıktan sonra sıvının herhangi bir yoldan uzaklaştırılması ile katı içindeki madde ele geçer. Örneğin; çay, ıhlamur ve kahve gibi içeceklerin hazırlanması en basit katı-sıvı ekstraksiyonlarıdır. Ayçiçeği ve pamuk çekirdeklerindeki yağ hegzan ile ekstrakte edilerek çekilir.

Katı faza ekstrakte edilen, saf sıvıya ekstrakte eden, elde edilen sıvı karışımına ise ekstrakt adı verilir. Örneğin, katı çay yaprakları, ekstrakte edilen; su, ekstrakte eden; içilen çay ise ekstrakt olur (Sarıkaya 1997 ).

Bütün gravimetrik tayinler bir nevi katı-sıvı ekstraksiyonudur. Çünkü çöktürülen maddeden hariç bütün safsızlıklar veya maddeler uygun çözücü ile uzaklaştırılır. Diğer bir deyimle, katı-sıvı ekstraksiyonu maddelerin çözünürlüklerinin farklı olması esasına dayanır.



**Şekil 3.9** Katı-sıvı ekstraksiyon cihazı (Soxhlet cihazı)

Katı halde potasyum, lityum ve magnezyum perkloratları karışımı etil asetat, N-bütanol ile ekstrakte edilecek olursa potasyum perklorat ortamda kalır. Lityum ve magnezyum perkloratlar organik faza geçerler. Böylece potasyum, lityum ve magnezyumdan ayrılmış olur. Bir maddenin içinde bulunan yağın ekstraktör denilen bir cihaz yardımıyla alınmasının katı-sıvı ekstraksiyonuna örnek olabileceğini belirtmiştik. Bunun için ekstraktörde az miktarda eter veya herhangi bir organik çözücü, cihazın içinde yoğunlaştırarak tekrar tekrar kullanılır. Şekil 3.9'da Soxhlet cihazı ile çözünürlüğü az olan bir maddeyi az miktardaki çözücüyle ekstrakte etmek mümkündür. Cihazın kartuş içinde bulunan madde devamlı olarak doymamış çözücüyle temas eder (Kılıç vd 1999 ).

Oldukça yaygın bir şekilde kullanılan Soxhlet cihazı Şekil 3.9'da görüldüğü gibi basit bir cihazdır. Birçok yönden ideal bir ekstraksiyon tekniği olmamasına rağmen 100 yılı aşkın bir zamandır yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Ekstraksiyon 1 ile 72 saat arasında gerçekleşebilir. Ekstraksiyon işlemi tamamlandıktan sonra çözeltinin, analizinden önce konsantre edilmesi gerekir. Bunun için döner buharlaştırıcılar yaygın bir şekilde kullanılır. Kızgın yüzeyli ısıtıcılar da kullanılabilir.

Birçok durumda Soxhlet cihazı ile ekstraksiyon seçici değildir. Çünkü çözücünün ısıtılması esnasında istediğimiz analitin ekstraksiyonunu engelleyen veya azaltan durumlar olabilir. Isıtma esnasında uçucu olan analitlerin (örneğin düşük molekül ağırlığına sahip poliaromatik hidrokarbonların) kaybolmasına neden olabilir. Yine ekstraktın deriştirilmesi esnasında da uçucu olan analitlere dikkat edilmelidir.

Ekstraksiyon sıcaklığı kadar çözücü seçimi de Soxhlet ekstraksiyonunda önemli bir parametredir. Bazı durumlarda çözücü ile analit reaksiyona girebilir veya yüksek sıcaklıkta analit bozunabilir. Örneğin metal ekstraksiyonunda bazı metal kompleksler veya ligandlar yüksek sıcaklıkta bozunabilirler.

Soxhlet ekstraksiyonunun en önemli dezavantajı ekstraksiyonda kullanılan çözücülerin pahalı ve toksik olmasıdır. Bunlar genelde aseton, kloroform ve diklorometan gibi çözücülerdir.



Soxhlet ekstraksiyonunun en önemli avantajları ise cihazın ucuz olması ve çoklu ekstraksiyonun yapılabilmesidir. Özellikle kantitatif çalışmalarda safsızlıkların analite karışmamasına dikkat edilmelidir.

### **3.3.2.5. Sıvı-sıvı ekstraksiyonu**

Sıvı faz içindeki bir madde bu maddeyi daha çok çözen ve ilk sıvı ile hiç karışmayan ikinci bir sıvı kullanılarak çekilir. Örneğin suda çözünmüş olan bir organik madde daha çok çözünebileceği ve su ile karışmayan eter ya da kloroform gibi organik sıvılarla ekstrakte edilir. Demir III klorürün sulu fazdan eter fazına, iyodun sulu fazdan karbon tetraklorür fazına alınması bu tip ekstraksiyona örnek teşkil eder (Sarıkaya 1997).

### **3.3.2.6. Sıvı gaz ekstraksiyonu**

Bu ayırma metodu karışım içinde bulunan bir gazın, bir absorplayıcı tarafından kimyasal olarak bağlanması esasına dayanır. Sıvı-gaz ekstraksiyonu bu bakımdan diğer ekstraksiyon metotlarından az çok fark eder. Asidik gazlar bazik çözeltilerde, bazik gazlar da asidik çözeltilerde kolaylıkla absorbe edilirler.

### **3.3.2.7. Katı-gaz ekstraksiyonu**

Katı-gaz ekstraksiyonu, sıvı-gaz ekstraksiyonuna benzer. Yalnız burada adsorpsiyon olayına da rastlanır. Yan yana bulunan CO<sub>2</sub> ve SO<sub>2</sub> gümüş-vanadat kullanmak suretiyle SO<sub>2</sub>'yi adsorbe etmek mümkündür.

### **3.3.2.8. Çözücü ekstraksiyonu**

Yağlı tohumlardan yağın ekstraksiyonu; ekstraksiyon, süzme, ayırma, yoğunlaştırma, evaporasyon, destilasyon gibi farklı işlemleri içeren muameleler dizisi ile gerçekleştirilir. Ekstraksiyonda hedef yağın yağlı dokudan alınması olduğundan daha çok ekstraksiyon ve ekstraktörler üzerinde durulmaktadır.

Yağlı maddelerden yağın eldesinde en etkili metotlardan biri çözücü bileşiklerle yağın ekstraksiyonudur. Bu işlem tohumların ve yağ içeriği düşük diğer maddelerin işlenmesinde pek çok avantaja sahiptir. Yağ kekinde kalan yağ miktarı mekanik presyona göre azdır. Çözücü ekstraksiyonuna tabi tutulan ezmelerde ekstraksiyondan sonra ancak %2-3 oranında yağ kalmaktadır.

Ayrıca presleme metotlarına göre tohumların yağ veriminde artış sağlanmaktadır. Örneğin soya fasülyesinde %2,1 pamuk tohumunda %11,5 ve keten tohumunda %5,3'lük yağ verimi artışı sağlanabilmektedir (Sarıgök 1985).

### 3.3.3. Ekstraksiyona etki eden faktörler

Tıbbi bitkilerin ekstraksiyonunda, öncelikle bitki çözücüsü ile temasa getirilip tıbbi bitkilerdeki çözünen maddelerin çözücüye transferi, daha sonra elde edilen çözeltinin geri kalan posadan ayrılması gerekir.

Ekstraksiyonu etkileyen faktörler aşağıda belirtilmiştir.

#### 3.3.3.1. Çözücü

Tıbbi bitkilerin ekstraksiyonunda kullanılan çözücüler, genellikle normal şartlarda uçucu organik sıvılar olup aşağıdaki özellikleri taşıması gerekir.

- Kaynama noktası, yüzey gerilim katsayısı ve buharlaşma ısısı gibi fiziksel özellikleri uygun olmalı.
- Kolay bulunabilir, ucuz olmalı.
- Tıbbi bitkideki maddelerle kimyasal reaksiyona girmemeli.
- İstenilen maddeleri çözme hızı ve kapasitesi yüksek olmalı.

Tıbbi ve aromatik bitkilerin ekstraksiyonunda sık sık kullanılan çözücüler ise su, saf organik sıvılar yada su ile değişik orandaki karışımıdır. Bu kapsamdaki organik sıvılar, hidrokarbon yada bunların alkol, ester, eter, keton ve halojenli hidrokarbonlar gibi türevleridir.

### 3.3.3.2. Parçacık büyüklüğü ve dağılımı

Teorik olarak kütle transferi katı ve sıvı arasındaki ara yüzey ile orantılıdır. Bu ara yüzey ise parçacık boyutunun küçültülmesiyle, başka bir deyişle bitkinin çok ince öğütülmesi ile arttırılabilir. İnce öğütme ile önemli miktarda bitkisel hücrelerinde parçalanacağı ve dolayısıyla ekstraksiyon hızının daha büyük olacağı da açıktır. O halde, eğer daha sonraki süzme ve etken maddeyi saflaştırma o aşamalarında zorluklarla karşılaşılacaksa prensip olarak bitkinin ince öğütülmesi tercih edilir.

Bitki ekstraksiyonu için çok ince öğütülmesi gerektiğinde ya karıştırılmalı ekstraktör tipleri tercih edilmeli yada öğütülen bitki özel yöntemlerle preslenerek ince pulcuklar haline getirilmelidir.

### 3.3.3.3. Sıcaklık

Birçok maddenin bir çözücü içindeki çözünürlüğü ve çözünme hızı sıcaklık ile artar. Bu nedenle çoğu tıbbi bitki ekstraksiyonu çözücünün kaynama noktasına yakın sıcaklıklarda gerçekleşir. Sıcaklık artırılmasıyla istenmeyen inert maddelerinde çözeltiye geçişinin artacağı ve yüksek sıcaklıklarda karşılaşılabilecek çözücü kaybı olacağından güvenlik önlemleri için alınması gereken masraflı tedbirler dikkate alınmalıdır.

### 3.3.3.4. Katı / sıvı oranı

Belirli miktardaki bitkinin ekstraksiyonunda çözücü miktarının arttırılması, başka bir deyişle katı/sıvı oranının azaltılması ekstraksiyon veriminin arttıracak ve çözülebilen bütün maddelerin çözeltiye geçmesine sağlayacaktır. Bu ilk bakışta bir avantaj gibi görünmekte ise de ekstraksiyon sonucunda elde edilen çok seyreltik çözeltinin buharlaştırılarak konsantre edilmesi sırasında aşırı miktarda enerji gerekecektir.

Çözücünün pH değeri, yüzey aktif madde, tuz gibi özel katkıları bitkideki inert katkı maddenin yüzeyinde, çözünen maddelerin absorpsiyonu ve ekstraksiyon süresi bitkilerin ekstraksiyonunda göz önünde tutulması gereken diğer önemli parametrelerdir.

### **3.3.4. Sıkma**

Özellikle narenciye kabukları gibi diğer destilasyon yöntemleri ile bozulan materyaller için sıkma ya da benzeri mekanik yollar uygulanır. Akan yağ alınır. Sıkılmış kabukların su ile yıkanması sonucu ayrılan yağ da bir kaptan toplanır. Yağ-su emülsiyonu santrifüj edilerek uçucu yağ ayrılır. Narenciye esansları günümüzde meyve suyu fabrikalarında modern tesislerde yan ürün olarak elde edilmektedir.

### **3.3.5. Sabit yağ ile tüketme**

Uçucu yağ miktarının az olduğu ve buna bağlı olarak diğer destilasyon yöntemlerinin uygun olmadığı durumlarda uçucu yağ eldesinde kokusuz, renksiz, yumuşak bir sabit yağ karışımı ile temasta bırakılır. Bu işlem için en çok saf domuz yağı kullanılmaktadır. Sabit yağ ince bir yüzey üzerine yayılır. Materyal bu yağ üzerine serilir. Bir süre sonra bu materyal alınıp yerine yenisi konur. Uçucu yağ sabit yağa geçer. Bu sabit yağ etanol ile tüketilir. Etanollü ekstreden soğukta mumların ve diğer maddelerin çöktürülmesini takiben çözücünün düşük basınçta yoğunlaştırılması ile uçucu yağ elde edilir.

#### 4. GAZ KROMATOĞRAFİSİ

Kromatografi, kompleks karışımlarda bulunan birbirine yakın özellikteki maddeleri ayırmak için kullanılan bir çok farklı yöntemi içerir. Kromatografik metotlarda numune gaz sıvı veya bir süperkritik akışkan olan hareketli bir faz ile taşınır. Hareketli faz ise kolon veya bir katı yüzeyinde sabitleştirilip kendisi ile karışmayan bir durgun faz içinden geçmeye zorlanır. Bu sırada durgun faz tarafından kuvvetli tutulan numune bileşenleri, hareketli fazın akışıyla çok yavaş hareket ederler. Buna karşılık durgun faz tarafından zayıfça tutulan bileşenler hızlı hareket ederler. Bu hareket hızlarının farklılığı sonucu, numune bileşenleri farklı bant veya bölgeler halinde birbirinden ayrılırlar.

Kromatografinin sınıflandırılması kullanılan durgun ve hareketli fazların tipleri ve fazlar arasında madde akışını sağlayan dengelerin cinsine göre yapılır. Buna göre kromatografinin üç genel tipi; sıvı kromatografiyi, gaz kromatografi ve süperkritik akışkanlı kromatografi. Bu isimlerde geçtiği gibi bu üç teknikte hareketli faz sırası ile sıvı, gaz ve süperkritik akışkandır.

Gaz kromatografi tekniğinde, adından da anlaşılacağı gibi hareketli faz inert bir gazdır ve numune buharlaştırılarak kolon girişine enjekte edilir. İntert bir gaz olan hareketli fazın akışıyla elüsyon gerçekleştirilir. Diğer çoğu kromatografi türlerinin aksine, hareketli faz analit molekülleri ile etkileşime girmez, tek işlevi analiti kolon içine taşımaktır. Gaz kromatografisi durgun fazın farklılığına göre iki tiptir.

Kromatografinin daha temel sınıflandırılması kullanılan durgun ve hareketli fazların tipleri ve fazlar arasında madde aktarımını sağlayan dengelerin cinslerine göre yapılır. Tablo 4.1 kromatografinin üç temel tipini göstermektedir: sıvı kromatografi, gaz kromatografi ve süperkritik akışkanlı kromatografi (Skoog vd 1998).

**Tablo 4.1** Kolon kromatografik yöntemlerin sınıflandırılması

Genel sınıf	Özel yöntem	Durgun faz	Denge tipi
Sıvı – kromatografisi (LC) (hareketli faz: sıvı )	Sıvı-sıvı veya dağılma	Katı üzerine adsorplanmış sıvı	Karışmayan sıvılar arasında dağılma
	Sıvı-bağlı faz	Katı yüzeyine bağlanmış organik türler	Sıvı ve bağlı yüzey arasında dağılma
	Sıvı-katı veya adsorpsiyon	Katı	Adsorpsiyon
	İyon değişimi	İyon değiştirici reçine	İyon değişimi
	Boyut eleme	Polimer bir katının gözeneklerindeki sıvı	Dağılma /eleme
Gaz kromatografisi (GC) (hareketli faz: Gaz )	Gaz-sıvı	Katı yüzeyine adsorplanmış sıvı	Gaz ve sıvı arasında dağılma
	Gaz-bağlı faz	Katı yüzeyine bağlanmış organik türler	Sıvı ve bağlı faz arasında dağılma
	Gaz-katı	Katı	Adsorpsiyon
Süperkritik akışkan kromatografisi (SFC )		Katı yüzeyine bağlanmış organik türler	Süper kritik akışkan ve bağlı yüzey arasında dağılma

#### 4.1. Gaz–Katı Kromatografisi

Gaz-katı (GSC) kromatografide hareketli faz bir gaz olup, durgun faz ise analitleri fiziksel adsorpsiyon ile tutan bir katıdır. Aktif veya polar moleküllerin yarı-kalıcı tutulmaları ve adsorpsiyonun doğrusal olmayan niteliği sonucu, elüsyon tepelerinin önemli şekilde kuyruk oluşturmamasından dolayı gaz-katı kromatografinin uygulaması kısıtlıdır. Böylece bu teknik, bazı düşük molekül ağırlıklı gaz türlerinin ayrılması dışında yaygın uygulama bulamamıştır. Gaz-katı kromatografi hava bileşenleri, hidrojen sülfür, karbon monoksit ve azot oksitler gibi düşük molekül ağırlıklı gazların ayrılması ve tayinini sağlar.

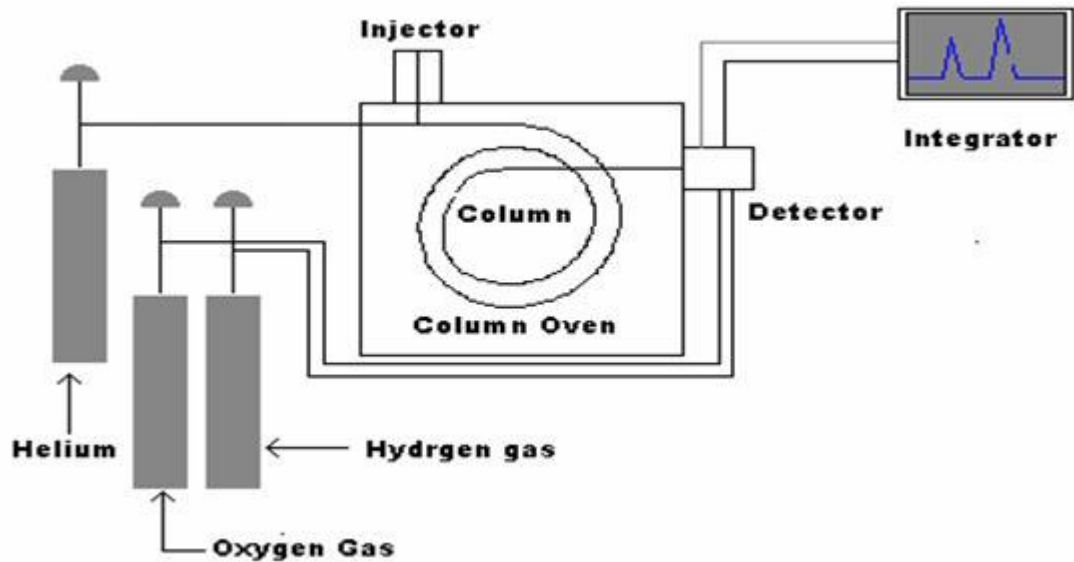
#### 4.2. Gaz–Sıvı Kromatografisi

Gaz-sıvı (GLC) kromatografide, hareketli faz bir gaz olup durgun faz ise inert bir katı yüzeyine adsorpsiyon veya kimyasal bağ ile tutulmuş bir sıvıdır ve hareketli faz ile durgun faz arasında analitin dağılımına dayanır. Gaz–sıvı kromatografi kavramı ilk kez 1941 yılında Martin ve Syngé tarafından ileri sürülmüştür. Buna göre gaz–sıvı kromatografisinin deneysel olarak uygulanması için 10 yıldan fazla bir süre geçmiştir. 1955’de ilk ticari gaz – sıvı kromatografi cihazı piyasaya sunulmuştur. Gaz–sıvı kromatografi bilimin tüm dallarında yaygın olarak uygulanır ve genellikle adı gaz kromatografi (GC) olarak kısaltılır. Uygulamalarda %95’in üzerinde gaz-sıvı kromatografi kullanılmaktadır.

GC’nin önemini anlayabilmek için yöntemin oynadığı iki farklı rolü iyi ayırt etmek gerekir. Öncelikle yöntem ayırma amacı ile kullanılmaktadır. Bu anlamda, kendisi veya bir türevi buharlaşabilen maddelerden oluşmuş kompleks organik sistemlerin, metal – organik maddelerin ve biyokimyasal sistemlerin ayırımında paha biçilemez ölçüde yararlıdır. İkinci önemli rolü ise bu yöntemin, ayrılan maddelerin teşhisini ve tayinini sağlamasıdır. Kalitatif analiz için alıkonma zamanları veya hacimleri kullanılır. Pik yükseklikleri veya alanları ise kantitatif amaçla değerlendirilirler. Madde teşhisinde ise yüksek potansiyele sahip kütle, infrared ve NMR spektrometreleri gibi cihazların GC ile beraber kullanılması eğilimi ağırlık kazanmaktadır.

Gaz kromatografisi de öteki kromatografi dalları gibi bir karışımda bulunan maddeleri ayırmaya yarar. Burada numune buharlaştırılır ve kromatografik kolonun girişine enjekte edilir. İnert bir hareketli gaz faz ile elüsyon yapılır. Diğer kromatografik yöntemlerin aksine gaz faz analitin molekülleri ile etkileşmez; gazın tek işlevi, analiti kolon boyunca taşımaktır.

Şekil 4.1’de gaz-sıvı kromatografi cihazının şekli verilmiştir. Bu cihazın ismi de Gaz Kromatografi Cihazı şeklinde isimlendirilmektedir. Gaz kromatografi cihazının her elemanının işlevini tek tek inceleyelim.



Şekil 4.1 Bir gaz kromatografi cihazı

#### 4.2.1. Hareketli faz

İnert olması gereken taşıyıcı gaz, genelde helyum, hidrojen veya azottur. Gaz seçimi, kullanılan dedektör tipine göre yapılır. Taşıyıcı gaz tüpüne bağlı halde, basınç ayarlayıcılar, göstergeler ve akış sayaçları bulunur. Bunlara ek olarak, su veya diğer safsızlıkları gidermek için gaz sisteminde çoğu zaman moleküler elek bulunur. Oksijen safsızlığının giderilmesi de gerek ayırma ve gerekse kolondaki sıvı fazın yükseltgenerek bozulmasını önlemek açısından zorunludur. Gaz kromatografisinin güvenilirliği



kullanılan taşıyıcı gazın akışının ve basıncının ayarlanmasına bağlıdır. Akış hızı kontrolü, normal olarak gaz silindirene bağlı iki basamaklı basınç ayarlayıcıları ve kromatografa bağlı akış regatörleri ile yapılır. Gaz akımı ayarlayıcısı dakikada 200 mL'ye kadar gaz verebilir. Giriş basınçları, genelde 10-50 psi (oda basıncının 1-5 atmosfer üzerinde ) arasında değişir ve taşıyıcı gaz hızı açık boru tipi kapiler kolonlarda 1-25 mL/dakika, dolgu kolonlarda ise 25-150 mL/dakika kadardır. Genel olarak, giriş basıncının sabit kalması halinde akış hızının değişmeyeceği varsayılır. Gaz akış hızı ve kolon girişi gaz basıncı ayarlanarak kontrol edilir ve bilyeli rotametreler veya kolon çıkışında bir sabun köpüğü büreti ile ölçülür (Skoog vd 1998, Henden 2000).

#### 4.2.2. Sabit faz (kolon) ve fırın

Gaz kromatografisinde iki tür kolon kullanılır; dolgulu ve kapiler kolonlar. Dolgulu kolonlarla kıyaslandığında kapiler kolonların;

- Daha büyük ayırma gücü,
- Daha kısa analiz süresi,
- Daha büyük seçiciliği gibi avantajları ve
- Daha düşük örnek kapasitesi gibi dezavantajları vardır.

Kromatografik kolonların boyları 2-50 m veya daha büyük olabilir. Paslanmaz çelikten, camdan, erimiş silisten veya teflondan kolonlar yapılabilir. Bu kolonlar ısı kontrolü yapılan bir fırına yerleştirebilmek için 10-30 cm çapında spiraller haline getirmek gerekir.

Kolonlarda kullanılan sabit fazlar ayrılacak analitlerin yapısına göre seçilir. Apolar maddeleri ayırmak için apolar kolonlar ve polar maddeleri ayırmak için ise polar kolonlar kullanılır.

Çok boyutlu kromatografi ise; karmaşık analitlerin, örneğin izomerlerin, enantiyomerlerin veya kaynama noktaları yakın olan analitlerin ayrılmasında son yıllarda kullanılmaya başlayan bir teknik olup, genellikle iki boyutta çalışmaktadır. Birinci boyutta normal apolar bir kolonda kaynama noktalarına göre ayırma yapılırken,

ikinci boyutta ise polar kısa bir kolonda polaritelerine göre ayırma yapılarak karmaşık numunelerin analizleri yapılmaktadır.

İki boyutlu GC ile TOF/MS' in birleşmesi sonucu, uçucu yağ gibi karmaşık analitlerin analizi ve karakterizasyonu oldukça kolay bir hal almıştır.

En az hata ile çalışabilmek için, 0,1 derece duyarlılıkta kontrol edilmesi gereken bir başka önemli parametre kolon sıcaklığıdır. Bu nedenle kolon, sıcaklığı kontrol edilebilen bir bölme yerleştirilir. Optimum kolon sıcaklığı numunenin kaynama sıcaklığına ve istenen ayırma verimine bağlıdır. Kabaca, numunenin ortalama kaynama sıcaklığının biraz üstündeki bir sıcaklıktaki kolonda maddelerin elüsyon zamanı 2-30 dakika arasında değişebilir. Çok geniş bir kaynama noktası ağırlığındaki numuneler için sıcaklık programı yapmak gerekir. Sıcaklık programlanmasında kromatografik ayırım devam ederken kolon sıcaklığı sürekli veya basamaklar halinde artırılır (Skoog vd 1998, Henden 2000).

#### **4.2.3. Dedeksiyon sistemi**

Bir dedektör, kolondan gelen taşıyıcı gaz içinde bulunan binde birkaç oranındaki yabancı bir gazı tespit eden düzenektir. Bir dedektörde aranan başlıca özellikler şunlardır;

- Yeterli duyarlılıkta olmalıdır. Genel olarak, bugünün dedektörleri  $10^{-8}$  ile  $10^{-15}$  g madde/s arasında değişmektedir.
- İyi bir kararlılık ve tekrarlanabilirlik.
- Geniş bir doğrusal çalışma aralığı.
- Oda sıcaklığı ile en az  $400^{\circ}\text{C}$  arasında kullanılabilirlik.
- Akış hızından bağımsız kısa yanıt süresi.
- Yüksek güvenilirlik ve kullanma kolaylığı.
- Her türden analite benzer cevap alınmalı veya belirli sınıf maddelere karşı tahmini kolay ve seçici cevap verme özelliği olmalı.
- Numuneyi bozmamalı.

Mevcut dedektörlerin hiçbiri bu özelliklerin hepsini taşımamaktadır. Alev iyonlaştırma ve kütle spektroskopisi dedektörleri GC’de çok sık kullanılır.

#### 4.2.3.1. Alev iyonlaşma dedektörü (FID)

Gaz kromatografisinde en çok kullanılan dedektördür. Kolondan gelen numune ve taşıyıcı gaz kolon çıkışında hidrojen ve sonra hava ile karıştırılarak küçük bir bekin ucunda yakılır. Birçok organik bileşik yakıldığında iyonlar, elektronlar ve karbon tanecikleri oluşturarak alevin iletken hale gelmesini sağlarlar. Bek ucu ile alevin üstüne yerleştirilen kollektör elektrot arasına birkaç yüz volt gerilim uygulanır. Oluşan akım yüksek empedanslı bir işlemci anfi ile ölçülür. Bu akım birim zamanda aleve ulaşan miktarı ile orantılıdır.

Karbonil, alkol, halojen ve amin gibi bazı fonksiyonel gruplar alevde çok az iyon oluştururlar. FID ayrıca, H<sub>2</sub>O, CO, CO<sub>2</sub>, CS<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, N<sub>2</sub>O, NO, NO<sub>2</sub>, SiF<sub>4</sub> ve SiCl<sub>4</sub> gibi gazlara da yanıt vermemektedir (Skoog vd 1998).

#### 4.2.3.2. Gaz kromatografi / kütle spektrometri ( GC/ MS )

Gaz Kromatografi/kütle spektrometre sistemi, gaz kromatografi cihazının hızlı tarama yapabilen çeşitli kütle spektrometrelerine doğrudan bağlanmasıyla oluşur. Kılcal kolonlarda gelen elüentin akış hızı genellikle küçük olduğu için, madde doğrudan kütle spektrometresinin iyonlaşma bölgesine verilebilir.

Kütle spektrometrik dedektörler genellikle iki tip sinyal görüntüsü verebilirler: anında sinyal görüntüleri ve bilgisayarda yeniden biçimlendirilmiş sinyal görüntüleri. Bunların her birinde aşağıdaki seçimler yapılabilir.

- Toplam iyon akımı kromatogramları (Zamana göre tüm iyon akımlarının grafiği).
- Seçimli iyon akımı kromatogramları (Zamana karşı bir veya birkaç iyonun oluşturduğu akımlar).
- Bazı kromatografik piklerin kütle spektrumları.

Gerçek zamanlı kütle spektrumu kütle işaretleyicileri bulunan osiloskopik ekranında görülür. Anında kütle spektrumları kütle belirleme imkanları ile donatılmış bir osiloskop ekranında belirir; kütle kromatogramı da osiloskop ekranına çıkarılabilir veya ayırma esnasında grafik çıktı olarak kaydedilebilir. Ayırım olayı tamamlandıktan sonra bilgisayar ile oluşturulmuş kromatogramları ekrana yansıtma veya yazıcıda grafiklendirmek mümkündür. Kromatogramdaki her pik için kütle spektrumu da osiloskopta gözlenebilir veya yazıcıdan alınabilir.

Gaz kromatografi / kütle spektrometre sistemi biyolojik veya doğal sistemlerdeki yüzlerce maddeyi aynı anda tanımak amacıyla kullanılmaktadır. Örneğin; gıdalardaki tat ve koku veren maddelerin tayininde, su kirleticilerinin tayininde, nefesle dışarı verilen eser halde maddelerden yaralanan tıbbi teşhislerde ve ilaç ve uyuşturucu metabolitlerinin incelenmesinde kullanılır (Skoog vd 1998).

GC'ye bağlanan MS sistemleri gün geçtikçe gelişmektedir. Son birkaç yıldır TOF/MS sistemi geliştirilmiş olup, bu sistem ile birim zaman da çok daha fazla sayıda analitin karakterizasyonu mümkün hale gelmiştir, bu da birim zamanda analiz edilebilecek analit sayısını, kolon verimliliğine göre arttırmaktadır.

### **4.3. GC'de Karşılaşılan Güçlükler**

Maddenin kolondaki alıkonma süresi dağılma sabitine ( $K=C_s/C_m$ ) ve ayrıca durgun fazın karakterine bağlıdır. Maddelerin kolonda birbirlerinden net olarak ayrılabilmesi için sıvı fazda farklı dağılma sabitlerine sahip olmalıdır. Çok büyük dağılma sabitleri alıkonma zamanlarının çok uzamasına, küçük alıkonma zamanları da ayırımın başarısız olmasına yol açmaktadır. Makul bir alıkonma zamanına ulaşabilmek için, ayrılacak maddeler durgun faz ile aynı yapıda olmalıdır ve dolayısıyla benzer benzeri çözer prensibi geçerlidir.

Genellikle biz gaz kromatografisinde madde ve sıvı fazın polarlıklarının birbirine yakın olmasını isteriz ve bu durumda alıkonma süresi maddelerin kaynama noktasına bağlı olur. Özellikle saf hidrokarbon karışımları benzer kaynama noktasına sahip oldukları için, kolon sonuna yerleştirilen dedektöre aynı zamanda ulaşacaklardır ve

analitik bir parametre olan alıkonma zamanları bir seri içinde sıkışacaktır. Bu alıkonma zamanı serisi daha büyük bir olasılıkla üst üste çakışmaya yol açacaktır. Bu nedenle kromatogramlardan elde edilen verilerin miktarı azalacaktır.

Kromatogramlarda üst üste çakışan piklere, durgun faz yapısı ve tek bir kolon kullanımının etkileri hakkında sunulan her yeni metot, birçok yeni problemin oluşmasına yol açmıştır. Piklerin üst üste çakışması problemi, kullanılan ilk sabit fazdan sonra farklı bir yapıda sabit faz kullanılmasıyla önlenabilir. Bunun için önerilen yol çok boyutlu bir kromatografi türü olan, iki boyutlu gaz kromatografisidir. Özellikle kompleks karışımlar için kullanılacak olan ikinci kolonda uygun bir faz seçimi ile, birinci kolonda yakın alıkonma zamanına sahip bileşiklerin olası polarite farklılıklarından yararlanma belirgin bir avantaj olarak karşımıza çıkar. İkinci kolonda ayrılmaya izin veren bir ayırma mekanizması olduğu takdirde birinci kolonu benzer zamanla terk eden bileşikler netice itibariyle ikinci kolonda ayrışabilir olacaklardır.

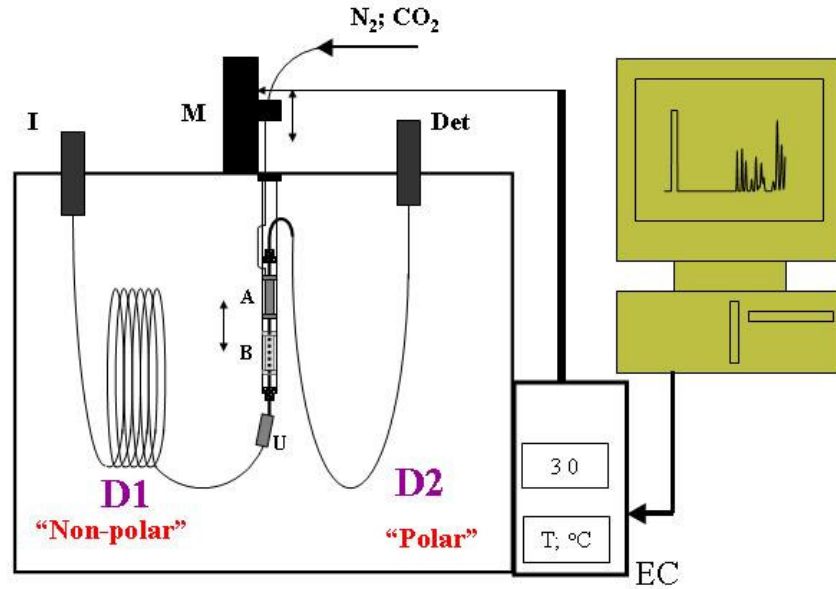
#### **4.4. İki Boyutlu Gaz Kromatografisi (GC x GC)**

Son birkaç yıldan bu yana iki boyutlu gaz kromatografisi (GCxGC) gittikçe ilgi çeken bir yöntem olmuştur. Petro kimyasal numuneler veya pestisitler gibi hayli karmaşık karışımların analizi ile ilgili güçlü bir ayırma tekniğidir (Blomberg vd 1997). Benzer özelliklere sahip bileşimlerin küme oluşturması dolayısıyla, grup tipi ayrımlarda temin edinilebilir.

GCxGC’de numune, farklı sabit fazlar ihtiva eden iki sütunda ayrılır. İlk ayırma genellikle yavaş bir sıcaklık programı (1-5 °C/dk) kullanılan bir 15 m DB-1 gibi geleneksel polar olmayan GC kolonu üzerinde meydana gelir. Bu polar olmayan sütun üzerinde, analizörler esas olarak geleneksel tek boyutlu bir GC sisteminde (1D-GC) olduğu gibi buhar basınçlarına göre ayrılır. Birinci sütun elüatını çok sayıda bitişik küçük parçaya ayırtırmak için bir kriyojenik (soğutuculu) modülatör kullanılır. Bunların her biri ikinci, polar veya biçim seçici GC kolonuna odaklanır ve daha sonra da içerisine yeniden enjekte edilir. İkinci sütun üzerindeki ayırma birinci ayırmadan çok daha hızlı olur (örneğin 3-10 saniyeye karşılık 45-120 dakika) ve esas olarak izotermal şartlar altında gerçekleştirilir. Spesifik bir parçanın bütün elemanları

enjeksiyon anında gerçekten aynı buhar basıncına sahip olacaklarından dolayı ikinci sütündeki ayırma esas olarak yalnızca analizörlerin faaliyet katsayılarına yani ikinci sütündeki sabit faz ile etkileşimlerine bağlı olacaktır.

Bir GCxGC cihazının kalbi modülatördür. Modülatörün amacı birinci kolondan çıkan analitleri soğutma ile kısıtırıp gereken miktarını yeni bir sıcaklık programlaması ile ikinci kolonun başlangıcına hızlı bir şekilde sevk etmek veya enjekte etmektir. Bu nedenle bir GCxGC cihazı şekil 4.2’de görüleceği gibi iki kolon arasındaki modülatör cihazı ile doğrudan birleştirilmiş kolonlardan meydana gelmiştir.



**Şekil 4.2** GCxGC cihazının şematik gösterimi (I: Enjektör; M: Modülatör; D: Kolon; Det: Dedektör)

Bir GCxGC çalışmasının sonucu, genellikle bir boyutu birinci sütündeki tutuş süresini ve diğeri ikinci sütündeki tutuş süresini ifade eden iki boyutlu bir kromatogram oluşturacak şekilde yan yana istiflenen büyük bir yüksek hızlı ikinci sütun kromatogramları dizisidir. Bu kromatogramların gözlerde canlandırılması için en uygun yol, sinyal yoğunluğunu göstermek amacıyla tepeleri renkler kullanmak ve gölge yapmak suretiyle bir düzlem üzerindeki noktalar olarak sergilendiği kontur planlarıdır.

İkinci boyuttaki hızlı ayrışma dip çizgisinde 120-600 ms genişliklere sahip çok dar piklere neden olur. Bu dar tepeler hızlı dedektörlerin ikinci boyut kromatogramlarının uygun bir şekilde yeniden yapmasını gerektirir. Bu nedenle son zamanlara kadar GCxGC 'de tespit bir FID gibi hızlı analog dedektörlerin kullanılması ile sınırlı kalmıştır (De Geus vd 2000).

Bununla birlikte, spektrometrik bir dedektörün, özellikle bir kütle spektrometresinin (MS) kullanılmasıyla sayısız ayrılmış bileşimin belirlenmesi oldukça arzu edilir hale gelmiştir. Bugün itibariyle kromatogramın uygun şekilde yeniden yapılması ve nicelleştirme için gereken saniyede 50 veya daha fazla kütle spektrumunu sadece uçuş zamanlı kütle spektrometreleri (TOF/MS) elde edebilir. Petrokimyasal numunelerin, uçucu bitkisel yağların analizi ve sebzelelerdeki böcek öldürücü ilaçların iz seviyesinin tespiti ile ilgili olarak GCxGC'nin bir TOF/MS'ye bağlanması çok önemlidir.

GCxGC'nin geleneksel bir boyutlu GC'ye nazaran üç ana avantajı vardır;

- Pik kapasitesi çok daha yüksektir.
- Tespit edilebilirliği daha iyidir.
- Bilinmeyenlerin tanınmasını sağlayan yapılandırılmış kromatogramlar elde edilir.

Bununla birlikte, bir GCxGC sisteminin optimizasyonu, geleneksel 1D-GC'nin optimizasyonundan farklı ve daha karmaşık bir yaklaşım gerektirir. Örneğin sıcaklık ve taşıyıcı gaz akışı, ayrışmaları her iki boyutta da farklı farklı etkileyecektir. Ayrıca, modülasyon süresi ve modülatör sıcaklığı gibi yeni parametrelerinde optimize edilmesi gerekir.

Pratik açıdan, iki boyutlu bir ayrışma birleştirilen birinci ve ikinci ayrıştırmanın ilgili analitlerin belirlenmesini ve miktarlarının bulunmasını sağlayacağı şekilde tasarlanması gerekir. Birçok uygulama ile ilgili olarak, her iki boyuttaki tutuş süreleri ön tespit ile ilgili değerli bilgiler sağlayacağından dolayı düzenlenen kromatogramların elde edilmesi ayrıca önemlidir. Bu uygulamalar ile ilgili olarak, ikinci sütuna yeniden enjekte edilen bir kısımda yer alan bileşiklerin bir modülasyon turu sırasında yıkanarak ayrışması gereklidir. Bu nedenle, çeşitli parametrelerin ayrışma etkinliği ve GC x GC

kromatogramlarının düzeni üzerindeki etkisi, sistemin analitik performans bakımından değerlendirilmesinden önce incelenmelidir. Genel ayrışma:

- (i) İki sütunun boyutları (uzunluk ve çap),
- (ii) Sabit fazların türü ve kalınlığı,
- (iii) Taşıyıcı gazın hızı,
- (iv) Her iki boyut ile ilgili sıcaklık programı,
- (v) Modülasyon süresi tarafından etkilenecektir. Bu parametrelerin hepsi tek tek değiştirilemez. Örneğin sıcaklık programlama hızı da farklı modülasyon sırası gerektirir.

#### 4.5. Gaz Kromatografisinin Gıda Analizlerinde Uygulamaları

Kimyasal maddelerin ayırımı, teşhisi ve gözlenmesi gıda ve aroma sanayinde üretimi düzenleme açısından son derece önemlidir (Hışıl ve Çolakoğlu 1984). Gaz kromatografisi bu amaçla yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

Tarımsal ilaçların (pestisit kalıntılarının) analizinde gaz kromatografisi en başarılı teknik olan özelliğini sürdürmektedir. Gıdada aroma analizleri içinde vazgeçilmez bir tekniktir.

Potansiyel zehir olmaları nedeniyle, taze meyve ve sebzelerde koruyucu olarak kullanılan sülfite ajanları, GC’de analiz edilebilmektedir.

Yağların yağ asidi kompozisyonlarının belirlenmesinde sıklıkla kullanılır. Gıdalardaki kalıntı çözücülerin analizinde gaz kromatografisi faydalı bir tekniktir. Tabii gliseritlerin ve yağların izomerlerinin teşhisinde kullanılan başarılı bir metottur (Hışıl 1994).

İçkilerdeki alkollerin, özellikle göz sağlığı için son derece zararlı olan metanolün varlığının kanıtlanması için gaz kromatografisinden yararlanır. Bunun için örnek (1+1) oranında izopropil ile seyreltilir ve gaz kromatografisi propak Q kolona verilir, FID



dedektör kullanılır. 150°C kolon sıcaklığında mevcut alkoller 15 dakika içerisinde analiz edilebilir.

Et yağının ekstraksiyonundan sonra yağ asitleri metillendirilerek gaz kromatografisine verilir. Böylece etin sığır veya domuz eti olup olmadığı anlaşılabilir. Burada minör yağ asitlerine , özellikle domuz etinde (yağında) bulunan C<sub>20:1</sub> yağ asidine bakılır. Teşhisin doğrulanması için başka tekniklerden de yararlanılır. HPLC ile trigliseritler analiz edilebilir. ELİSA tekniğiyle et proteinleri araştırılabilir (Savaya vd 1990).

Ambalaj maddelerinden gıdalara geçen maddeler de gaz kromatografisiyle analiz edilebilir. Örneğin PVC şişeden ayçiçek yağına geçen VCM (vinilklorür monomeri) gaz kromatografisiyle analiz edilmiştir (Hışıl ve Nergis 1989).

## 5. MATERYAL VE YÖNTEM

### 5.1. Numunelerin Toplanması

Deneyleerde kullanılan *Salvia* ve türleri 2005 Haziran'da Denizli ve çevre illerden toplandı. Yine deneyleerde kullanılan *Origanum Onites* türü olan kekik, 2005 Haziran'da Denizli Gözler kasabasından toplanmıştır. Toplanan adaçayı ve kekik örneklerinin yaprakları sap kısımlarından ayrıldı ve güneş görmeyen havadar bir ortamda kurutuldu. Kurutulan adaçayı ve kekik örnekleri analizleri yapılana kadar uygun şartlarda muhafaza edildi.

Çalışmalarımızda analizi yapılan bitkilerden; *S. officinalis*, Eskişehir-Merkez ve Denizli Merkez'den; *S. fruticosa*, Muğla-Fethiye, Denizli-Merkez, Antalya-Korkuteli ve Antalya-Gündoğmuş'tan; *S. pisidica*, Muğla-Fethiye, Denizli-Merkez, Antalya-Korkuteli ve Antalya-Gündoğmuş'tan; *S. montana*; Antalya-Gündoğmuş'tan ve *O. onites* ise Denizli-Gözler'den toplanmıştır.

### 5.2. Kimyasallar

Deneyleerde deiyonize edilmiş reverse osmoz (RO) su kullanıldı. Katı faz ekstraksiyonu için kullanılan hekzan ve metanol HPLC standartlarındadır. GC sisteminde iç standart olarak dodecan kullanıldı ve bu kimyasal Aldrich tarafından (Gillingham, Dorset, UK) temin edildi.

### 5.3. Cihaz ve Malzemeler

#### 5.3.1. Süper ısıtılmış su ile ekstraksiyon cihazı

SWE, laboratuarda mevcuttur (Şekil 5.1). Sistem içindeki 4200 GC serisi bir Carlo Erba fırın ekstraksiyon sıcaklığını ayarlamak için kullanıldı. Yaklaşık olarak 100 mL hacimde çözücü kapasitesine sahip olan Model 100D Syringe Pump suyu sisteme belirli bir akış oranında göndermek amaçlı kullanıldı. Deneylerde kullanılan ekstraksiyon hücresi 25 mL hacimliydi (Phenomonex, Leeds, UK). Fırından çıkan çok yüksek sıcaklıktaki analiti soğutma amaçlı soğutma sistemi (buzlu su) kullanıldı. Fırın ile soğutma sistemi arasına basınç kontrol vanası yerleştirildi.



Şekil 5.1 Analiz çalışmalarında kullanılan SWE sistemi

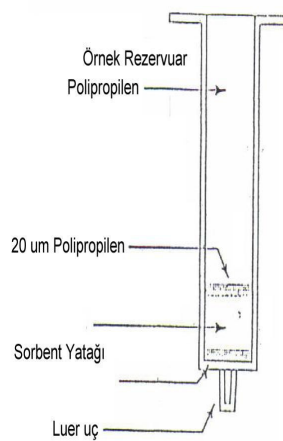
#### 5.3.2. Katı faz ekstraksiyonu cihazı ve SPE kartuşu

SWE'den çıkan analitlerin önderiştirilmesi işlemi SPE cihazı ile gerçekleştirildi (Şekil 5.2). Bu cihaz ile aynı anda 12 numunenin katı faz ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Sisteme bir pompa bağlanarak ilave edilen çözücülerin ve

numunenin akış hızları ayarlandı. Ekstraksiyon sistemi ile pompa arasında tuzak kurularak ekstraksiyon işlemlerinde kullanılan kimyasalların pompaya zarar vermesi önlendi.



**Şekil 5.2** Çoklu SPE manifoldu



**Şekil 5.3** SPE kolonu

SWE'den çıkan numuneler sulu fazda bulunmasından dolayı bunların organik faza alınması amacıyla SPE sisteminde özel üretilmiş kartuşlar kullanıldı (Şekil 5.3). Bu amaçla daha iyi bir sonuç vermesinden dolayı 3 mL/500 mg DSC-18 SPE (Supelco, Bellefonte, USA) kartuşu kullanıldı.

### 5.3.3. Gaz kromatografi-kütle spektroskopisi (GC-MS) sistemi

Kekik numunelerinin kalitatif ve kantitatif analizleri için kullanılan iki boyutlu GC-TOF/MS sistemi, iki elektronik basınç kontrollü split/splitless enjektörleri ve bağımsız alıkonma özelliklerine sahip iki kolon ile donatılmış bir HP 6890 (Agilent Teknoloji, Palo Alto, CA, USA) gaz kromatogramdan oluşmuştur. İlk kolon apolar BP1 (25 m x 0,32 mm iç çap, 1 µm film kalınlığı), ikinci kolon ise BP2 (3 m x 0,1 mm iç çap, 0,1 µm film kalınlığı)' dir. Her iki kolonda SGE' den (Ringwood, Australia) alındı. Pikin tanınmasında, Pegasus III reflectron kütle spektrometresi (Leco, Las Vegas, USA) kullanıldı.

Adaçayı numunelerinin kalitatif ve kantitatif analizlerinde Denizli Tarım ve Köy Hizmetleri İl Kontrol Laboratuvarı'nda mevcut olan GC-MS sistemi kullanıldı. BP5 kolonu SGE (Ringwood, Australia) firmasından temin edildi (25 m x 0,32 mm iç çap, 1 µm film kalınlığı).

### 5.4. Süper Isıtılmış Su ile Ekstraksiyon

Süper ısıtılmış su ile ekstraksiyon cihazının pompasının çözücü haznesi destile edilmiş su ile dolduruldu. Çalışmalarda sabit akış oranında çalışıldı. Çalışmalar sabit basınçta yapılmadı çünkü süper ısıtılmış suda basıncın çok fazla önemli olmadığı bilinmektedir. Oksijeni uzaklaştırılmış su, 2 mL/dk'lık sabit akış hızı ile HPLC pompasından ekstraksiyon sistemine pompalandı. Suyun pompalanmasından önce, 50 mL hacimdeki ekstraksiyon hücresi ve 1,5 m uzunluğundaki ön ısıtma sarmalından meydana gelen ekstraksiyon sistemi, suyun sıcaklığını istenilen derecede tutmak için fırında ısıtıldı ve bu şekilde ekstraksiyon işlemi başlatılmadan önce fırın sıcaklığı sabit bir değere getirilmiş oldu. Fırından çıkan sarmal ucu fırının dışından 1 m'lik soğutma

sistemine (buzlu su) bağlandı. Fırın ile soğuma sistemi arasına basınç kontrol vanası yerleştirildi. Bu şekilde belirli bir basınç aralığında çalışıldı.

Süper ısıtılmış su ile ekstraksiyon yapılırken, her defasında ekstraksiyon hücresinde (Şekil 5.4) 5,00 gr adaçayı ve kekik yaprağı (analiz öncesi boyutlar mümkün olduğunca küçültüldü) kullanıldı. Yapılan bütün analizlerde, ekstraksiyon hücresinin içine yerleştirilen numunenin her iki tarafına cam pamuğu ve paslanmaz çelik filtre yerleştirildi. Bu şekilde hem sistemde olabilecek kaçaklar önlendi hem de sistemin tıkanması önlenmiş oldu. Ekstraksiyon sonrası, ekstrakt soğutma sisteminden geçirilerek soğutuldu ve toplama kabına alındı.



**Şekil 5.4** Ekstraksiyon hücresi

Ekstraksiyon şartları; 2,00 mL/dk akış hızı, 150°C sıcaklık, 20-50 atm basınç aralığı ve yaklaşık olarak 30 dakikalık ekstraksiyon süresi olarak saptandı ve bu şartlarda çalışıldı. Toplanan analitler cam şişelerde biriktirilerek ön deriştirme işlemine kadar saklanarak bir hafta içinde kullanıldı.

## 5.5. Katı Faz Ekstraksiyonu ile Önderiştirme

Literatür araştırması sonucunda C-18 kartuşu (Supelco, Bellefonte, USA) yaygın olarak kullanıldığı tespit edildi. Ön denemeler sonucunda (C-18) kolonunun uygunluğuna karar verildi. Böylece SPE kartuşu, ekstraktlardan suyun uzaklaştırılabilmesi için hekzan ile tekrar ekstrakte etmek için kullanıldı.

SPE kartuşu ile ekstraksiyon işlemine başlamadan önce kartuş 5 mL 50/50 (V/V) su-metanol karışımı daha sonra 5 mL hekzan ile aktif hale getirildi. Önderiştirme yapılacak ekstraktlar kartuştan uygun akış hızında (dakikada 2-3 mL geçecek şekilde) geçirildi. SPE kartuşundaki akış hızı SPE sistemine bağlı olan pompa ile sağlandı.

SPE dört adımda gerçekleşmiştir. Bunlar

1. Şartlandırma Basamağı: İlk olarak katı faz sorbenti hazırlanır. Bu aşamada paketlenmiş materyalden çözücü, baştan sona geçerek, sorbentin fonksiyonel gruplarının çözünmesi sağlanır. Kolon içindeki hava uzaklaştırılır ve boşluklar çözücü ile doldurulur. Tipik hazırlama çözücüsü metanol veya sulu tampon çözeltisidir. Ardından hekzan geçirildi. Bu çözücüler ile kolonun aktive edilmesi, sulu örneklerin tutunma mekanizmalarının uygun çalışmasını sağlamak içindir.

Bu aşamada ayrıca sorbentin kurumasına izin verilmemelidir. Kuruma durumunda tutunma mekanizması etkili çalışmaz ve analitin geri kazanımı düşük olur. Eğer gerekli olursa, hazırlık boyunca sorbentin temizlenme basamağı da ilave edilebilir. Temizlenme basamağı metanol ile ıslanma aşamasından sonra kalabilecek kirliliklere karşı ayrıca çözücünün kolon boyunca hareketidir. Bu basamak, metanol ve hekzan ardından konulan örnek ilavesine hazırlıktır.

2. Alıkoyma Basamağı: Analiti içeren örnek, kolona ilave edilir. 1 mL'ye kadar örnekler, yerçekimi, pompalama, vakum yolu veya otomatik sistemlerle kolona yerleştirilir. En önemli mekanizma örnek ilave edilirken, kolon üzerinde analitin tutunmasıdır.

Bu basamakta analit, sorbent üzerinde konsantre edilir. Bunun yanında bazı matriks bileşenleri tutunabileceği gibi, bazıları da tutunmadan geçer. Paket üzerinde uygun bileşenlerin alıkonumunu arttırmak ve ayırmak için veya istenmeyen bileşenlerin çöktürülmesi için tuz konsantrasyonu ve örnek çözeltinin organik çözücü ile bileşiminin pH'sı ayarlanmalıdır. Örnek çözeltisini ekstraksiyon cihazından vakum ya da pozitif basınç yapılarak yavaşça geçirilir. Akış hızı alıkonma oranını etkiler.

3. Yıkama Basamağı: Eğer ilgili bileşenler paket üzerinde muhafaza edilirse istenmeyen veya aynı çözelti kullanıldığında muhafaza edilmeyen materyaller yıkanıp temizlenir. İlgili bileşenler ve saf olmayan maddelerin bulunduğu SPE paketlerinin üzerinden örnek geçtiği zaman safsızlıklar çalkalanma yoluyla yüksek oranda hareket ettirilir. Kolonun çalkalanması analiti muhafaza etmek içindir. Bu çalkalama ile analit muhafaza edilirken, kolonun çatlaklar şeklindeki boşluklarından matriks ayrılır. Yıkama sırasında kullanılan çözeltiler örnek matriksinden daha güçlü, fakat ilgili bileşenlerden daha zayıf polariteye sahip olmalıdır.

4. Çözerek Alma Basamağı: Uygun bir çözücü ile analitin sorbentten ayrılması sağlanır. Uygun çözücü, analiti iyi ayırmalı ve analit-sorbent etkileşimine sebep olmamalıdır.

Ekstraktların SPE kartuşundan geçişi tamamlandıktan sonra, yine vakum uygulanarak kartuş içinde kalan suyun uzaklaştırılması sağlandı. Bundan sonra SPE kartuşu yaklaşık 1 saat boyunca elüasyon işlemine kadar vakum altında bekletilerek içinde bulunan suyun tamamen uzaklaştırılması sağlandı. Kartuştan uçucu yağlar 5 mL hegzan kullanılarak elüe edildi.

SPE sisteminden alınan numunelerdeki organik fazın (hegzan fazının) fazlasının uçurulması amacıyla açık havada bırakıldı. Yaklaşık olarak 0,5-1,05 mL uygun miktarda undecane başlangıç standardı olarak konsantre numuneye ilave edildi. Karışım direkt olarak iki boyutlu GC-TOF/MS ve GC-MS'e enjekte edildi.



## 5.6. Gaz Kromatografisi

O. onites numunesi ekstraktlarının analizleri gaz kromatografi (GC)-hızlı zamanlı kütle spektrometresi (TOF/MS) kullanılarak yapıldı. 1 µL hacmindeki numune splitless metodu kullanılarak cihaza enjekte edildi. Kromatografi cihazında bulunan iki kolondan, birinci kolon apolar DB5(30 m x 0,32 mm i.d. x 0,25 µm film kalınlığı), ikinci kolon ise DB17 (1,9 m x 0,10 mm i.d. x 0,10 µm film kalınlığı)' dir. Her iki kolonda J & W Scientific (Folsom, CA, USA)'den temin edildi. İlk kolon olan apolar kolonda ayırım kaynama noktalarına bağlı olarak gerçekleşirken; ikinci kolon olan polar kolonda polaritelerine bağlı olarak ayırım gerçekleştirilmektedir. GC-TOF/MS cihazında taşıyıcı gaz olarak helyum kullanıldı.

İlk ayırım kolonunun başlangıç sıcaklığı ilk 30 saniye için 60°C ve sonraki sıcaklık programı 280°C' ye ulaşılan kadar dakikada 5°C artacak şekilde ayarlanmıştır. İkinci ayırım kolonunun başlangıç sıcaklığı ilk 30 saniye için 75°C, daha sonraki sıcaklık programı 300°C'e ulaşınca kadar dakikada 5°C artacak şekilde ayarlanmıştır. Pik belirlemesi, elektron çarpışma iyonizasyonu ile TOF/MS kullanılarak yapılmıştır. 50 spektra s<sup>-1</sup> hızında 45-350 amu arasındaki birim kararlı kütle spektrasını vermesi için geçici (kısa süreli) spektranın ortalaması alınarak kütle spektrometresi, 5 kHz'lik bir itme plak frekansı kullanılmıştır. Kütle spektrası, NIST kütle spektral kütüphanesiyle karşılaştırılmıştır.

GC-MS sisteminde sıcaklık programlanması; fırın giriş sıcaklığı 70°C'de 1 dakika sabit tutulmuştur. Daha sonraki sıcaklıklar 250°C 'ye ulaşınca kadar dakikada 5°C artacak şekilde ayarlanmıştır. GC-MS sisteminde taşıyıcı gaz olarak helyum kullanıldı.

Piklerin tanımlanmasında kütle spektrofotometresi kullanıldı. Kütle spektrası NIST98, WILEY-7n ve PMW\_tox3 literatürleriyle karşılaştırılmıştır. Üç literatürden yapılan karşılaştırmalardan her bir pik için üç ayrı veri elde edildi. Bu verilerden olasılığı en yüksek olan üzerinden işlemler gerçekleştirildi.

## 6. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bileşiklerin SWE ile elde edilen sıvı ekstraktan ayrılması, kritik bir aşamadır. Katı faz ekstraksiyonunun, bileşiklerin SWE sulu ortamında çıkarılmasını sağlayan sıvı-sıvı ekstraksiyonundan daha iyi bir teknik olduğu bulunmuştur (Özel vd 2004). Rovio (1999) ve Özel. (2003) tarafından yapılan çalışmalarda esans yağlarının SPE’de paketlenmiş materyal olarak C-18 kullanılmasıyla sulu ekstraktan başarılı bir şekilde uzaklaştırıldığını bildirilmiştir.

### 6.1. *Origanum onites* Bitkisi ile Yapılan Çalışmaların Sonuçları



Şekil 6.1 *O. onites* bitkisi

3 farklı tarihte toplanmış *O. onites* örneklerinin yapraklarındaki ve tohumlarındaki esans yağlar, SWE tekniği kullanılarak elde edilmiştir (Şekil 6.1). Yenilebilir esansiyel yağların SWE’si için optimum sıcaklığın 125°C, basıncın 2 mPa ve akış hızının 1 mL dak<sup>-1</sup> olduğu yapılan çalışmalarda bulunmuştur. Yapılan çalışmalar sonucunda 150°C sıcaklık, 60 bar basınç, 2 mL min<sup>-1</sup> akış hızı ve 30 dk ekstraksiyon süresi kullanılarak

*T. spicata*'nın SWE'si optimize edilmiştir (Özel vd 2003). Çalışmada, sıcaklığın diğer parametrelerden daha kritik bir önem taşıdığını keşfedilmiştir. Yine Özel ve Kaymaz (2004) tarafından yapılan bir çalışmada; sıcaklığın, ekstraksiyon sonuçlarını nasıl etkileyeceğini anlamak amacıyla 2 mL dak<sup>-1</sup> akış hızı, yaklaşık 60 bar basınç ve 30 dk ekstraksiyon süresi kullanılarak çeşitli sıcaklıklarda (100-175°C) denemeler yapılmıştır. Bu çalışma sonunda en uygun sıcaklığın 150°C olduğu bulunmuştur. Bu nedenden dolayı çalışmalarımızda 150°C sıcaklık değeri kullanılmıştır. Düşük sıcaklıklarda esans yağların tam olarak geri alınamaması; yüksek sıcaklıklarda ise bozunmalardan dolayı 150°C sıcaklık değeri kullanılmıştır.

Katı faz ekstraksiyonu ile sulu sistemden organik bileşiklerin ayrılması pek çok durumda uygulanmıştır. Rovio vd (1999) C18 materyallerinin katı faz ekstraksiyonu ile sulu ekstrakttan karanfilin uçucu yağının başarılı şekilde uzaklaştırıldığını belirtmişlerdir. Dolayısıyla sulu fazdan bileşiklerin uzaklaştırılması için katı faz ekstraksiyon maddesi olarak C18 kullanılması tercih edilmiştir.

Esans yağları, normal olarak, organik bileşiklerin kompleks bir karışımını içerir. Onlar daha geniş ölçüde nispeten düşük moleküler ağırlıklı doymuş veya kısmen doymamış halkalı ve doğrusal bir dizi molekülden oluşmuşlardır. Geleneksel 1-boyutlu gaz kromatografisi genel olarak kompleks karışımlar için yeterli bir ayrılma sağlamaz. Esans yağları, birçok bileşen içerdiği için bazı bileşenlerin ilgili analitleri anlaşılabilir. Bu çalışmada *O. onites* yapraklarındaki esans yağlarının analizi için kapsamlı GCxGC-TOF/MS kullanılmıştır. 1. boyut ayrılma, non-polar kolon kullanılarak kaynama noktasına göre ayrılmasına dayanmaktadır. 2. boyut ayrılma ise bir polar kolon kullanılarak polariteye göre ayrılmasına dayanmaktadır. İkincisinin içeriği, ayrıntılı bir 2 boyutlu kromatogram oluşturur.

Gözler'den toplanan *O. onites* türlerinin yaprak ve tohumlarının esans yağ oranları sırasıyla Tablo 6.1 ve Tablo 6.2'de gösterilmiştir.

**Tablo 6.1.** *O. onites* yaprak GCXGC-TOF/MS sonuçları

Analit	RI	15 Haziran		25 Haziran		05 Temmuz	
		%	BSS	%	BSS	%	BSS
3-Thujene	938	0,01	7,21	0,03	6,12	0,02	6,87
$\alpha$ -Pinene	939	0,02	5,55	0,04	4,87	0,06	5,67
Camphene	953	0,01	6,85	0,01	6,29	0,02	6,28
Benzaldehyde	960	0,02	6,11	0,02	7,23	0,02	7,55
$\beta$ -pinene	981	0,05	4,93	0,13	5,93	0,48	5,81
Myrcene	992	-	-	0,08	5,87	0,06	5,83
3-Octanol	1004	0,02	7,1	-	-	-	-
$\alpha$ -Phellandrene	1006	0,01	7,42	0,02	6,28	-	-
o-Cymene	1020	0,88	3,54	0,92	4,23	0,83	4,81
Eucalyptol	1030	0,03	6,02	0,20	5,8	0,05	6,94
Limonene	1033	0,02	4,87	0,05	6,83	0,03	5,64
Ocimene	1052	-	-	0,01	6,31	0,02	7,33
Acetophenone	1068	-	-	-	-	0,02	6,71
$\gamma$ -Terpinene	1074	-	-	-	-	0,01	7,51
Terpinolene	1088	0,23	5,13	0,52	4,98	0,61	5,47
Undecane	1100	0,02	6,27	0,01	5,37	0,03	3,99
Linalool	1100	0,14	5,28	4,44	3,97	5,14	5,81
1-Octen-3-ol	1110	0,17	4,96	0,32	5,13	0,19	4,29
$\alpha$ -Campholenal	1125	0,01	6,63	0,01	6,83	0,02	5,37
Pinocarveol	1139	0,01	7,54	0,03	5,98	0,03	6,26
Camphor	1139	0,01	6,88	0,04	6,27	0,01	6,83
Verbenol	1140	-	-	-	-	0,01	6,97
Borneol	1162	0,34	5,73	0,41	5,35	0,79	3,88
Terpinen-4-ol	1179	0,47	6,28	0,75	3,71	0,86	4,93
$\alpha$ -Terpineol	1195	0,19	5,43	0,39	4,52	0,56	3,68
Carveol	1197	0,03	6,48	0,03	6,58	0,14	7,12
Dihydrocarvone	1202	0,04	7,1	0,08	6,47	0,01	7,25
Linalool oxide	1212	0,01	5,98	0,09	6,14	0,20	5,45
Nerol	1233	0,01	5,46	0,04	7,19	0,12	5,69
Carvone	1254	0,10	4,87	0,15	5,87	0,12	6,33
Thymol	1290	0,18	5,83	0,41	4,26	1,45	5,21
Carvacrol	1295	92,66	4,83	86,71	5,13	84,33	3,81
Eugenol	1364	-	-	0,19	6,96	-	-
Eicosane	2000	0,02	7,12	-	-	0,01	7,16
Unknown		4,29	5,39	3,89	5,98	3,73	4,84

RI, Alikonma indeksi; BSS: Bağıl standart sapma, n=4

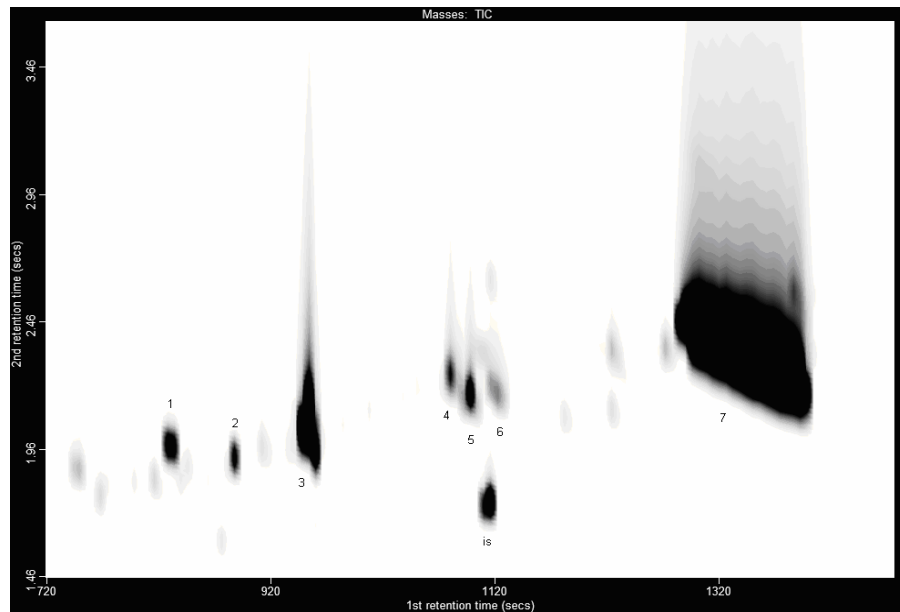
**Tablo 6.2.** *O. onites* tohum GCxGC-TOF/MS sonuçları

Analit	RI	15 Haziran		25 Haziran		05 Temmuz	
		%	BSS	%	BSS	%	BSS
$\alpha$ -Thujene	938	0,15	5,27	0,11	6,65	0,07	5,83
$\alpha$ -Pinene	939	0,09	3,83	0,09	5,38	0,12	6,52
Camphene	953	0,03	6,88	0,02	7,29	0,03	7,22
Benzaldehyde	960	0,02	7,15	0,01	6,86	0,02	6,63
$\beta$ -pinene	981	0,01	7,32	2,77	4,23	5,04	5,29
1-Octen-3-ol	982	0,16	6,29	0,12	4,97	0,19	6,62
Myrcene	992	0,22	5,11	0,20	3,96	0,17	3,56
3-Octanol	1004	0,01	6,93	-	-	-	-
$\alpha$ -Phellandrene	1006	0,12	3,98	0,08	6,25	0,05	6,89
3-Carene	1009	0,02	6,56	0,11	5,87	0,47	5,28
o-Cymene	1020	0,81	4,21	0,86	3,81	0,92	3,66
Eucalyptol	1030	0,07	3,56	0,15	6,55	0,08	6,11
Limonene	1033	0,08	6,83	0,08	6,68	0,07	5,52
m-Cymene	1037	-	-	-	-	0,13	7,45
Ocimene	1052	0,01	7,82	0,02	7,59	0,05	6,83
Acetophenone	1068	-	-	-	-	0,02	6,28
$\gamma$ -Terpinene	1074	0,05	5,58	0,65	6,24	-	-
Terpinolene	1088	1,06	6,27	0,86	5,65	0,91	4,43
Undecane	1100	0,02	4,96	0,03	7,91	0,07	5,58
Linalool	1100	0,17	5,77	9,03	3,81	11,24	3,23
2-Decen-1-ol	1110	-	-	-	-	0,04	7,33
$\alpha$ -Campholenal	1125	0,02	6,53	0,04	6,21	0,52	5,69
Pinocarveol	1139	0,02	6,85	0,03	5,53	0,05	6,37
Camphor	1139	-	-	0,03	6,79	-	-
Verbenol	1140	-	-	-	-	0,04	4,88
Borneol	1162	1,04	4,96	0,68	3,46	1,30	6,81
Terpinen-4-ol	1179	2,07	6,81	1,38	5,27	2,83	4,56
Myrtenol	1194	-	-	-	-	0,20	4,65
$\alpha$ -Terpineol	1195	0,54	5,59	0,62	5,91	1,50	3,96
Carveol	1197	0,35	5,88	0,03	6,38	0,05	6,85
Dihydrocarvone	1202	0,08	6,63	0,04	5,26	-	-
Linalool oxide	1212	-	-	0,01	7,54	0,06	7,13
Nerol	1233	0,02	6,96	0,15	5,21	0,93	5,49
Isobornyl formate	1245	-	-	-	-	1,38	4,68
Carvone	1254			0,17	4,99	0,29	5,69
Thymol	1290	1,22	4,99	1,13	5,68	1,48	5,44
Carvacrol	1295	87,59	3,91	76,09	3,49	64,92	4,36
Eugenol	1364	-	-	-	-	0,22	6,84
Caryophyllene oxide	1573	-	-	-	-	0,02	7,23
Eicosane	2000	0,02	7,87	-	-	0,02	6,28
Unknown		3,95	4,43	4,41	5,18	4,51	4,89

RI, Alikonma indeksi; BSS: Bağıl standart sapma, N=4

*O. onites* üzerine yapılan çalışmalarda bitkinin iki kısmındaki (tohum ve yapraklar) esans yağlar SWE tekniği ile elde edilmiştir. *O. onites* türleri 3 farklı tarihte (15 Haziran, 25 Haziran, 5 Temmuz) toplanmıştır. Değişik tarihlerde toplanan *O. onites* türlerindeki değişen esans yağ miktarları araştırılmıştır.

*O. onites* yapraklarından toplam 40 bileşen elde edilmiştir. Bu bileşenler Tablo 6.1'de gösterilmektedir. Bu bileşenlerden 7 ana bileşen Şekil 6.2'de belirtilmiştir. Yapraklar ve tohumlardan elde edilen diğer bileşenler Tablo 6.1. ve Tablo 6.2.'de alıkonma indeksleri ve standart sapmaları ile birlikte listelenmiştir. Her bir numune için yapılan 4 paralel çalışmada 5'er gram numune kullanılmıştır. Toplam esans yağ miktarlarının ilk toplanan numunede daha az bulunduğu tespit edilmiştir. Toplam esans yağ miktarlarının, Haziran ayından Temmuz ayına doğru arttığı tespit edilmiştir. *O. onites* tohumlarında esans yağ yüzdeleri sırasıyla %3,63, %4,22 ve %4,57 bulunmuştur. *O. onites* yapraklarında ise esans yağ yüzdeleri sırasıyla %2,88, %3,06 ve %3,97 bulunmuştur. Görüldüğü gibi yaprak ve tohumlardaki esans yağ miktarları tarihin ilerlemesi ile artmaktadır. Ayrıca tohumlardaki esans yağ oranı, yapraklardakinden daha yüksek elde edilmiştir.



**Şekil 6.2.** *O. onites* yaprağının (5 Temmuz) uçucu bileşenlerinin iki boyutlu kromatogramı (1: o-cymene, 2: terpinolene, 3: linalool, 4: borneol, 5: terpinen-4-ol, 6:  $\alpha$ -terpineol, 7: thymol ve carvacrol).

*O. onites* tohumlarında, 3-carene, m-cymene, 2-decen-1-ol, myrtenol, isobornyl formate, caryophyllene oxide gibi maddeler tespit edilirken, yapraklarda bu maddeler tespit edilememiştir. Tohum ve yaprak örneklerinde tespit edilen aynı maddelere bakıldığında da yine esas yağ oranları arasında farklılıklar bulunmaktadır. Örneğin linalool maddesi her iki türde de tespit edilmiştir. Ancak yapraklardaki linalool oranı %5,14 iken tohumlarda bu oran %11,24 olarak tespit edilmiştir. Bu fark tohumlardaki esans yağ oranlarının yapraklardakine göre daha yüksek olduğunu göstermektedir.

*O. onites* yapraklarında (5 Temmuz) ana bileşenler o-cymene (%0,83), terpinolene (%0,61), linalool (%5,14), borneol (%0,79), terpinen-4-ol (%0,86),  $\alpha$ -terpineol (%0,56), thymol ve carvacrol (%1,45-%84,83) olarak tespit edilmiştir. Bu maddeler sırasıyla Şekil 6.2'de gösterilmektedir. 5 Temmuz tarihinde toplanan *O. onites* türünün yapraklarında yağ oranı diğer tarihlerde toplananlara göre daha yüksek olduğu bulunmuştur. Örneğin linalool oranları sırasıyla %0,14, %4,44 ve %5,14 bulunmuştur. Yapraklardaki thymol oranları ise sırasıyla %0,18, %0,41 ve %1,45 bulunmuştur. Tohum örneklerinde olduğu gibi, yaprak örneklerinde de esans yağ oranları tarih ilerledikçe artmaktadır. Ve tohum örneklerinde olduğu gibi en yüksek esans yağ oranı 5 Temmuz'da toplanan *O. onites* numunesinden elde edilmiştir.

5 Temmuz tarihli numunede tohumlar daha yüksek oranlarda esans yağ içerdiği tespit edilmiştir. Örneğin  $\beta$ -pinene oranı sırasıyla %0,01, %2,77 ve %5,04 tespit edilmiştir. Ayrıca eugenol, myrtenol ve isobornyl formate 5 Temmuz tarihli numunede sırasıyla %0,22, %0,20 ve %1,38 oranlarında tespit edilirken; aynı maddeler diğer tohum örneklerinde tespit edilememiştir. 5 Temmuz tarihinde toplanan *O. onites* örneği tohum ve yapraklarında en yüksek oranda esans yağ tespit edilmiştir.

Carvacrol ve thymol antioksidan etkileri ile iyi bilinen fenolik bileşenlerdir (Özel vd. 2003). Carvacrol her iki örnek için de ana bileşen olarak tespit edilmiştir (%64,92 %92,66). Carvacrol miktarı yaprak ve tohum örnekleri için ilk toplanan numunelerde daha fazla iken, toplanan yağ miktarının en fazla bulunduğu numunede (5 Temmuz) carvacrol miktarı daha az tespit edilmiştir.

Monoterpen bileşiklerin değeri, yağların sadece az bir mesafede güzel kokularına katkı sağladığı için oksijenlenmiş bileşiklerden daha azdır. *O. onites* örneklerinin

yaprak ve tohumlarındaki esansiyel yağların sadece çok az miktarda monoterpen ( $\alpha$ -thujene,  $\alpha$ -pinene, camphene) içerdiği ve daha yüksek konsantrasyonlarda oksijenlenmiş bileşiklere (calvacrol, terpinen-4-ol, borneol, thymol) sahip olduğu Tablo 1 ve 2’de görülmektedir. Bu esansiyel yağlar bitkiyi daha değerli yapar. Bu oksijenlenmiş bileşikler 5 Temmuz tarihinde toplanan *O. onites* örneğinde daha yüksek oranda tespit edilmiştir.

## 6.2. Salvia Türleri ile Yapılan Çalışmaların Sonuçları

*Lamiaceae* familyasına ait *salvia* türleri Muğla-Fethiye, Denizli Merkez, Eskişehir-Merkez, Antalya-Korkuteli ve Antalya-Gündoğmuş olmak üzere beş bölgeden toplanmıştır. *Salvia* cinsine ait iki tür üzerinde çalışılmıştır. Bunlar *S. fruticosa* ve *S. officinalis*’tir.

### 6.2.1. *S. fruticosa* ile yapılan çalışmanın sonuçları



Şekil 6.3. *S. fruticosa* bitkisi

*S. fruticosa* türüne ait dört farklı numune ile çalışılmıştır. Bu numuneler Muğla-Fethiye, Denizli-Merkez, Antalya-Korkuteli ve Antalya-Gündoğmuş olmak üzere dört farklı bölgeden toplanmıştır (Şekil 6.3). Bu numuneler öncelikle SWE ile ekstrakte edildi ve daha sonra SPE sistemi ile elüe edilmiştir. SWE ve SPE şartları *O. onites*



türünde çalışılan şartlarla aynıdır. Ancak *salvia* örnekleri ile çalışılırken tek boyutlu GC-MS sistemi kullanılmıştır.

*S. fruticosa* türünün GC-MS sonuçları Tablo 6.3’de verilmiştir. Bu verilere göre çalışılan tür aynı olmasına rağmen toplam uçucu yağ miktarları ve içerikleri bakımından farklılıklar göstermektedir.

**Tablo 6.3.** *S. fruticosa* GC-MS sonuçları

Analit	RT	Muğla Fethiye		Denizli Merkez		Antalya Korkuteli		Antalya Gündoğmuş	
		%	BSS	%	BSS	%	BSS	%	BSS
1,8-Cineole	2,20	33,85	3,88	37,25	5,05	14,25	6,75	42,72	6,47
A-Pinene	6,24	1,16	4,22	2,18	6,09	8,65	4,99	4,21	3,95
B-pinene	7,36	2,18	6,85	1,11	7,87	13,39	5,00	1,08	6,83
B-Myrcene	7,76	0,12	3,17	0,27	8,63	-	-	0,27	4,50
1-Octen-3-ol	7,94	0,18	9,02	0,07	8,47	-	-	0,22	5,85
Sabinene	8,17	-	-	-	-	0,29	7,32	-	-
Eucalyptol	8,25	-	-	-	-	2,39	4,93	-	-
Phellandrene	8,47	-	-	-	-	0,29	8,97	-	-
Camphene	8,80	3,61	3,89	2,57	4,55	0,66	6,27	2,35	6,31
Limonene	9,99	-	-	-	-	0,25	3,48	-	-
Linalool	10,12	0,58	6,21	-	-	5,85	5,81	-	-
Γ-Terpinene	10,36	-	-	-	-	0,59	5,61	-	-
4-Carene	10,97	-	-	-	-	1,33	7,66	-	-
Fenchol	11,61	-	-	-	-	0,46	9,87	-	-
Terpinolene	11,1	-	-	-	-	0,62	6,35	-	-
A-Thujone	11,34	7,06	7,75	4,76	4,27	2,76	7,15	3,10	8,86
B-Thujone	11,44	3,87	4,01	9,02	6,76	-	-	1,52	5,33
Camphor	12,16	22,12	6,64	17,91	4,12	3,96	4,58	28,27	5,67
Pinocarvone	12,74	-	-	-	-	1,90	6,37	-	-
Borneol	13,22	6,45	3,95	4,79	6,80	0,84	5,88	1,99	9,57
Terpinen-4-ol	13,31	-	-	1,62	7,31	1,63	3,59	-	-
A-Terpineol	13,87	3,27	2,99	0,77	3,79	9,16	8,02	4,03	6,71
Carvone	15,15	-	-	0,16	7,11	0,17	6,50	-	-
Eicosane	15,46	-	-	0,08	8,27	-	-	-	-
Isobornyl acetate	15,55	-	-	0,12	5,91	-	-	-	-
Dihydrocarvone	15,66	0,32	6,59	-	-	-	-	-	-
Cinnamaldehyde	16,41	0,09	8,14	0,04	4,66	0,26	9,88	-	-
Thymol	17,43	2,96	6,91	2,97	8,02	6,24	7,35	0,47	5,48
Bornyl acetate	17,88	-	-	-	-	-	-	0,73	7,12
B-caryophyllene	18,28	-	-	9,69	3,39	-	-	-	-
Eugenol	18,33	3,97	4,29	0,13	5,62	3,21	9,84	0,12	8,65
B-caryophyllene	18,38	3,13	5,45	-	-	16,81	9,52	3,78	9,19
Butylated Hydroxytoluene	21,73	-	-	0,10	9,02	0,11	4,96	-	-
pinocarveol	25,72	-	-	0,06	7,72	-	-	-	-
Dibutyl phthalate	31,83	-	-	0,11	9,56	-	-	-	-

RT, Alikonma zamanı; BSS: Bağıl standart sapma, N=4

Dört farklı numunenin toplam yüzde yağ miktarları sırasıyla: %0,97; %1,86; %1,78; %1,53'dür. Toplam yağ yüzdelerine göre en yüksek yağ oranı (%1,86) Antalya-Korkuteli'nden toplanan numunede görülmektedir. En düşük yağ oranını (%0,97) ise Muğla-Fethiye'den toplanan numune vermektedir.

1,8-Cineole ve camphor her numunede çok yüksek oranlarda tespit edilmiştir. 1,8-cineole miktarları sırasıyla %33,85, %37,25, %14,25 ve %42,72'dir. Camphor yüzdeleri ise sırasıyla %22,12, %17,91, %3,96 ve %28,27'dir. 1,8-Cineole ve camphor üç numune için oldukça yüksek yüzdelerle elde edilirken, toplam yağ yüzdesi en yüksek olan Antalya-Korkuteli numunesinde diğerlerine göre daha düşük değerde tespit edilmiştir.

Bunun yanı sıra  $\beta$ -pinene ve  $\beta$ -caryophyllene maddeleri Antalya-Korkuteli numunesinde yüksek bir oranda (13,39; 16,81) tespit edilirken diğer üç numunede aynı maddeler çok düşük değerlerde tespit edilmiştir.

### 6.2.2. *S. officinalis* ile yapılan çalışmanın sonuçları

*S. officinalis* türüne ait Eskişehir ve Denizli'den toplanan iki farklı numune ile çalışılmıştır (Şekil 6.4). Bu numuneler SWE ile ekstrakte edildikten sonra, SPE sisteminde elüe edilip tek boyutlu GC-MS sisteminde kantitatif analizleri yapılmıştır. Çalışma şartları diğer numunelerle çalışılan şartlarla aynıdır.



Şekil 6.4. *S. officinalis* bitkisi

*S. officinalis* türüne ait GC-MS sonuçları Tablo 6.4’de verilmektedir.

**Tablo 6.4.** *S. officinalis* GC-MS sonuçları

Analit	RT	Eskişehir Merkez		Denizli Merkez	
		%	BSS	%	BSS
$\alpha$ -Pinene	6,26	3,85	4,46	2,22	6,18
Camphene	6,68	2,45	6,15	0,53	5,80
$\beta$ -Pinene	7,38	5,00	8,89	1,25	7,15
Eucalyptol	7,51	-	-	0,27	7,63
$\beta$ -Myrcene	7,68	1,04	4,75	-	-
4-Carene	8,12	0,17	4,19	-	-
1,8-Cineole	8,88	18,55	3,89	17,46	5,69
cis-Sabinenehydrate	9,99	0,20	7,70	0,24	6,33
$\alpha$ -Thujone	10,55	7,21	7,12	6,25	3,90
$\beta$ -Thujone	10,66	2,45	6,54	2,94	4,81
Linalool	10,97	0,66	6,59	0,79	8,15
Camphor	12,29	22,78	7,86	24,32	6,66
Borneol	13,17	3,91	5,49	8,21	4,77
Terpinen-4-ol	13,85	0,89	8,86	-	-
$\alpha$ -Terpineol	13,88	1,13	8,71	1,35	8,02
Bornyl acetate	15,49	0,40	5,33	0,48	7,76
Carvone	15,23	1,80	5,72	2,16	4,44
Cinnamaldehyde	16,98	0,89	6,37	0,35	5,19
Carvacrol	17,72	3,70	3,69	-	-
Eugenol	19,25	8,34	3,31	17,16	6,88
$\beta$ -Caryophyllene	19,62	9,80	5,75	8,21	6,10
Germacrene D	20,11	-	-	0,32	5,27
$\alpha$ -Humolene	22,75	-	-	0,07	8,94
Butylated Hydroxytoluene	21,82	0,08	5,92	-	-
Caryophyllene oxide	25,74	0,12	6,36	-	-
Eicosane	26,00	0,06	9,83	-	-

RT, Alıkonma zamanı; BSS: Bağıl standart sapma, N=4

*S. officinalis* türlerine ait yapılan çalışmada iki türün toplam yağ yüzdeleri sırasıyla %1,89 ve %1,32 olarak tespit edilmiştir. Uçucu yağ yüzdeleri olarak iki farklı numune arasında çok fazla fark bulunmamaktadır. Eskişehir-Merkez’den toplanan numunenin toplam yağ oranı diğer numuneye göre biraz daha fazladır.

Antioksidan karakterli önemli bir madde olan carvacrol Eskişehir numunesinde belirli bir oranda tespit edilirken, Denizli numunesinde hiç tespit edilememiştir. Aynı şekilde eugenol maddesi Eskişehir numunesinde yüksek bir oranda (%17,16) tespit edilirken, Denizli numunesinde bunun hemen hemen yarısı kadar bir oranda (%8,34) tespit edilebilmiştir.

*S. fruticosa* türünde olduğu gibi ana bileşen olarak *S. officinalis*'te de 1,8-cineole ve camphor tespit edilmiştir. Numunelerdeki 1,8-cineole oranları sırasıyla %18,55 ve %17,46 iken camphor oranları sırasıyla %22,78 ve %24,32 olarak tespit edilmiştir.

Aynı cinsin iki farklı türü olan *S. fruticosa* ile *S. officinalis*'in ana bileşenlerinin yağ oranlarını karşılaştıracak olursak; *S. fruticosa*'da camphor oranı 1,8-cineole oranına göre daha düşük iken; *S. officinalis*'te camphor oranı 1,8-cineole oranına göre daha yüksektir.

### **6.3. *Sideritis* Türleri ile Yapılan Çalışmaların Sonuçları**

*Lamiaceae* familyasının bir diğer üyesi olan *sideritis* cinsinin iki türü çalışılmıştır. Bu türler *S. montana* ve *S. pisdica*'dır. Bu numuneler de Muğla-Fethiye, Denizli Merkez, Antalya-Korkuteli ve Antalya-Gündoğmuş olmak üzere dört farklı bölgeden toplanmıştır.

#### **6.3.1. *S. montana* ile yapılan çalışmaların sonuçları**

*S. montana* numunesi Antalya-Gündoğmuş kasabası'ndan toplanmıştır (Şekil 6.5). Diğer *salvia* türlerinde olduğu gibi bu türde SWE ile ekstrakte edilip, SPE'de elüe edildikten sonra tek boyutlu GC-MS ile kantitatif analizi yapılmıştır. Çalışma şartları diğer numunelerle çalışılan şartlarla aynıdır.

*S. montana* türüne ilişkin GC-MS sonuçları Tablo 6.5'de verilmektedir. Tablodan da görüleceği gibi *S. montana* türünün uçucu yağ bileşenleri ve toplam yağ yüzdesi diğer tüm türlere göre çok düşüktür. İçerdiği uçucu yağ oranı oldukça düşük bir türdür.



Şekil 6.5. *S. montana* bitkisi

Tablo 6.5 *S. montana* GC-MS sonuçları

Analit	RT	%	BSS
A-Pinene	6,24	0,29	2,95
B-Pinene	7,36	0,62	6,35
1,8-Cineole	8,80	0,57	7,44
Linalool	10,97	0,14	8,48
Thujone	11,34	0,11	6,44
Camphor	12,16	0,22	7,11
Borneol	13,11	0,70	5,94
A-Terpineol	13,85	1,85	3,19
Carvone	15,30	0,52	4,49
Cinnamaldehyde	16,41	0,16	6,81
Thymol	17,43	12,17	7,13
Eugenol	18,33	26,89	5,53
Caryophyllene	19,57	0,97	5,96
Germacrene D	21,17	50,62	7,08
Spanhulenol	39,32	0,14	6,14

RT, Alikonma zamanı; BSS: Bağıl standart sapma, N=4

*S. montana* türünde toplam 19 bileşen tespit edilebilmiştir. Bu türün toplam yağ yüzdesi ise %0,77'dir. Uçucu yağ yüzdesi olarak diğer *salvia* ve *origanum* türlerine göre oldukça düşük bir değerdedir.

*S. montana* türü düşük yağ oranına sahip olmasına rağmen, çalıştığımız *lamiaceae* familyasının diğer türlerinde çok az oranlarda tespit edilen bir maddeyi oldukça yüksek bir oranda bulundurmaktadır. Germacrene D., *S. montana* türünde ana bileşen olarak tespit edilmiştir. Diğer çalışılan türlerde bu madde oldukça düşük miktarlarda tespit edilmiştir, ancak *S. montana* türünde bu madde oldukça yüksek bir oranda (%50,62) tespit edilmiştir.

Bunun yanı sıra eugenol ve thymol maddeleri de bu türde yüksek oranlarda bulunmuştur. *S. montana* türünde eugenol oranı %26,89, thymol miktarı ise %12,17 gibi yüksek oranlarda belirlenmiştir.

### 6.3.2. *S. pisidica* ile yapılan çalışmanın sonuçları

Çalışmada kullanılan *S. pisidica* numuneleri Muğla-Fethiye, Denizli Merkez, Antalya-Korkuteli ve Antalya-Gündoğmuş merkezlerinden toplanmıştır ve bu türün diğer türlerden tek farkı, daha çalimsı yapıda olmasıdır (Şekil 6.6).

Bu numunelerde de diğer numuneler de olduğu gibi SWE, SPE ve GC-MS sistemlerinde işlemlere maruz kalarak analiz edilmiştir. Şartlar diğer tüm numunelerdekiyle aynıdır.

*S. pisidica* türünün GC-MS sonuçları Tablo 6.6'da verilmiştir. Dört numunenin toplam yağ oranları sırasıyla; %0,68, %0,67, %0,52 ve %0,89 olarak belirlenmiştir.



Şekil 6.6. *Sideritis pisidica* bitkisi

**Tablo 6.6** *S. pisidica* GC-MS sonuçları

Analit	RT	Muğla Fethiye		Denizli Merkez		Antalya Korkuteli		Antalya Gündoğmuş	
		%	BSS	%	BSS	%	BSS	%	BSS
3-Buten-1-ol	2,21	4,01	6,8	-	-	-	-	-	-
3-Thujene	6,05	-	-	0,60	7,31	0,60	5,71	-	-
Thujene	6,12	0,38	3,19	-	-	-	-	-	-
A-Pinene	6,25	1,92	5,57	22,30	8,57	3,56	5,89	11,48	6,87
Camphene	6,67	0,15	6,69	0,84	3,73	0,24	7,12	0,14	4,67
B-Phellandrene	7,24	3,49	5,51	1,60	6,69	-	-	-	-
B-pinene	7,37	4,95	2,93	23,95	5,83	3,26	4,27	11,44	4,43
B-Myrcene	7,64	0,95	8,16	-	-	-	-	0,95	7,71
D-Limonene	8,80	-	-	5,61	6,17	2,50	6,69	3,46	5,88
Γ-Terpinene	9,7	0,11	5,59	1,11	8,86	0,21	8,00	0,21	3,15
4-Carene	8,42	1,53	9,11	3,05	5,53	0,36	7,10	1,54	9,93
Eucalyptol	8,81	4,52	6,53	-	-	3,32	6,38	-	-
Tetradecane	10,56	-	-	-	-	0,27	8,02	-	-
Undecane	10,72	-	-	-	-	0,12	3,17	-	-
Linalool	10,92	0,77	5,27	3,75	6,45	1,82	6,11	5,32	6,33
Fenchol	11,60	-	-	-	-	0,24	8,44	-	-
Pinocarveol	12,16	-	-	-	-	-	-	1,54	4,71
Camphor	12,62	20,35	6,84	17,35	4,27	10,96	5,23	23,46	5,10
Borneol	13,27	-	-	-	-	0,27	6,41	-	-
Terpinen-4-ol	13,34	14,62	4,66	4,45	9,13	0,91	7,79	4,61	7,81
A-Terpineol	13,89	-	-	-	-	3,90	6,61	21,44	6,75
Carvone	15,13	0,97	6,41	-	-	0,72	4,48	0,27	6,63
Octadecane	15,46	-	-	-	-	0,24	5,86	-	-
cis-Sabinenehydrate	15,56	-	-	0,13	7,34	-	-	0,14	8,18
Isobornyl acetate	16,00	-	-	-	-	-	-	0,11	7,71
Cinnamaldehyde	16,85	0,34	3,97	-	-	0,27	4,14	-	-
Thymol	17,44	14,54	5,88	4,34	6,63	25,83	3,27	8,92	5,37
Eugenol	18,44	17,78	6,29	4,95	4,89	34,37	8,66	-	-
Caryophyllene	19,57	0,54	7,14	-	-	-	-	-	-
Germacrene D	21,17	0,12	8,99	-	-	-	-	0,12	6,39
Butylated Hydroxytoluene	21,72	0,15	7,38	0,40	4,29	0,99	5,49	-	-
Isoledene	22,06	0,26	5,94	0,45	7,19	-	-	-	-
Spathulenol	23,77	0,16	6,9	-	-	-	-	-	-
Hexadecane	23,86	-	-	-	-	0,12	7,89	-	-
Ledol	24,35	0,19	10,01	-	-	-	-	-	-
Cedrene	24,85	-	-	0,75	8,86	-	-	-	-
A-Bisabolol	24,87	-	-	-	-	0,42	6,13	-	-
Δ-Cadinene	24,92	-	-	0,15	6,69	-	-	-	-
Copaene	25,20	-	-	0,25	7,15	-	-	-	-
A-Cadinol	25,65	0,91	8,85	-	-	-	-	-	-
Eicosane	-	-	-	-	-	0,45	7,41	-	-

RT, Alkonma zamanı; BSS: Bağıl standart sapma, N=4

Çalışılan dört *S. pisidica* türü için ana madde olarak camphor tespit edilmiştir. Bu tür için camphor oranları sırasıyla %20,35, %17,35, %10,96 ve %23,46 olarak tespit edilmiştir. Bu madde çalışılan her numune için ana bileşen olarak tespit edilmiştir.

Bunların yanında eugenol, thymol, terpinen-4-ol'de *S. pisidica* numunelerinde oldukça yüksek oranlarda belirlenmiştir. Ancak bu maddeler için en yüksek oranı Muğla-Fethiye bölgesinden toplanan numune vermektedir.

$\alpha$ -Terpineol maddesi bu dört numune içinde sadece Antalya Gündoğmuş kasabası'ndan toplanan numunede oldukça yüksek orandadır (%21,44). Bu madde Antalya Korkuteli'nden toplananda %3,90 oranında tespit edilirken; diğer numunelerde hiç gözlenmemektedir. Aynı şekilde  $\beta$ -pinene maddesi Denizli Merkez'den toplanan numunede %23,95 gibi orandayken, diğer numunelerde çok daha düşük oranlarda tespit edilmiştir.



## KAYNAKLAR

- Akhondzadeh, S., Noroozian, M., Mohammadi, M., Ohadinia, S., Jamshidi A.H., Khani, M. (2003) *Salvia officinalis* Extract in the Treatment of Patients with Mild to Moderate Alzheimer's Disease: a Double Blind, Randomized and Placebo-controlled trial. **J. Clin. Pharm. Ther.**, 28 (1): 53-59.
- Aureli, P., Costantini, A., Zolea, S. (1992) Antimicrobial Activity of Some Plant Essential Oils Against *Listeria monocytogenes*. **J. Food Protect.**, 55: 344-348.
- Ay, Ş. (1992) *Salvia sclarea* Uçucu Yağının Bileşimi, Yüksek Lisans Tezi, **Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü**, Eskişehir.
- Azcan, N., Ertan, A., Demirci, B., Başer, K. H. C. (2004) Fatty Acid Composition of Seed Oils of Twelve *Salvia* Species Growing in Turkey. **Chem. Nat. Compd.**, 40: 186-188.
- Baricevic, D., Sosa, S., Della Loggia, R., Tubaro, A., Simonovska, B., Krasna, A., Zupancic A (2001) Tropical Anti-inflammatory activity of *Salvia officinalis* L. Leaves: the Relevance of Ursolic Acid. **J. Ethnopharmacol.**, 75 (2-3): 125-132.
- Başer, K. H. C., Özek, T., Tümen, G., Sezik, G. (1993) Composition of the Essential Oils of Turkish *Origanum* Species with Commercial Importance. **J. Essent. Oil. Res.**, 5(6): 619-623.
- Başer, K.H.C. (1993) Essential Oils of Anatolian Labiateae: A Profile **Acta Hortic.** 333: 217-237.
- Başer, K.H.C. (2000) DİE **Devlet İstatistik Enstitüsü**, İhracat Ruloları.
- Başer, K.H.C. (2001, Mayıs) Her Derde Deva Bir Bitki Kekik, **Bilim ve Teknik Dergisi**, 74-77.
- Baytop, A. (1991) Türkiye'de Kullanılan Yabani ve Yetiştirilmiş Aromatik Bitkiler. **J. of Pharmacy**, 1: 76-78.
- Baytop, A. (1983) Farmasötik Botanik, 4. İlaveli Baskı, **Dilek Matbaası**, İstanbul.
- Baytop, T. (1986) Farmokognozi Cilt II., **İstanbul Üniversitesi Yayınları**, no:3389, İstanbul.

- Baytop, T. (1999) Türkiye’de Bitkilerle Tedavi, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, *Nobel Yayınları*, İstanbul, s 253-255.
- Berk, A., (1953), Esanslar (Eterik Yağlar), *Hüsnütabiat Matbaası*, İstanbul.
- Beuchat, L. R. (1976) Sensitivity of *Vibrio parahaemolyticus* to Spices and Organic Acids. *J. Food Sci.*, 41: 899-902.
- Blomberg, J., Schoenmakers, P.J., Beens, J., Tijssen, R., U.A. Th, Brinkman (1997) Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography (GCxGC) and Its Applicability to the Characterization of Complex (Petrochemical) Mixtures. *J. High Resolut. Chromatogr.*, 20: 539-544.
- Bond, M.L., Bruno, M., Piozzi, F., Başer, K.H.C. ve Simmonds, M.S.J. (2000) Diversity and Antifeedant Activity of Diterpenes from Turkish Species of *Sideritis*. *Biochem. Syst. Ecol.*, 28 (4): 299-303
- Ceylan, A. (1997) Tıbbi Bitkiler, Uçucu Yağ Bitkileri, *Ege Üniversitesi Yayınları*.
- Davis, P. H., (1982) Flora of Turkey and East Aegean Islands, Vol 7, *Edinburg University Pres*, s.42.
- Davis, P. H., (1982) Flora of Turkey and East Aegean Islands, Vol:7, *Edinburg University Press*, Edinburg, s. 297-313.
- De Geus, H.J., Schelvis A., De Boer, J., Brinkman, U. A. Th (2000) Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography with a Rotating Thermal Desorption Modulator and Independently Temperature-Programmable Columns. *J. High Resolut. Chromatogr.*, 23 (3): 189-196.
- Farnworth, N. R. (1990) The Role of Ethnopharmacology in Drug Development. In Bioactive Compounds From Plants, *John Wiley&Sons*, CIBA Foundation Symposium 54., pp. 2-21. Chichester, New York, Brishbane, Toronto, Singapore:
- Guenther, E. (1972) The Essential Oils, Vol.1, Robert E. *Krieger Publishing Company*, Florida.
- Henden, E. (2000) Biyokimya Lisansüstü Yaz Okulu Ders Notları, Kimya Bölümü, *Ege Üniversitesi Yayınları*, İzmir.
- Hışıl, Y. (1994) Enstrümental Gıda Analizleri, Cilt II. *Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayını*, İzmir.

- Hışıl, Y., Çolakoğlu, M. (1984) Gaz-Sıvı Kromatografisinde Cam Kapiler Kolon Hazırlama Tekniği ve Gıda Analizlerinde Kullanılması, *Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi* B, 2,2: 1-11.
- Hışıl, Y., Nergis, C. (1989) PVC Şişeden Ayçiçek Yağına Geçen Vinil Klorür Monomeri (VCM) ile Toplam Geçen Madde Miktarlarının Araştırılması. *Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi*, B, 7,2:27-34.
- Hill, A.F. (1952) Economic Botany: A Textbook of Useful Plants Products, 2nd Ed., *Mc Graw Hill Book Company*, New York.
- İzgi, E. (1973) Genel ve Endüstriyel Farmasi, *Ayyıldız Matbaası*, Ankara.
- Kılıç, E., Köseoğlu, F. (1999) Analitik Kimya Temelleri, 2. Cilt, *Bilim Yayıncılık*, Ankara, 870 s.
- Manville, J.F., Fraser, T., Tracey, A.S. (1989) Characterization of Lasiocarponeol and Conformation of Four Sesquiterpenoids from Alpine fir. *Phytochemistry*, 28 (11): 3073-3080.
- Marino, M., Bersani, C. And Comi, G. (1999) Antimicrobial Activity of the Essential Oils of *Thymus vulgaris* L. Measured Using a Bioimpedometric Method. *J. Food Protect.*, 62: 1017-1023.
- Miller D.J., Hawthorne, S.B., (1998), Method for Determining the Solubilities of Hydrophobic Organics in Subcritical Water. *Anal. Chem.*, 70:1618-1621.
- Nacar, S., Ilcim, A. (2002) Composition of the Essential Oils of *Salvia vermicifolia* from Turkey. *Pharm. Biol.* 40 (1): 67-69.
- Nakipoğlu, M. (1989) Bazı Adaçayı (*Salvia*) Türleri ve Bu Türlerin Ekonomik Önemi. *Buca Eğitim Fakültesi, Fen Bil. Eğ. Bölümü*, İzmir.
- Nakipoğlu, M. ve Otan, H. (1992) Tıbbi Bitkilerin Flavonoidleri. *J. of AARI*, 4(1): 70-93.
- Oflaz, S. (2001) Ticari *Origanum* Türlerinin Farmakognozik Araştırması. Basılmamış Yüksek Lisans Tezi, *Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Eskişehir.
- Olivier, W.G. (1997). *The World Market of Oregano*, In: Padulosi, S (Ed), *Oregano Proceedings of the IPGRI International Workshop, IPGRI*, Rome, s 144.

- Ögütveren, M., Erdemgil, F. Z., Kürkçüoğlu, M., Özek, T., Başer, K. H. C. (1992) Composition of Essential Oil of *Origanum onites*, In: **Proceedings of the 8th National Symposium on Chemistry and Chemical Engineering**, Marmara Üniversitesi Pub. Vol:2 s. 119-124.
- Özcan A, Özcan A.S. (2004) Comparison of Supercritical Fluid and Soxhlet Extractions for the Quantification of Hydrocarbons from *Euphorbia macroclada*. **Talanta**, 64: 491-495.
- Özcan M., Tzakou, O., Couladis, M. (2003) Essential Oil Composition of Turkish Herbal Tea (*Salvia aucheri* Bentham var. *canescens* Boiss.&Heldr). **Flavour Frag. J.**, 18: 325-327.
- Özcan, M., Chalchat J.C., Akgül, A. (2001) Essential Oil Composition of Turkish Mountain Tea (*Sideritis* spp.) **Food Chem**, 75(4): 459-463.
- Özel, M.Z., Göğüs, F., Lewis A.C. (2003) Subcritical Water Extraction of Essential Oils from *Thymbra spicata*, **Food Chem.**, 82: 381-386.
- Özel, M. Z., Kaymaz, H. (2004) Superheated Water Extraction, Steam Distillation and Soxhlet Extraction of Essential Oils of *Origanum onites*, **Anal. Bioanal. Chem.**, 379: 1127-1133.
- Özhatay, N., Koyuncu, M., Atay S., Byfield, A. (1997) Türkiye'nin Doğal Tıbbi Bitkilerinin Ticareti Hakkında Bir Çalışma. **Doğal Hayatı Koruma Derneği**, İstanbul, s 9-11.
- Pandit, V. A., Shelef, L. A. (1994) Sensitivity of *Listeria Monocytogenes* to Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). **Food Microbiol.**, 11: 57-63.
- Principe, P. P. (1991) Valuing the Biodiversity of Medical Plants. In *Consevation of Medicinal Plants*. Eds. Akerele, O., Heywood, V. & Synge, H., pp. 79-124. Cambridge: **Cambrige University Press**.
- Rovio, S., Hartonen, K., Holm, Y., Hiltunen, R., Riekkola, M.L. (1999) Extraction of Clove Using Pressurized Hot Water. **Flavour Frag. J.**, 14: 399-404.
- Sarıgök, Ü. (1985) Endüstriyel Kimya, **İstanbul Teknik Üniversitesi Yayınları**, İstanbul.
- Sarıkaya, Y. (1997), Fizikokimya, **Gazi Büro Kitabevi**, 2. Baskı, Ankara.
- Savaya, V., Saeed, T., (1990) Detection of Park in Processed Meat: Experimental Comporison of Methodolgy. **Food Chem.**, 37: 201-219.

- Sezik, E., Ezer, N. (1983) Türkiye’de Halk İlacı ve Çay Olarak Kullanılan Bitkiler Üzerinde Morfolojik ve Anatomik Araştırmalar I *Sideritis congeste* Davis & Huber-Morath, ***Doğa Bilim Dergisi***, C. 163-168.
- Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A. (1998) Principles of Instrumental Analysis, ***Saunders College Publishing***, USA,849 s.
- Sivropoulou, A., Papanikolau, E., Nikolaou, C., Kokkini, S., Lanaras, T., and Arsenakis, M. (1996) Antimicrobial and Cytotoxic Activities of *Origanum* Essential Oils. ***J. Agr. Food Chem.***, 44: 1202-1205.
- Tabata, M., Honda, G., Sezik, E. (1993) A Report on Traditional Medicine and Medicinal Plants in Turkey. ***Kyoto University Faculty of Pharmaceutical Sciences***, Kyoto.
- Tan, A. (1992) Türkiye’de Bitkisel Çeşitlilik ve Bitki Genetik Kaynakları. ***J. of AARI***, 2: 50-64.
- Tanker, M., Tanker, N. (1976) Farmakognozi, Cilt II, ***Reman Matbaası***, İstanbul.
- Torres, M.E., Negueruella A.V., Alanso M.J.P., Pinilla M.G., (1997) Volatile Constituents of Two *Salvia* Species Grown Wild in Spain. ***J. Essent. Oil Res.***, 9:27-33
- Tassou, C., Koutsoumanis, K. and Nychas, G. J. E. (2000) Inhibition of *Salmonella enteridis* and *Staphylococcus aureus* in Nutrient Broth by Mint Essential Oil. ***Food Res. Int.***, 33: 273-280.
- Yeşilada, E., Ezer, N.(1989) The anti-Inflammatory Activity of Some Turkish *Sideritis* ssp. Growing in Turkey, ***Int. J. Crude Drug Res.*** 27 (1): 38-40.
- Zaika, L.L., Kissinger, J.C. (1981) Inhibitory and Stimulatory Effects of Oregano on *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus cerevisiae*. ***J. Food Sci.***, 46: 1205-1210.

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı** : Özkan  
**Soyadı** : KUTLULAR  
**Doğum Yeri** : GÖLCÜK  
**Doğum Tarihi** : 26.05.1982  
**Mezuniyet** : Pamukkale Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, Haziran 2004  
**Yabancı Dil** : İngilizce  
**Makale** :

Makale Adı	Gönderilen Dergi	Yılı	Cilt / sayfa
“Analysis of Essential Oils of <i>Origanum onites</i> by Superheated Water Extraction using GCxGC-TOF/MS.”	Talanta	2007	İncelemede