



T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



Primula veris subsp. *columnae* BİTKİSİNİN UÇUCU YAĞININ KİMYASAL
İÇERİĞİ, METANOL EKSTRAKTLARININ ELDESİ ve BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Çağrı KARAPINAR

HAZİRAN 2020
GÜMÜŞHANE

T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ORMANCILIK VE ÇEVRE BİLİMLERİ ANABİLİM DALI

Primula veris subsp. *columnae* BİTKİSİNİN UÇUCU YAĞININ KİMYASAL
İÇERİĞİ, METANOL EKSTRAKTLARININ ELDESİ ve BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Çağrı KARAPINAR

Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
“Ormancılık ve Çevre Bilimleri Anabilim Dalı”
Yüksek Lisans Programında Kabul Edilen Tezdir.

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 15/05/2020

Tezin Sözlü Savunma Tarihi: 10/06/2020

HAZİRAN 2020

TEZ BEYANNAMESİ

Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Ormancılık ve Çevre Bilimleri Anabilim Dalı'nda tezin yazımına ait kurallara uygun olarak hazırladığım“*Primula veris* subsp. *columnae* Bitkisinin Uçucu Yağının Kimyasal İçeriği, Metanol Ekstraktlarının eldesi ve Biyolojik Aktiviteleri” isimli yüksek lisans tezi çalışmasında; söz konusu tüm bilgi ve belgeleri genel akademik kurallara göre elde ettiğimi, görsel ve yazılı bütün bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak hazırlayıp sunduğumu, başka kaynaklardan yararlandığım bilgileri metin ve kaynaklarda eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma süresince bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksi durumda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 10/06/2020.

Çağrı KARAPINAR

ÖZET
YÜKSEK LİSANS TEZİ

***Primula veris* subsp. *columnae* BİTKİSİNİN UÇUCU YAĞININ KİMYASAL
İÇERİĞİ, METANOL EKSTRAKTLARININ ELDESİ ve BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİ**

Çağrı KARAPINAR

Gümüşhane Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Ormancılık ve Çevre Bilimleri Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Mehmet ÖZ

2020, 92 sayfa

Bu çalışma *Primula veris* subsp. *columnae* türünün uçucu yağ oranları, uçucu yağ bileşenlerinin belirlenmesi, metanol ekstraktlarının elde edilerek antioksidan, antifungal ve antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

Çalışma 2019 yılında, Gümüşhane ilinde doğal olarak yetişen *Primula veris* subsp. *columnae* bitkisinin çiçek ve yaprak uçucu yağları çıkartılarak ana bileşenleri ve yüzde oranları belirlenmiştir. Çiçek uçucu yağında en fazla bulunan ana bileşik Metil 4-methoksisalisilat (%37.30), yaprak uçucu yağında en fazla bulunan ana bileşik Linoleik asid (%40.08) elde edilmiştir. Çiçek ve yapraklarının metanol ile ekstraksiyonu sonucu yüzde olarak çiçekte ekstraktif madde %34.54, yaprakta ise %28.81 olarak elde edilmiştir. Metanol ekstraksiyonu sonucu *Primula veris* subsp. *columnae* bitkisi genel olarak

değerlendirildiğinde antioksidan özelliklerinin oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir. *Primula veris* subsp. *columnae* türünün çiçeklerin ve yaprakların uçucu yağları üzerinde yapılan antimikrobiyal aktivite testinde bunlardan sadece çiçek uçucu yağının zayıf inhibite özellik gösterdiği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal Aktivite, Antioksidan Aktivite, GC-MS, Odun Dışı Orman Ürünleri, Tutya(Çuha çiçeği), Uçucu yağ



ABSTRACT
MS THESIS

***Primula veris* subsp. *columnae* CHEMICAL CONTENT OF THE PLANT OIL OF
THE PLANT, OBTAINING OF METHANOL EXTRACTS AND BIOLOGICAL
ACTIVITIES**

Çağrı KARAPINAR

Gümüşhane University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Forestry and Environment Sciences

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Mehmet ÖZ

2020, 92 pages

This study was conducted to determine the essential oil ratios, and essential oil components, the production of methanol extracts and the antioxidant, antifungal and antimicrobial properties of these extracts of the *Primula veris* subsp. *columnae* species.

In this study, Flower and leaf essential oils of *Primula veris* subsp. *columnae* species grown naturally in Gümüşhane province, were removed. The main components and percentage rates of essential oils were determined. The main compound in the flower essential oil was Methyl 4-methoxysilicylate (37.30%) and the main compound in the leaf essential oil was Linoleic acid (40.08%). As a result methanol extraction of flowers and leaves, the amount of extractive substance in the flower was 34.54% and e in the leaf was 28.81%. When the *Primula veris* subsp. *columnae* plant is evaluated in general, it has been

determined that antioxidant properties are quite high. In antimicrobial and antifungal activity tests on the extract of the *Primula veris* subsp. *columnnae* species, it was found that only the essential oil of the flower showed weak inhibitory properties against *Escherichia coli* bacteria.

Keywords: Non-Wood Forest Products, Tutya (Primrose), Essential oil, GC-MS, Antimicrobial Activity, Antioxidant Activity.



TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Ormancılık ve Çevre Bilimleri Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır.

İlk olarak tez çalışmam sırasında her zaman kıymetli bilgi, birikim ve tecrübesiyle benden desteğini esirgemeyen ve değerli yorumları ile tezimi şekillendirmemde yardımcı olan Sayın Hocam Dr. Öğr. Üyesi Mehmet ÖZ' e, tez savunma sınavında yaptıkları değerli yorum ve katkıları için Sayın hocam Prof Dr. Selim ŞEN ve Sayın hocam Doç. Dr. Osman ÜÇÜNCÜ' ye, Laboratuvar çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Gıda Mühendisliği Bölümünden Sayın hocam Doç. Dr. Cemalettin BALTACI ile Arş. Gör. Şeyda Merve KARATAŞ' a ve Tür teşhisinde yardımcı olan Sayın hocam Doç. Dr. Mutlu GÜLTEPE' ye tezime katkılarından dolayı teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Tüm eğitim ve öğrenim yaşamım süresince büyük bir sabırla bana destek olan, gücünü ve imkânlarını hiçbir zaman esirgemeyen tüm ailem ve dostlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Çağrı KARAPINAR

Gümüşhane, 2020

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET	IV
ABSTRACT	VI
TEŞEKKÜR	VIII
İÇİNDEKİLER.....	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	XII
TABLolar DİZİNİ.....	XIII
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	XIV
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Odun Dışı Orman Ürünlerinin Önemi.....	2
1.3. <i>Primula veris</i> subsp. <i>columnae</i> : Tutya, Çuha çiçeği.....	2
1.4. Uçucu Yağlar.....	5
1.5. Uçucu Yağların Elde Edilme Yöntemleri	6
1.5.1. Destilasyon	6
1.5.2. Sıkma.....	6
1.5.3. Çözücü Ekstraksiyonu.....	7
1.5.4. Yağ Ekstraksiyonu(Anfloranj)	7
1.5.5. Karbondioksit Ekstraksiyonu	8
1.5.6. Hidrofüzyon/Süzme.....	8
1.6. Terpenler	8
1.7. Kromatografi	10
1.8. Antimikrobiyal Maddelerin Genel Özellikleri	12
1.9. Antioksidan Maddelerin Genel Özellikleri	12
1.10. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri.....	13
1.10.1. Serbest Radikal (DPPH) Süpürme Aktivitesi.....	14
1.10.2. Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Gücü (FRAP) Yöntemi	16
1.10.3. Toplam Fenolik Madde Analizi	16
1.10.4. Toplam Flavanoid Madde İçeriği.....	17
1.11. Antimikrobiyal Aktivite Tayin Yöntemleri.....	18

2.	YAPILAN ÇALIŞMALAR	20
2.1.	Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar	20
2.1.1.	Kullanılan Cihazlar.....	20
2.1.2.	Kullanılan Kimyasallar.....	21
2.2.	Materyal.....	21
2.3.	Metod.....	22
2.3.1.	<i>Primula veris</i> subsp. <i>Columnae</i> Örneklerinden Uçucu Yağlarının Elde Edilmesi.....	22
2.3.2.	GC-MS ile Uçucu Yağların Bileşenlerinin Analizi	25
2.3.3.	Metanol ile Ekstraksiyon	26
2.4.	Antioksidan Aktivite Tayini.....	28
2.4.1.	DPPH Serbest Radikal Temizleme Aktivitesi Tayini.....	28
2.4.2.	Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Gücü (FRAP) Tayini	30
2.4.3.	Toplam Fenolik Madde Tayini	31
2.4.4.	Toplam Antioksidan Madde Tayini.....	32
2.4.5.	Toplam Flavanoid Madde Tayini	33
2.5.	Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi.....	37
2.5.1.	Agar Difüzyon Yöntemi	37
2.5.1.1.	Mikroorganizmaların Hazırlanması	37
2.5.1.2.	Katı Besiyerinin Hazırlanması.....	37
2.5.1.3.	Ekim.....	38
2.5.2.	Disk Difüzyon Yöntemi.....	38
3.	BULGULAR VE TARTIŞMA	39
3.1.	<i>Primula veris</i> subsp. <i>columnae</i> (Tutya, Çuha çiçeği) Bitkisinin Çiçeğinden ve Yapraktan Elde Edilen Uçucu Yağ Miktarı	39
3.2.	<i>Primula veris</i> subsp. <i>columnae</i> (Tutya, Çuha çiçeği) Bitkisi Çiçek ve Yaprakının Metanol Ekstraksiyonu Sonucu Elde Edilen Ektraktif Madde Miktarı.....	40
3.3.	Antioksidan Aktivite Tayini Verileri	40
3.3.1.	DPPH Serbest Radikal Temizleme Aktivitesi Tayini Verileri	40
3.3.2.	Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Gücü (FRAP) Tayini Verileri.....	42
3.3.3.	Toplam Fenolik Madde Tayini Verileri.....	43
3.3.4.	Toplam Antioksidan Madde Tayini Verileri.....	45
3.3.5.	Toplam Flavanoid Madde Tayini Verileri	46

3.4.	<i>Primula veris</i> subsp. <i>columnnae</i> (Tutya, Çuha çiçeği) Bitkisinin Çiçek ve Yapraklarından Elde Edilen Uçucu Yağ Bileşenlerine Ait GC/MS ve GC/FID Analiz Sonuçları	47
3.4.1.	<i>Primula veris</i> subsp. <i>columnnae</i> (Tutya, Çuha çiçeği) Bitkisinin Çiçeklerinden Elde Edilen Uçucu Yağ Bileşenlerine Ait GC/MS ve GC/FID Analiz Sonuçları	48
3.4.2.	<i>Primula veris</i> subsp. <i>columnnae</i> (Tutya, Çuha çiçeği) Bitkisinin Yapraklarından Elde Edilen Uçucu Yağ Bileşenlerine Ait GC/MS ve GC/FID Analiz Sonuçları	54
3.5.	<i>Primula veris</i> subsp. <i>columnnae</i> (Tutya, Çuha çiçeği) Bitkisinin Yaprak ve Çiçeklerinden Elde Edilen Uçucu Yağ Miktarlarının Karşılaştırılması	58
3.6.	<i>Primula veris</i> subsp. <i>columnnae</i> (Tutya, Çuha çiçeği) Bitkisinin Çiçek ve Yapraklarından Elde Edilen Uçucu Yağ ve Metanol Ekstraktlarının Antimikrobiyal Test Sonuçları	63
3.7.	<i>Primula veris</i> subsp. <i>columnnae</i> (Tutya, Çuha çiçeği) Bitkisinin Çiçeklerinden ve Yapraklarından Elde Edilen Uçucu Yağlarda Yapısı Aydınlatılan Bileşiklerin Formülleri	66
4.	SONUÇLAR	83
5.	KAYNAKLAR	86
6.	EKLER	91
	ÖZGEÇMİŞ	

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1.1.	<i>Primula veris</i> subsp. <i>columnnae</i> : Tutya, Çuha çiçeği.....	3
Şekil 1.2.	<i>Primula veris</i> subsp. <i>columnnae</i> : Tutya, Çuha çiçeği.....	4
Şekil 1.3.	İzopren (2-metil-1,3-bütadien)' in Kimyasal Yapısı.....	9
Şekil 2.1.	<i>Primula veris</i> subsp. <i>columnnae</i> (Tutya, Çuha çiçeği) örnekleri.....	22
Şekil 2.2.	<i>Primula veris</i> subsp. <i>columnnae</i> (Tutya, Çuha çiçeği) öğütülmüş hali.....	23
Şekil 2.3.	Çalışmada kullanılan clevenger düzeneği.....	24
Şekil 2.4.	Toplanan uçucu yağların renkli şişelere (vial) konulması.....	24
Şekil 2.5.	Metanol eklenerek çalkalayıcıya konulan çiçek ve yaprak örnekleri.....	26
Şekil 2.6.	Filtreden süzülen çiçek ve yaprak örnekleri.....	27
Şekil 2.7.	Evaporatörde santrifüj işlemi.....	27
Şekil 2.8.	Metanolden elde edilen çiçek ve yaprak ekstraktları.....	28
Şekil 2.9.	Toplam DPPH serbest radikal temizleme kapasitesi (Askorbik Asit standartları).....	29
Şekil 2.10.	Toplam DPPH serbest radikal temizleme kapasitesi (Troloks standartları)	29
Şekil 2.11.	Toplam demir indirgeme antioksidan kapasitesi.....	31
Şekil 2.12.	Toplam fenolik madde miktarı için kullanılan gallik asit kalibrasyon grafiği.....	32
Şekil 2.13.	Toplam antioksidan madde analizi kalibrasyon eğrisi.....	33
Şekil 2.14.	Toplam flavanoid madde analizi kalibrasyon eğrisi.....	34
Şekil 2.15.	Antioksidan Aktivite analiz yöntem uygulama aşaması.....	35
Şekil 2.16.	Örneklerin antioksidan madde tayini için vortekslenmesi.....	35
Şekil 2.17.	Örneklerin antioksidan madde tayinine hazırlanmış durumu.....	36
Şekil 2.18.	A Örneklerin antioksidan madde tayini için spektrofotometrede absorbanslarının okunması.....	36
Ek Şekil 1.	<i>Primula Veris</i> subs. <i>columnnae</i> bitkisinin çiçeklerinin Gc Spektrumu.....	91
Ek Şekil 2.	<i>Primula Veris</i> subs. <i>columnnae</i> bitkisinin yapraklarının Gc Spektrumu.....	92

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Çalışmada kullanılan cihazlar listesi	20
Tablo 2.2. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler listesi	21
Tablo 2.3. <i>Primula veris</i> subsp. <i>columnae</i> (tutya, Çuha çiçeği) araştırmak için kullanılacak gc/ms koşulları	25
Tablo 3.1. <i>Primula veris</i> subsp. <i>columnae</i> yaprak metanol ekstraktı DPPH sonuçları	41
Tablo 3.2. <i>Primula veris</i> subsp. <i>columnae</i> çiçek metanol ekstraktı DPPH sonuçları	41
Tablo 3.3. <i>Primula veri</i> subsp. <i>columnae</i> çiçek ve yaprak metanol ekstraktı FRAP sonuçları	42
Tablo 3.4. <i>Primula veris</i> subsp. <i>columnae</i> çiçek ve yaprak metanol ekstraktı toplam fenolik madde sonuçları	44
Tablo 3.5. <i>Primula veris</i> subsp. <i>columnae</i> çiçek ve yaprak metanol ekstraktı toplam antioksidan madde sonuçları	45
Tablo 3.6. <i>Primula veris</i> subsp. <i>columnae</i> çiçek ve yaprak metanol ekstraktı toplam flavanoid madde sonuçları	46
Tablo 3.7. <i>Primula veris</i> subsp. <i>Columnae</i> (Tutya, Çuha çiçeği) bitkisinin çiçeklerinden elde edilen uçucu yağın gc/ms ve gc/fid analiz sonuçları	49
Tablo 3.8. <i>Primula veris</i> subsp. <i>columnae</i> (Tutya, Çuha çiçeği) bitkisinin yapraklarından elde edilen uçucu yağın GC/MS ve GC/FID analiz sonuçları.....	55
Tablo 3.9. Tutya, Çuha çiçeği (<i>Primula Veris</i> subsp. <i>columnae</i>) ait incelenen çiçek ve yaprak örneklerindeki uçucu yağ miktarları	58
Tablo 3.10. <i>Primula veris</i> subsp. <i>columnae</i> çiçeklerinde bulunan bileşiklerin kimyasal sınıflandırılması	60
Tablo 3.11. <i>Primula veris</i> subsp. <i>columnae</i> çiçek ve yapraklarından elde edilen uçucu yağın ve metanol ekstraktlarının antimikrobiyal testleri analiz sonuçları	65

SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

A.A.	: Askorbik Asit
ABTS	: 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolin-6-sülfonat)
CUPRAC	: Bakır(II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite
DPPH	: 1,1-difenil-2-pikril hidrazil
FCR	: Folin-Ciocalteu Reaktantı
FID	: Alev İyonizasyon Detektörü
FRAP	: Ferrik iyonu indirgeme antioksidan gücü
GSMH	: Gayri Safi Milli Hasıla
G	: Gram
GC-MS	: Gaz kromatografi-kütle spektrometrisi
GK,GC	: Gaz kromatografisi
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
İ	: İndermediate
MS,MS	: Kütle spektrometrisi-kütle spektrometrisi
Mg	: Miligram
Mm	: Milimetre
MİK	: Minimal İnhibitör Konsantrasyonu
MLK	: Minimal Letal Konsantrasyonu
ODOÜ	: Odun Dışı Orman Ürünleri
PcÇ	: <i>Primula Columnae</i> Çiçek
PcY	: <i>Primula Columnae</i> Yaprak
PNW	: Pasifik Güneybatı
ROS	: Reaktif Oksijen türlerinin
R	: Duyarsız
S	: Duyarlı
SK,LC	: Sıvı Kromatografisi
TEAC	: Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite
UV	: Ultraviyole
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Günümüzde ormanların gelir getirmekten başka çok çeşitli hizmet ve fonksiyonlarının olduğu, odundan başka ürünlerinin de bulunduğu ve bu ürünlerle ilgili talebin gittikçe arttığı, sadece ticari kazanımların haricinde özellikle başta orman köylüleri olmak üzere yerel ihtiyaçların karşılanması gerektiği, her geçen gün daha kuvvetli bir biçimde fark edilmektedir. Odun dışı bitkiler, orman köylüleri ve küçük orman sahipleri için önemli gelir kaynaklarıdır. Türkiye odun dışı orman ürünleri (ODOÜ) kapsamında diğer ülkelere göre çok zengin bir çeşitlilik ve üretim potansiyeline sahiptir. Ülkemizde 2016 yılında gerçekleşen odun dışı orman ürünleri üretimi yaklaşık 429 bin ton, bu üretimden üretim yapan köylünün kazancı 195 milyon TL ve ekonomimize katkısı ise yaklaşık 750 milyon TL olarak gerçekleşmiştir (İpek, 2017).

Ormancılık sadece kereste üretimi ve yakacak odun olarak ele alındığında Gayri Safi Milli Hasıladaki payı %0.5' dir. Ancak bu orana odun dışı orman ürünleri' nin sektöre eklenmesi sonucu bu oran %3'leri bulmaktadır. Zaten itibarı kaybolmuş orman işletmeciliği, hem de ormancılık mesleğinin kamuoyunda kabul edilebilirliği açısından bir değişim olabilir (URL-1, 2019).

Türkiye' de ODOÜ ürünlerin özellikle gelişmişlik düzeyi az olan bölgelerinde, gelir düzeyi, ürünü işleme, ekolojik turizm gibi alanlar bakımından dikkat çekmektedir. ODOÜ bazı yerlerde kırsal kesime, klasik ormancılık faaliyetleri ve hammadde üretimi bakımından daha fazla gelir sağlayabilmektedir. ODOÜ' nün sağladığı çok kapsamlı yararların önemi ve orman ürünlerinin kullanımı yönetiminde ve bu ürünlere yeterli ilginin gösterilmesi gibi konularda dünyada bilinçlenme ve ilginin son yıllarda artış göstermesi sonucunda, odun dışı orman ürünlerin dünya ülkelerinde veya bu ülkelerin bazı bölgelerinde odun hammaddeli ürünlerden daha fazla katkı sağladığı, bazı ülkelerde ise ithalatta önemli bir gelir kaynağı oluşturduğu görülmektedir (URL-1, 2019).

1.2. Odun Dışı Orman Ürünlerinin Önemi

İnsanoğlunun bitkilere olan ilgisi ilk çağlardan beri sürmektedir. Günümüze kadar yapılan arkeolojik çalışmalara göre insanlar, yiyecek ve sağlık problemlerini gidermek amacıyla bitkilerden çeşitli amaçlarla fayda sağlamışlardır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verileri dikkate alındığında dünya nüfusunun büyük bir kesimi (%70-80) korunma ve tedavi sebebiyle geleneksel tıp tan yararlanmıştır. Bu kapsamda yararlanılan tıbbi bitki türü yaklaşık olarak 70.000 kadar olduğu yapılan araştırmalardan anlaşılmaktadır (Başaran, 2012).

Ülkemizde Tıbbi Bitkilerin üretimini “Tarım Yaparak Üretilmiş olan Tıbbi Aromatik Bitkiler”, “Organik Tarım yaparak Üretilmiş Tıbbi Aromatik Bitkiler”, Doğadan Toplanarak Üretilmiş Tıbbi Aromatik Bitkiler şeklinde sınıflandırılabilir.

Doğadan toplanarak üretilmiş Tıbbi Aromatik Bitkiler, Tarım ve Orman Bakanlığının, Orman Genel Müdürlüğü bünyesinde “Odun Dışı Ürünler/Tali Ürünler” kapsamında programlanmaktadır. Üretim kapsamında bulunmayan ve üretim hususunda özel bir beceri ve teknik gerektirmeyen her türlü ormandan çıkarılan ürünler orman köylüsüne ve bu amaçla kurulan kooperatiflerine satılmaktadır. Kekik, defne, harnup, çiçek soğanları, ıhlamur, sumak vs. “Odun Dışı Ürünler/Tali Ürünler” kapsamında değerlendirilmiştir. Tıbbi aromatik bitkilerin ülke dışına yapılan ihracatından yaklaşık olarak yıllık 140 milyon dolar civarında bir gelir sağlanmaktadır. Türkiye defne, kekik, kimyon ve kebere gibi tıbbi aromatik bitkilerde önemli bir tedarikçi ülke konumunda olup en fazla geliri 56 milyon dolar civarında kekik, 32 milyon dolar civarında ise defne bitkisinden elde etmektedir (Kırıcı, 2015).

Alaska Orman Konseyi'nin yayınladığı rapor PNW-GTR-579 (2003)'e göre, ODOÜ ile ilgili bir çalışmanın başarıya ulaşabilmesi için, yerli halkın ormana bakış açısı, hayatlarında ormanın önemi, geleneksel bilgilerini paylaşmaları, ormandan faydalanma koşulları ve ormandan elde edilen ekonomik faydadan yararlanma şartları konularının büyük öneme sahip olduğunu arz etmektedir (Altunel, 2011).

1.3. *Primula veris* subsp. *columnae*: Tutya, Çuha çiçeği

Çuha çiçeği 10-50 cm boyunda, çiçekleri atın sarısı renğinde olup çiçeklerinin 8-12 tanesi bir arada, yaprakları ise tabanında rozet şeklinde toplanmış, çok yıllık otsu bir

bitkidir. Bilhassa sulak çayırlarda görülür. Bitki bileşiminde uçucu yağ, saponin glikozitleri ve flavon türevleri bulunmaktadır. Bitkinin çiçekleri terletici, balgam söktürücü ve yatıştırıcı etkiye sahiptir. Eskiden bilhassa göz hastalıklarına karşı kullanılmıştır. Taze yaprakları ise çıban tedavisinde kullanılmaktadır (Baytop, 1999).

Primula veris subsp. *columnae*' nin genel bir görünüşü Şekil 1.1'de, ülkemizdeki dağılımı ise Şekil 1.2'de, gösterilmiştir. Bitki Giresun, Gümüşhane, Rize, Trabzon illerinde doğal olarak yetişmektedir (URL-3, 2018).



Şekil 1.1. *Primula veris* subsp. *columnae*: Tutya, Çuha çiçeği

Primula cinsi hakkında literatürde birçok çalışma bulunmaktadır. Bunlardan bazıları şu şekildedir: Borisova ve Popov (2012) çalışmalarında *Primula officinalis* bitki kısımlarının flavonoidlerinin kalitatif kompozisyon ve kantitatif içeriğini araştırmışlardır (Borisova ve Popov, 2012).

Latypova vd. (2015) yaptıkları araştırmada *Primula veris* ve *Primulama crocalyx* bitkilerinin ursolik asit (anti-mikrobiyal, anti-tümör ve iltihap kurutucu özellikleri vardır) miktarlarını araştırmışlardır (Latypova vd., 2015).

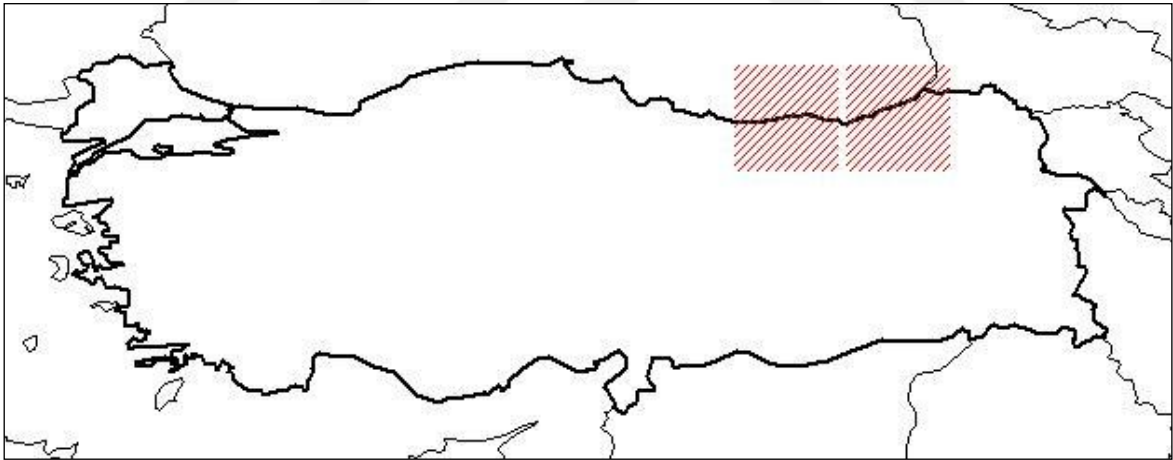
Meos vd. (2017) *Primula veris* L. çiçeklerinin C vitamini (askorbik asit) miktarını araştırmıştır (Meos vd., 2017).

Bdczek vd. (2017) çalışmalarında Polonya’da topladıkları *Primula veris* L. ve *Primula elatior* L. çiçek ve köklerinin fenolik bileşenlerini HPLC-DAD metodu ile araştırmışlardır (Bdczek vd., 2017).

Primula veris var. *columnae* ile ilgili tespit edilen çalışmada ise Vuko vd. (2017) Hırvatistan’da, 2011 yılında topladıkları *Primula veris* var. *columnae* yaprak, kök ve çiçeklerinin uçucu yağlarını elde edip GC-MS ile bileşenlerini tespit etmişlerdir (Vuko vd., 2017).

Özkan (2015) yüksek lisans tez çalışmasında Trabzon ilinden elde ettiği *Primula vulgaris* subsp. *vulgaris* ve *Primula vulgaris* subsp. *sibthorpii* türlerinin ekstraktlarının HPLC ile karakterizasyonu ve biyolojik aktivitesi incelenmiştir (Özkan, 2015).

Güneş (2016) yüksek lisans tez çalışmasında Giresun ilinden topladığı *Primula vulgaris* subsp. *sibthorpii* bitkisinin çiçek ve yaprak kısımlarından destilasyon ve ekstraksiyon ile elde edilen esansiyel yağ ve kloroform ekstraktlarının kimyasal bileşen analizi gerçekleştirmiştir (Güneş, 2016).



Şekil 1.2. *Primula veris* subsp. *columnae*: Tutya, Çuha çiçeği

Çalışmanın amacı sonunda, Gümüşhane ilinde doğal olarak yetişen Tutya bitkisinden elde edilecek uçucu yağların kimyasal bileşimi ortaya koyulacak, bu uçucu yağların ve metanol ekstraktlarının potansiyel biyolojik aktif antioksidan ve antimikrobiyal etkileri araştırılmış olacaktır.

1.4. Uçucu Yağlar

Esansiyel ve eterik yağlar olarak da adlandırılan, ağaç ve bitkilerden elde edilen hoş kokulu, suda çözünmeyen hafif ve yoğunlukları 0,8-1,3 olan açıkta bırakıldığında buharlaşan yağsı sıvılardır. Doğada yetişen bu doğal ürünler biyolojik aktivitelerinin dışında tıbbi ve kozmetik amaçlı olarak da geniş bir kullanım alanına sahiptir.

Uçucu yağları bünyesinde bulunduran tıbbi aromatik bitkilerin doğal olarak kullanımının insanlığın varoluş süreci kadar eski olduğu bilinmektedir. Uçucu yağlarda günümüze kadar 2000' in üzerinde kimyasal bileşik varlığı olduğu ve bunların içerisinde önemli olarak alkoller, terpenler, aldehitler, esterler ve kumarinler olduğu bilinmektedir.

Uçucu yağlar su buharında, çok fazla miktarda uçucu özelliği bulunan kükürt ve azot içeren bileşiklerin olduğu da görülmüştür. Bu bileşikler uçucu yağlara antispazmodik, antivirütik, antiseptik, aneljezik, antioksidik, ekspektoran, bakterisid, diüretik, antidepresan sedatif, tonik, tansiyon dengeleyici gibi çok fazla etkiler de kazandırmaktadır. Değişik bitkiler kullanılarak üretilen esansiyel ve eterik yağların antioksidan ve antimikrobiyal etkilerinin olduğu bilinmektedir.

Bitkilerin çiçek, meyve, taç, yaprak, kabuk, reçine ve odunsu dokunun bulunduğu bitkinin tüm organlarında veya belirli dokularında da bulunabilirler. Uçucu yağları kimyasal bileşimi ve miktarları üretim yapılan bitkilerin cinsine, türüne, yetiştirme ortamına ve iklim özelliklerine göre değişkenlik gösterebilir.

Literatürde, bitkilerden elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimlerinin belirlenmesi ve bu yağların antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi üzerine pek çok çalışma mevcuttur (Üçüncü, 2010).

Uçucu yağların elde edilmesinde bitkilerin kullanılan kısmına, hassasiyetine, içerdikleri uçucu yağ miktarına ve cinslerine göre farklı üretim yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemler destilasyon, sıkma, çözücü ekstraksiyonu, yağ ekstraksiyonu (Anfloranj), karbondioksit ekstraksiyonu ve hidrodifüzyon/süzme teknikleri kullanılmaktadır.

Uçucu yağların antioksidan özelliklerinin belirlenmesinde TEAC Troloks / ABTS Yöntemi, CUPRAC Yöntemi, FRAP Yöntemi, DPPH Yöntemi ve toplam fenolik madde tayini yöntemleri kullanılabilir (Sanchez vd., 1999).

1.5. Uçucu Yağların Elde Edilme Yöntemleri

Uçucu yağlar genellikle su buharı destilasyonu veya farklı ekstaksiyon yöntemleri kullanılarak elde edilirler. Bitkilerden elde edilecek uçucu yağlar genellikle çeşitli damıtma yöntemleri ile elde edilirler. Bitkiler bu işlemlerin neticesinde organik yapılarından ve biyolojik etkilerinden de hiç bir şey kaybetmezler.

Ancak bu bitkilerin kullanılan kısmına, hassasiyetlerine, içerdikleri uçucu yağ miktarına ve cinsine göre farklı üretim yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemler şunlardır: (Toroğlu, 2006; Çenet,2006).

- ✓ Destilasyon
- ✓ Sıkma
- ✓ Çözücü Ekstraksiyonu
- ✓ Yağ Ekstraksiyonu (Anfloranj)
- ✓ Karbondioksit Ekstraksiyonu
- ✓ Hidrodifüzyon / Süzme

1.5.1. Destilasyon

Uçucu yağ eldesinde en ekonomik ve en çok kullanılan yöntem destilasyon yöntemidir. Bazı bitkilere toplandıktan hemen sonra bazılarına ise kurutulduktan sonra destilasyon uygulanır. Destilasyonda temel olan ısı ve buhar, bitki materyalinin hücre yapısının parçalanmasına neden olur ve uçucu yağlar serbest kalarak su buharı ile birlikte soğutucuya sürüklenir. Buradaki yoğunlaşmanın ardından sudan hafif olan uçucu yağlar su yüzeyinde ağır olanlar ise su tabakasının altında toplanır (Öztürk, 2015).

1.5.2. Sıkma

Bu metod özellikle bergamot, limon, greyfurt, mandalina ve portakal gibi turunçgil yağlarının eldesinde kullanılır. Çünkü bu yağların çoğu destilasyon yönteminde bozunmaya uğrar. Ayrıca bu bitkilerdeki yağların kabuk üzerindeki keseciklerde bulunması, yöntemin kolay uygulanmasına neden olur. Bu üretim yönteminde meyve, üzeri keskin, çıkıntılı bir kesenin iç çeperinde yuvarlanır, uçucu yağ ile dolu olan salgı

cepleri böylece parçalanmış olur. Bunun ardından meyve üzerine basınç uygulanarak sıkılır ve elde edilen sıvının üzerindeki uçucu yağlar toplanır (Öztürk, 2015).

1.5.3. Çözücü Ekstraksiyonu

Bu üretim yönteminde fazla verim istenildiği takdirde veya diğer üretim yöntemleri ile uygun üretim gerçekleştirilemediğinde kullanılır. Üretim için kullanılan bitki hegzan veya benzen gibi bir karbon içeren organik çözücü ile soksilet prensibine göre (organik çözücünün hafifçe ısıtılarak devamlı şekilde bitkinin üzerinden geçirilmesi) ekstrakte edilir. Böylece sabit yağ, uçucu yağ, mum, boya maddesi vb. gibi, karbon içeren organik çözücülerde çözünen maddeler organik çözücü bünyesine geçer. İşlem sonucunda süzülerek elde edilen organik çözücü vakumla tamamen uçurulur. Sabit yağ ve mumları da bünyesinde taşıyan bu renkli madde eğer taze bir materyalden üretilmiş ise 'konkret', kurutulmuş bir materyalden üretilmiş ise 'rezinoit' adı olarak literatürde verilmektedir. Üretimi tamamlanmış olan konkret ya da rezinoit uçucu yağın yanı sıra kokulu olmayan maddeleri de bünyesinde içermektedir. Uçucu yağ, etanol veya sulu etanol ile çözülerek alınır. -15 °C de belirli bir süre, yaklaşık olarak bir gece bekletilir. Dibe çöken kısımlar ayrıldıktan sonra, çözücü vakum ile uçurularak uçucu yağları elde edilir (Öztürk, 2015).

1.5.4. Yağ Ekstraksiyonu(Anfloranj)

Çok zaman alması ve pahalı olması nedeniyle günümüzde çok fazla kullanılmayan bu üretim yöntemi, bitki materyalindeki uçucu yağı az ve kıymetli olan bitkiler için kullanılmaktadır ve genellikle üretim yönteminde taze olan materyaller ile çalışılmaktadır. Özellikle taze materyalde çiçekler, soğuk bir yağ ile kaplanmış cam plaketer üzerine konur ve bu yağ bitkinin uçucu yağlarını absorblar. Birkaç saat veya gün sonra konulan bitki yenisiyle değiştirilir ve bu işleme yağ doyana kadar devam edilir. Cam plaket üzerine sürülmüş olan yağdan, alkol ekstraksiyonu ile uçucu yağ elde edilir. Bu yöntem parfümeride çok önemli olan, fakat bitkideki oranı düşük olan uçucu yağların elde edilmesinde ekonomik olabilmektedir (Öztürk, 2015).

1.5.5. Karbondioksit Ekstraksiyonu

Bu yöntem 1980' lerde parfüm endüstrisi için geliştirilmiştir. Kullanılan ekipmanlardan dolayı oldukça pahalı bir yöntemdir. Yöntemde soğutulan karbondioksit basınç uygulanarak sıvı hale getirilir ve bitkiden uçucu yağı ekstrakte edecek bir çözücü gibi kullanılır. Basınç kaldırıldığında karbondioksit buharlaşır ve geriye oldukça saf bir şekilde uçucu yağ kalır. Karbondioksit tarafından ekstrakte edilen uçucu yağlar bitkide bulunduğu şekline oldukça yakın bir saflıkta elde edilir (Öztürk, 2015).

1.5.6. Hidrofüzyon/Süzme

Hidrofüzyon veya süzme yöntemi, ekstraksiyonun daha modern bir şekli olup destilasyondan daha hızlıdır. Yöntemde, ızgara üzerine asılan bitki kısımları üzerinden spreyleme şeklinde buhar geçirilir. Buhar ve uçucu yağdan oluşan karışım soğutulur ve elde edilen sıvıdan destilasyondaki gibi uçucu yağ ayrılır (Öztürk, 2015).

1.6. Terpenler

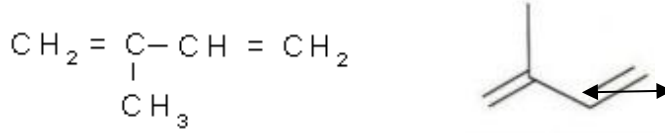
Terpenler, bitkilerde bulunan bileşiklerin bir grubunu oluşturur. Bitkilerden elde edilen kokulu bileşiklere "uçucu yağlar" denir (Chiron, Chalchat, Garry, 1997).

Organik kimyanın ilk zamanlarından beri uçucu yağlar özellikle terpenler, kimyacıların dikkatini çekmiştir. Uçucu yağların birçoğunun $C_{10}H_{16}$ doymamış hidrokarbon yapısında oldukları ve bu bileşiklerde karbon-hidrojen atom oranlarının 5:8 olduğu tespit edilmiştir. Bileşiminde karbon-hidrojen oranı 5:8 olan bu bileşiklere daha sonra terpenler adı verilmiştir. Bu isimlendirme etimolojik olarak turpentin ve alken kelimeleriyle ilgilidir (turpentine=neft yağı) (Öztürk, 2015).

Daha sonra terpenlerin izopren iskelet birimlerinin baş-kuyruk bağlanmasıyla oluştuğu keşfedilmiştir (Baş metil dalına daha yakın olan uçtur). Bu nedenle sonraları izopren iskelet birimi içeren bütün bileşiklere terpenler adı verilmiştir. İzopren birimi içeren, terpenlere benzer tabii olarak oluşan bileşiklere terpenoidler denir (Fesenden, 2001; Logue, 2001).

Bu bileşikler bazen izoprenoid olarak da adlandırılır. Terpenler iki, üç ya da daha fazla izopren birimi içerebilir. Molekülleri bakımından açık zincir veya halkalı olabilir.

Çift bağlar, hidroksil grupları, karbonil grupları ya da daha başka işlevsel grupları taşıyabilirler. Terpenler içerdikleri izopren birimlerinin sayısına göre sınıflandırılırlar. İzopren (2-metil-1,3-bütadien) formülü Şekil 1.3’de gösterilmiştir.



Şekil 1.3. İzopren (2-metil-1,3-bütadien)’ in Kimyasal Yapısı

- ✓ Monoterpenler : 10 karbon içeren iki izopren birimi
- ✓ Seskiterpenler : 15 karbon içeren üç izopren birimi
- ✓ Diterpenler : 20 karbon içeren dört izopren birimi
- ✓ Triterpenler : 30 karbon içeren altı izopren birimi
- ✓ Tetraterpenler : 40 karbon içeren sekiz izopren birimi

Belirli bitkilerden (yapraklarından, çiçeklerinden ve meyvelerinden) elde edilen temel yağların (essential oils) ana bileşeni basit mono- ve seski-terpenlerdir. Kompleks olmaları, kolayca temin edilebilmeleri sebebiyle bu doğal oluşumlu monoterpenler 19.YY’ın ortalarından beri kimyacıların ilgisini çekmiştir. Bu konuda ilk çalışmalar, bu moleküllerde kolaylıkla meydana gelen düzenlenmeler nedeniyle güçlüklerle karşılaşmıştır (Öztürk, 2015).

Bitkilerden elde edilen uçucu yağlar ve onların temel bileşeni olan terpenler, çeşitli alanlarda oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu alanlar başlıca; tıpta tedavi amaçlı, parfümeri, uyuşturucu maddeler, yapışkanlar gibi sıralanabilir. Bunun ötesinde bu bileşikler, özellikle sentetik kimyada kullanılan kimyasallara karşı ilgi ile bakılan ve bu yüzyılın sonuna doğru ilgi çekici hale gelen doğal ürünlerin en önemlilerindedir. Bu açıdan bakıldığında terpenler ve türevleri veya bitkilerden elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal özelliklerinin potansiyel uygulamaları yönünden belirgin yükselişi oldukça dikkat çekicidir.

Terpenlerden sonra, aromatik maddeler uçucu yağlarda bulunan önemli bir bileşik grubudur. Propilbenzen, benzen veya p-simen bileşik yapısında olabilirler. Alkol, asit,

ester, keton, aldehit, eter ve fenol gibi organik fonksiyonel grupları taşıyabilirler. Koku ve tat açısından uçucu yağların en önemli bazı belirgin fizyolojik etkilere sahip olan kısmını oluştururlar.

Farmakolojik etkilerde sahip olan uçucu yağlar bu etkilere göre gruplandırılırlar. Bunlar öksürük kesici, antiromatizmal, idrar söktürücü, dezenfektan, iltihap azaltan vs. gibi gruplandırmaya da tabi tutulurlar (Ceylan, 1987).

1.7. Kromatografi

Kromatografi, bir karışımda bulunan bileşenlerin sabit yüzeylerdeki tutunma hızlarından yararlanarak birbirinden ayrılmasını sağlayan ve bu sayede kalitatif ve kantitatif analizlerin yapıldığı yöntemlere denir. Yöntemde çalışma düzeneği, hareketli faz(mobil faz) ve sabit faz adı verilen iki bileşenden oluşmaktadır. Mobil fazın içerisinde bulunan bileşenler, sabit fazın da dolgu maddesiyle etkileşmesi sebebiyle, bir miktar tutunma gerçekleştirirler. Bu tutunma, örnekte bulunan farklı bileşenler için yine farklı miktarlarda olduğundan sabit fazın sonlarına doğru bileşenler farklı hızlarda ilerlerler ve sabit fazı farklı zamanlarda terk ederek birbirinden ayrılmış olurlar.

Kromatografide sabit faz, bir katı veya bir katı yüzeyine kaplanmış bir sıvı faz şeklindedir. Sabit fazın üzerinden akan hareketli faz ise bir gaz veya sıvı olabilir. Eğer hareketli faz sıvı ise bu kromatografi türüne sıvı kromatografisi (SK, LC); hareketli faz gaz ise bu kromatografi türüne de gaz kromatografisi (GK, GC) denilmektedir. Gaz kromatografisi; gaz, uçucu sıvı ve katı karışımlar için uygulanan bir yöntemdir. Sıvı kromatografisi ise bilhassa uçucu olmayan ve ısıl kararsız numuneler için kullanılmaktadır. Amaca göre birçok değişik kromatografik yöntemler bulunmaktadır.

Adsorpsiyon kromatografisi, dağılma kromatografisi, ince tabaka kromatografisi, gaz kromatografisi, kağıt kromatografisi, iyon kromatografisi, yüksek performans kromatografisi bunlara örnektir. Dağılma kromatografisinde analizi yapılan maddelerin, sabit faz tabakasında ilerlemekte olan hareketli fazın etkisiyle sürüklenmesi söz konusudur. Genellikle sabit faz silika jel, hareketli faz ise organik çözücülerden oluşmuş bir çözelti şeklindedir.

İnce tabaka kromatografisinde sabit fazı bir plaka üzerine yayılmış ince silika jel tabakası bulunur. Bu tabakaya damla mertebesinde emdirilen çözeltideki bileşenlerin hareketli faz olarak uygun bir çözücü veya çözücüler karışımı kullanılarak plaka

üzerindeki sabit fazda ayrı ayrı yerlerde toplanması sağlanır. Kağıt kromatografisi ince tabaka kromatografisine benzer. Her iki metotta çok az miktarda maddeleri ayırmak için kullanılmaktadır. Yüksek performans ve iyon kromatografileri de ayırma amacıyla geliştirilmiş olan kromatografi yöntemlerindedir (Öz, 2016).

Gaz kromatografisinde uçucu veya kolaylıkla uçucu hale getirilen bileşenler birbirlerinden ayrılır. Bu kromatografide hareketli faz olarak, helyum, azot, argon gibi inert gazlar kullanılır. Örnekte bulunan bileşenler bir cihazla spektrum haline getirilir daha sonra bu spektrumda bulunan her pik ayrı bir bileşeni vermektedir. GC yönteminde uygulanan karışımın çok küçük bir miktarını analiz etme imkanı bulunmaktadır. Kullanılan yöntemde uygulama, çoğu zaman numunenin seyreltik olan çözeltisinin 0.001 mL (1 µL)'lik veya daha az bir miktarın bir şırıngayla ya da otomatik olarak gaz kromatografisi cihazının ısıtılan kısmına verilmesiyle analiz başlar.

Kullanılan örnek, enjeksiyon kısmında buharlaşır ve inert bir gazla kapiler kolona taşınır. Tipik bir kapiler kolon, 10-30 m boyunda ve çapı 0.1 mm ile 0.5 mm arasında değişen ince bir boru şeklindedir ve sıcaklığı analiz edilecek örneğin uçuculuğuna göre ayarlanabilen bir bölümün (fırının) içerisine konulmuştur. Kolonun iç yüzeyi, genel olarak polar olmayan bir sabit fazla kaplanmaktadır. Sabit faz olarak, yüksek kaynama derecesine sahip silikon esaslı polimerler kullanılır. Karışımdaki moleküller, inert gaz tarafından kolon boyunca sürüklenerek bu sırada kaynama derecelerine ve sabit faza olan ilgilerine göre kolon içinde değişik hızlarla hareket ederler. Kaynama derecesi ve sabit faza ilgisi fazla olan moleküller kolonu daha uzun sürede geçerken, kaynama derecesi düşük ve polar olmayan moleküller kolonu çok daha çabuk terk ederler ve her bileşenin kolonu geçme süresine “Alınma zamanı” denilmektedir.

Gaz kromatografi-kütle spektrometrisi (GC-MS) tekniğinde gaz kromatografından çıkan gaz bir kütle spektrometresinden geçerek her pikin kütle spektrumunun alınması sağlanır. Böylece gaz kromatografisi karışımı ayırmada; kütle spektrometrisi ise onu analiz etmede kullanılmaktadır.

Gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi çok güçlü analitik bir yöntemdir. Bu teknik steroidler, uyarıcılar ve diğer güç artırıcılar sporcuların test edilmesi için en çok bilinen uygulama yöntemlerindedir.

İçme sularındaki halojenli hidrokarbonların belirlenmesi ve ölçülmesi gibi rutin analizlerde de Gaz kromatografi-kütle spektrometrisi tekniği kullanılmaktadır. Besin

maddeleri, su kirliliği, hava kirliliği, nefeste bulunan bileşenler gibi karışım içinde bulunan bileşenlerin belirlenmesinde de yöntem kullanılır.

Sıvı karışımlar için ise sıvı kromatografisi aleti kütle spektrometresinin girişine bağlı olan LC-MS tekniği kullanılmaktadır. GC-MS ve LC-MS teknikleri, kromatografik ayırma ile kütle spektrometrisi yoluyla belirleme analitik yöntemlerini bir araya getirir ve bu alanda kullanılan tek yöntem değildir. Kütle spektrometrisi-kütle spektrometrisi (MS-MS) de bu tekniklerden biridir. Teknik bir kütle spektrometresi karışımdaki bileşiklerin moleküler iyonlarını oluşturup birbirinden ayırırken diğer kütle spektrometresi bu iyonların parçalanma şekillerini incelemek prensibi ile çalışmaktadır (Öz, 2016).

1.8. Antimikrobiyal Maddelerin Genel Özellikleri

Antimikrobiyal maddeler mikroorganizmalar üzerinde çeşitli etkilere sahiptirler. Bu etkiler mikroorganizma cins sayısına bağlı olarak iki şekilde sınıflandırılır. Birincisi mikroorganizma sayısının az olduğu dar spektrumlu hal ve diğeri ise mikroorganizma sayısının çok olduğu geniş spektrumlu haldir. Dar spektrumlu antimikrobiyal maddeler enfeksiyona yol açan mikroorganizma üzerine oldukça etkili olup, tedavi için ideal oldukları kabul edilir.

Geniş spektrumlu antimikrobiyal maddeler ise canlının doğal bağışıklığında önemli rol oynayan ve ekolojik dengeyi sağlayan normal mikroorganizma doğasını bozarlar. Bununla birlikte, geniş spektrumlu antimikrobiyal maddeler (karbapenemler, kinolonlar vs.), birden çok patojenin birlikte meydana getirdiği enfeksiyonlarda ve mikrobiyoloji laboratuvarı sonuçlarının beklenemeyeceği acil durumlarda kullanılırlar.

Antimikrobiyal etkilerin belirlenmesinde ise agar difüzyon yöntemi ve MIC yöntemleri kullanılmaktadır (Sağdıç, 2002).

1.9. Antioksidan Maddelerin Genel Özellikleri

Antioksidanlar vücut hücreleri tarafından üretilmesinin yanı sıra gıdalar vasıtasıyla da alınabilmektedir. İnsan vücudunu zararlı serbest radikallerden koruyan ve gıdalarda mevcut bulunan doğal antioksidanlar, esas olarak vitaminler (A, C ve E vitaminleri), Polifenoller, flavonoidler ve karotenoidlerdir. Yapılmış olan araştırmalarda sebze ve meyve tüketimi ile bazı kalp ve kanser hastalıklarının oluşumu arasında ters orantılı bir

ilişki olduğu saptanmıştır (Nacak, 2014).

Antioksidanlar; serbest radikallere, kansere, diyabete, vücudun direncini kırmaya çalışan hastalıklara, nörolojik hastalıklara, yaşlılık ve diğer hastalıklara karşı olan iyileştirici, önleyici ve tedavi edici rolleri bulunan bileşiklerdir (Öz,2016).

En önemli antioksidanlar polifenoller grubu ve türevleridir. Oksidatif sistemde bu bileşikler farklı şekillerde davranabilirler. Zincir reaksiyonlarının başlamasını, hidroksil radikalleri gibi birincil radikalleri tutma özelliğini kullanarak önlerler. Metal iyonu katalizörlerini bağlarlar (Nacak, 2014).

Yükseltgenebilen maddeler olan antioksidanlar zincir reaksiyonlarını (örneğin lipidlerin oksidatif parçalanmasına yol açan radikalik zincir reaksiyonunu) koparmaları esnasında yükseltgenerek bozunurlar. Bu sebeple yükseltgenebilen antioksidanlar maddeyi (örneğin biyolojik makro molekülleri) yalnızca kısıtlı bir zaman dilimi koruyabilir, belli bir aşamadan sonra ortamda bulunan madde hiç antioksidan yokmuş gibi yükseltgenmeyi devam ettirir. Antioksidanların kimyasal aktiviteleri, diğer bir söyleyişle, elektron veya hidrojen donör araçları olarak indirgeme kapasiteleri genellikle onların serbest radikal tutucu olarak göstermiş oldukları kapasite ile ifade edilir (Erciyes, 2014).

Hastalıklara sebebiyet verdiği düşünülen serbest radikallerin ve Reaktif Oksijen türlerinin (ROS) oksidatif zararına karşı antioksidanlar çok önemli bir görev üstlenmişlerdir.

Radikallerin zararlı etkisinden korunabilmek için canlıların sahip oldukları enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar vardır. Endojen yani organizma tarafından üretilen antioksidanlar adı da verilen bu bileşenler sınırlı bir koruma sunmaktadırlar. Bu sebepten dolayı vücudumuzdaki bu korumayı arttırmak için eksojen yani dışarıdan alınan antioksidanları almamız gerekmektedir. Antioksidanlar kısaca vücudumuzda üretilenler ve besinlerden alınanlar olmak üzere iki iki kısma ayrılmaktadır (Öz, 2016).

1.10. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

Serbest radikal oluşumunu engelleyici veya mevcut olan serbest radikalleri etkisiz hale getirci özelliğe sahip her türlü bileşik antioksidan olarak adlandırılır. Bitkisel veya doğal kaynakların antioksidan özellikleri üretmiş oldukları sekonder metabolit ajanlardan ileri geldiğinden bu ajanların yapılarını aydınlatmak çoğu zaman mümkün olamamaktadır.

İnce tabaka, kolon, gaz ve likid kromatografi yöntemleri gibi analitik ayırma yöntemleri bilimsel araştırmalarda sıklıkla kullanılmaktadır.

Antioksidanlarla alakalı bilimsel makaleler araştırılıp incelendiğinde bazı araştırmacılar tarafından antioksidan kapasiteyi anlatmak amacıyla farklı terimlerin tercih edildiği görülür. Bu kapsamda kullanılan terimler “güç”, “etkinlik”, “potens” , “potansiyel”, “parametre” veya total antioksidan “kapasite” ve “aktivite” dir. Bir kimyasalın “aktivitesi” sıcaklık, basınç, diğer reaktifler, reaksiyonun gerçekteştiği ortam, gibi spesifik olan reaksiyonun koşulları belirtilmediği sürece anlamsızdır. Yapılan tek bir analiz yöntemi ile ölçülen “antioksidan aktivite” uygulanan yöntemde spesifik koşullardaki kimyasal reaktiviteyi yansıttığından verileri “total antioksidan aktivitenin” göstergesi olarak genellemek uygun olmayıp, yanıltıcı olabilmektedir. Bu sebeple “aktivite” terimi değil de farklı deneylerde alınan sonuçları “kapasite” olarak gösterilmesi önerilmektedir. Ya da “peroksil radikal süpürücü kapasite”, “süperoksit süpürücü kapasite”, “demir iyonu indirgeme kapasitesi” gibi ölçüm yöntemlerini daha spesifik olarak gösteren terimlerin kullanılması da önerilmektedir (Nacak, 2014).

Doğal ürünlerin antioksidan aktiviteleri onların içerdikleri fenolik bileşiklerin miktarına ve cinsine bağlı olarak değişim gösterirler. Bu bileşikler oluşan bir radikali temizleyici (scavenging), hidrojen verici, singlet oksijen yakalayıcı, metal iyonu şelatlayıcı gibi farklı mekanizmalar üzerinden aktivite gösterirler (Çalışkol, 2013).

Antioksidan maddeler etkinliklerini çoğu zaman redoks reaksiyonları üzerinden gerçekteştirirler. Antioksidan kapasitenin ölçülmesinde hidrojen atomu transferi ve elektron transferine dayanan yöntemler sıklıkla kullanılırlar (Öz, 2016).

Antioksidan kapasitenin ölçülmesi için literatürde yirmiden fazla yöntem belirtilmiştir. Antioksidan kapasitelerinin tayini söz konusu olduğunda bitkiler için literatürde bulunan sonuçlar net bir şekilde göstermektedir ki uygulanmış olan tayin yöntemine son derece bağımlıdır ve gözlemlenen antioksidan aktivite (veya kapasite) ile bitki ekstraktlarının toplam fenolik madde içeriği arasında tam bir korelasyon gözlenmeyebilir (Ardağ, 2008).

1.10.1. Serbest Radikal (DPPH) Süpürme Aktivitesi

Ticari olarak üretilen DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) stabil organik azot radikalidir. DPPH serbest radikale antioksidan tarafından proton transferi reaksiyonu 517

nm'de absorbansın düşmesine neden olur. Kullanılan yöntemde, antioksidan molekülün boyutu ve yapısını test sonucu etkilemektedir (Özkan, 2015).

Kullanılan metotta farklı örnek derişimleri ile reaksiyona giren DPPH'in absorbansındaki değişim ölçülerek derişimine karşılık gelen absorbans grafiği çizilir. Çizilen grafikten elde edilen $y=ax+b$ eğim denkleminde DPPH derişimini yarıya düşüren numune miktarı $\mu\text{g/mL}$ cinsinden belirlenmekte ve etkin konsantrasyon 50 (EC50) değeri olarak gösterilmektedir. Başlangıçta gösterilen DPPH konsantrasyonunun %50 azalmış olması için kullanılan antioksidan miktarı EC50 değeri olarak ifade edilmektedir. Kullanılan bu yönteminin avantajları: DPPH' in hızlı ve basit sonuç veren bir yöntem olmasıdır(Nacak, 2014).

Doğru ve tekrarlanabilir sonuçlar vermesinin yanı sıra yalnızca UV spektrofotometresine ihtiyaç duyması da önemli bir etkidir. Çok sayıda numune analizi yapılması gereken durumunda mikrolpaka kullanılabilir (Fukumoto ve Mazza, 2000).

Avantajlı olmayan yönleri ise: DPPH sadece alkol ortamında çözünebilir, sulu ortamda çözünmez. Bu da hidrofilik antioksidanların kapasitelerinin değerlendirilmesi aşamasında önemli bir sınırlamadır. Fenolik bileşiklerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerini ölçmek ve karşılaştırmak için yaygın olarak kullanılan yöntemdir. Ancak; yapılan ölçümlerde ışığın da etkisi göz ardı edilmemelidir. Aseton ve metanol içindeki DPPH çözeltilisinin 517 nm'deki absorbansı 2 saatlik süre boyunca ışık altında %20 ve %35 azalma göstermiştir. Karanlıkta ise 150 dakika süre boyunca önemli bir değişiklik olmadığı bildirilmiştir. Kullanılan DPPH çözeltilisini hazırlamak için çözücünün su içeriği bu yöntem için antioksidanların kapasitesini azaltan önemli bir etkidir. Sulu çözücülerde DPPH'ın bir bölümünün koagüle olması sonucunda antioksidanlarla basit bir şekilde reaksiyona girememektedir (Nacak, 2014).

DPPH, canlı organizmalarda bulunan radikallerin tam aksine kararlı, uzun ömürlü bir azot radikalidir. Küçük moleküller DPPH radikaline daha kolay ulaşabildikleri için daha yüksek antioksidan kapasite değerlerine sahiptirler. Ayrıca antioksidan madde ile DPPH arasındaki reaksiyon kinetiğinin DPPH derişimi ile sürekli doğrusallık göstermediği de bilinmektedir (Bardakçı, 2017).

1.10.2. Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Gücü (FRAP) Yöntemi

Bir diğer yaygın kullanılan antioksidan tayin yöntemlerinden biride FRAP yöntemidir. FRAP yöntemi, gıdalarda bulunan antioksidan bileşenlerin indirgen güçlerinin veya kapasitelerinin ölçümü prensibine dayalı bir antioksidan kapasite belirleme yöntemidir (Oğuz, 2008; Benzie ve Strain, 1999; Huang vd., 2005).

Oyaizu (1986) tarafından geliştirilen bu yönteme göre indirgeme gücü, dolaylı olarak toplam indirgeme potansiyelini göstermekte olup, Fe⁺³'ün Fe⁺²'ye indirgenmesi sonucu oluşan renk değişiminin 595 nm'de izlenmesi ile belirlenir (Akyüz, 2007).

Asidik pH'da Fe⁺³, TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazin) ile reaksiyonu sonucu oluşan [Fe (III)-TPTZ]₂Cl₃ kompleksi antioksidanların varlığında Fe (II)-tripiridiltriiazin [Fe (II)-TPTZ] kompleksine indirgenmektedir (Albayrak vd., 2010).

Oluşan yoğun mavi renkli demir tuzu [Fe (II)- TPTZ] oksidan olarak kullanılır ve 595 nm'de absorbans artışına neden olur (Albayrak vd., 2010; Benzie ve Strain 1996).

Bu yöntemle redoks potansiyeli 0,7 V'tan daha düşük olan bileşikler antioksidan olarak test edilebilmektedir. Polifenolik antioksidanlarda hidroksilasyon ve konjugasyonun miktarı bu yöntemde aktiviteyi etkilemektedir (Akyüz, 2007; Burnaz, 2007).

FRAP yöntemi, diğer yöntemlere göre kısa zamanda sonuç veren, oldukça basit ve ucuz bir yöntemdir. Dolayısıyla bu özelliklerinden dolayı antioksidan aktivitenin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemin tek dezavantajı ise -SH grubu içeren antioksidanları ölçememesidir (Ardağ, 2008).

1.10.3. Toplam Fenolik Madde Analizi

Antioksidan aktiviteyi sağlayan hidroksil grupları hakkında fikir vermesi açısından, toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi önemlidir. Doğal ürünlerde toplam fenolik madde ölçümü FC (Folin-Ciocalteu) metodu önemlidir. Bu durum temel mekanizma oksidasyon redüksiyon reaksiyonlarına sonuç verdiği için diğer bir AOK (Antioksidan Kapasite) metotlarından biri olarak kullanılabilir. Toplam fenol içeriği ve antioksidan aktivitesi arasında genelde oldukça iyi bir lineer korelasyon görülür (Huang vd., 2005; Prior vd., 2005).

Fenolik maddelerin okside olması FC reaktantı ile etkileşim göstererek 745-765 nm de gözlenebilen renkli bir ürün oluşur (Prior vd., 2005). Fenolik bileşenler FCR(Folin-

Ciocalteu Reaktantı) ile bazı şartlar altında reaksiyon verirler sodyum karbonat ile pH yaklaşık 10' a ayarlanır. Fenolik olmayan maddeler tarafından da indirgenebilen FC reaktantı sadece fenoliklere karşı spesifik değildir. Fenolik protonların disosiyasyonu ile fenolat anyonu oluşur ve buda FCR(Folin-Ciocalteu Reaktantı)' yi indirgeyebilme özelliğine sahiptir. Fenolat anyonu ve FCR(Folin-Ciocalteu Reaktantı) reaksiyonsonucunda meydana gelen mavi renkli bileşen fenolik maddenin yapısından tamamen bağımsızdır (Huang vd., 2005).

Bu metod duyarlı, basit ve kesinliği yüksek bir metottur. Ancak reaksiyon asidik pH ta yavaştır ve spesifikliğini kaybeder. Metodun en önemli dezavantajı ise ortamda bulunan proteinleri ekstrakte edebilmesidir. Bu sebeple spesifik bir metot olarak kabul edilmemektedir. Ayrıca metodun diğer dezavantajı ise analiz sırasında ortamda bulunan askorbik asit gibi indirgen maddelerle etkileşime uğramasıdır (Huang vd., 2005).

Fenol referans standartı olarak gallik asit kullanılır. Fakat bazı kaynaklarda farklı standartlara da rastlanmıştır (Prior vd., 2005).

1.10.4. Toplam Flavanoid Madde İçeriği

Flavonoidler sarı renkli olmaları nedeniyle latince “sarı” anlamına gelen “flavus” sözcüğünden adını almışlardır. Flavonoidler iki fenil halkasının propan zinciri ile birleşmesinden oluşan difenilpropan (C6-C3-C6) iskeletine sahip, doğal kaynakların en geniş sınıfını oluşturan bileşiklerdir (Kahraman, 2002).

Flavonoidler A ve B olmak üzere 2 benzen halkası içerirler ve bu benzen halkaları oksijen içeren ve bir piren halkası olan C halkası ile birbirine bağlanırlar (Erlund, 2004). Bu halkalara bağlanan çeşitli fenolik hidroksil grupları, bu yapıların antioksidan aktivite göstermelerini sağlar. Farklı türdeki bitkilerde veya aynı bitkinin değişik kısımlarında bulunan flavonoidlerin büyük yapısal farklılıkları vardır (Rijken vd., 2005).

Flavonoidlerin antioksidan, diüretik, antidiyabetik, hepatoprotektif, antispazmodik, östrajenik, antimitojenik, antimikrobiyal ve kardiyovasküler sistem üzerine (damar genişletici) etkileri olduğu kanıtlanmıştır (Yağcı vd., 2008).

Flavonoidlerin aynı zamanda antiviral, anti-inflamatuvar, antialerjik etki gösterdiği saptanmıştır (Cook ve Samma, 1996).

Bitkilerde bulunan flavonoid ve fenolik asitlerin antihepatotoksik, antiosteoporotik, antiülser, immunomodülatör, antiproliferatif etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Plazonic vd., 2009).

1.11. Antimikrobiyal Aktivite Tayin Yöntemleri

Geniş spektrumlu antibiyotik kullanımından kaynaklanan antibiyotik dirençli mikroorganizmalardaki büyük artış, antimikrobiyal ajanların birçok bakteriyel enfeksiyonun kontrolüne karşı yetersiz kalmasına neden olan önemli bir faktördür. İlaçların yanı sıra hastalıkların tedavisi için bitkilerden yararlanılabilir ve daha fazla bitki bazlı çözüm arayışı içinde ilerleme kaydedilmeye başlanmıştır (Riffel vd., 2002).

Antibiyotiklere karşı mikroorganizmalar çok farklı şekillerde duyarlılık gösterirler. Bu durum, hem mikroorganizmaların türüne ve hem de antibiyotiklerin yapısına göre değişebilir. Bu bakımdan gerek koruyucu amaçla ve gerekse en önemlisi sağaltım için kullanılacak antimikrobiyal ilaçların spesifik hastalık etkenine karşı olan statik ve/veya sidal etkisinin çok iyi belirlenmesi ve böyle bir ilacın seçilerek yeterli sürede ve dozda bir program dahilinde kullanılması gereklidir. Hatta, bazen bu da yeterli olmayabilir. Çünkü, tedavi sırasında antimikrobiyal ilaçlara karşı hastalık ajanlarının duyarlılığında değişimler olmakta ve ilaçlar yetersiz kalmaktadır.

Mikroorganizmaların antibiyotiklere duyarlılığın saptanmasında, yaygın olarak kullanılan, başlıca 2 yöntem vardır.

1) Tüp dilüsyon tekniği: Bu teknik antimikrobiyal ilaçların MLK (minimal letal konsantrasyonlu) ve MİK (minimal inhibitör konsantrasyonunu) değerlerinin belirlenmesinde yardımcı olur. Bu kapsamla, Mueller-Hinton buyyonunda antimikrobiyal ilacın 2 veya 10 katlı farklı dilüsyonları yapılarak sürekli azalan yoğunlukta ilaç içeren dilüsyonları elde edilir.

2) Disk difüzyon tekniği: Test mikroorganizmanın 6-8 saatlik buyyon kültüründen (hafif bulanık) Mueller-Hinton agar plaklarına 0,1-0,2 ml miktarlarında ekilmesi ve bir bageet'le iyice karıştırılarak sürülür (steril swab'ta aynı amaç için kullanılabilir). Aynı zamanda Kirby-Bauer yöntemi olarak da bilinen bu teknikte, agarın yüzeyi oda ısısında kuruduktan sonra (5-10 dk), agarın yüzeyine farklı konsantrasyonda farklı antibiyotikleri içeren diskler yerleştirilir ve 1-2 gün inkube edilir.

Bu sürelerin sonunda diskler etrafındaki inhibisyon zonları cetvel veya kompas ile ölçülür. Standart zon tablosu ile karşılaştırılarak indermediate (İ), duyarsız (R) ve duyarlı (S) olarak değerlendirilmesi yapılır. Disk diffüzyon yöntemi az zahmetli, kolay ve masrafı az olan aynı zamanda uygulanırlığının yanı sıra, bir petri kutusunda 5-6 antibiyotiğe duyarlılığını belirlemek ve etkin ilacı saptamak mümkündür. Bu nedenle çok fazla tercih edilmektedir.

3) Diğer teknikler: Agar içinde dilüsyon yöntemleri ve Mikrotitrasyon daha az kullanılan teknikler arasındadır (URL-2, 2020).



2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar

Yapılan çalışmalar esnasında Gümüşhane Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Gıda Mühendisliği bölümü araştırma laboratuvarındaki cihazlardan yararlanılmıştır. Yapılan çalışmada kullanılan cihazlar Tablo 2.1’de ve kullanılan kimyasal maddeler ise Tablo 2.2’de verilmiştir.

2.1.1. Kullanılan Cihazlar

Tablo 2.1. Çalışmada kullanılan cihazlar listesi

Cihaz Adı	Marka/Model
GC-MS	Agilent-7890A
GC-FID	Agilent-7890A
UV-vis spektrofotometre	Optizen MECASYS
Clevenger destilasyon düzeneği	
Soğutucu	Jsr Ref. Bath
Hassas Terazı	Ohaus PA 214C
Saf Su Cihazı	Mes 13 MINIpure
Magnetik karıştırıcı	Heidolf
Homojenizatör	Heidolf rpm1000
Yarı otomatik pipetler	Eppendorf Research® Plus
Evaporatör	Heidolf

2.1.2. Kullanılan Kimyasallar

Tablo 2.2. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler listesi

Kullanılan Kimyasal	Satın Alındığı Firma
Metanol-LC Saflıkta	Sigma-Aldrich Germany
Follin-Ciocalteu's fenol reaktifi	Sigma-Aldrich Germany
Nutrient Broth	Merck, Germany
Nutrient Agar	Merck, Germany
Malt Extract Agar	Merck, Germany
Hegzan (GC saflıkta)	Sigma-Aldrich Germany
Sigma-Aldrich C ₆ -C ₃₂ karbon sayılı doymuş Alkan standardı	Sigma-Aldrich Germany
Bakteri ve maya-küf şuşları	
Plastik 4 gözlü Petri kabı	
Helyum Gazı (GC saflıkta)	
Hidrojen Gazı (GC saflıkta)	
Kuru Hava Gazı (GC saflıkta)	
Gallik Asit	

2.2. Materyal

Çalışmaya konu olan *Primula veris* subsp. *columnae* (Tutya) bitkisi 2019 yılında toplanarak Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Herbaryumunda Doç. Dr. Mutlu GÜLTEPE tarafından teşhisi yapılmış ve KTUB Gültepe

661 numarası ile kayıt edilmiştir. *Primula veris* subsp. *columnae* (Tutya, Çuha) çiçeği örnekleri 2019 yılı Nisan ayında Gümüşhane İli, Torul İlçesi Zigana Köyü 1900m rakımdan toplandı. Toplanan örnekler analizler yapılıncaya kadar Şekil 2.1. de gösterildiği gibi en az -20 derecede bekletildi.



Şekil 2.1. *Primula veris* subsp. *columnae* (Tutya, Çuha çiçeği) örnekleri

2.3. Metod

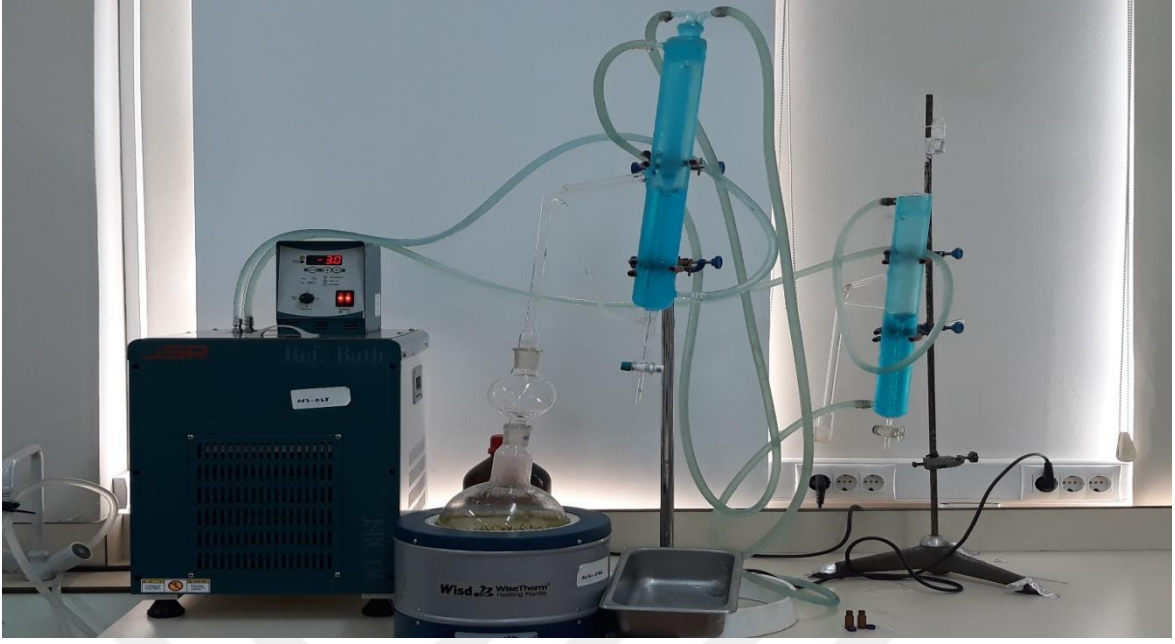
2.3.1. *Primula veris* subsp. *columnae* Örneklerinden Uçucu Yağlarının Elde Edilmesi

Toplanan *Primula veris* subsp. *columnae* bitkisinin çiçek ve yapraklarından sırasıyla 80 ve 100 g numuneler alınarak Şekil 2.2.' de gösterildiği gibi öğütüldü.



Şekil 2.2. *Primula veris* subsp. *columnae* (Tutya, Çuha çiçeği) öğütülmüş hali

Sırasıyla 80 g homojenize edilmiş çiçek numunesi ve 100 g homejenize edilmiş yaprak numunesi 5 L altı yuvarlak clevenger cihazı balonunda tartılarak 2000 mL saf su ilave edildi. Modifiye edilmiş clevenger cihazına yerleştirildi. Clevenger cihazında toplama kısmına 2 mL n-Hekzan kondu. Soğutucunun sıcaklığı $-3.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ayarlandı. 4 saat kısık ayarda kaynatılarak uçucu yağlar toplandı. Ağırlıkça uçucu yağların yüzde verimleri çiçek ve yaprak için sırasıyla hesaplanmıştır. *Primula veris* subsp. *columnae* (Tutya, Çuha çiçeği) ait uçucu yağlar n-Hekzan içerisinde renkli şişelere konularak GC kalitesinde ağzı kapatılarak saklandı. Çalışmada kullanılan Clevenger düzeneği Şekil 2.3. de ve toplanan uçucu yağlar ise Şekil 2.4. de gösterilmiştir.



Şekil 2.3. Çalışmada kullanılan Clevenger düzeneği



Şekil 2.4. Toplanan uçucu yağların renkli şişelere (vial) konulması

2.3.2. GC-MS ile Uçucu Yağların Bileşenlerinin Analizi

Clevenger sisteminde su buharı destilasyonu ile elde edilen uçucu yağlar hegzanda çözülmüş olarak filtreden geçirildi, koyu renkli şişelere konularak ve otosampler kısmına yerleştirildi. HP-5 apolar kapiler kolonun kullanıldığı GC uygulamasında 67 dakika süren bir koşturma sonucu bileşenler ayrıldı.

Uçucu bileşikler gaz kromatografisi kolonunda ayrıldıktan sonra kütle spektrofotometresinde her birinin tek tek kütle spektrumları alındı. Her bir bileşenin kütle spektrumları Willey ve NIST kütüphanelerinin referans bileşikleriyle karşılaştırarak yapı aydınlatılması yapıldı ve tespit edilen bileşiklerin doğrulanması için bileşiklere ait alikonma zamanları literatür verileriyle karşılaştırıldı. Uçucu yağların ölçümü ise Gaz Kromatografisi Alev İyonizasyon Detektörü (FID) ile yapıldı. Tablo 2.3.'de verilen GC-MS çalışmasında tanımlanan şartlar, GC içinde aynı olup, aynı kolona 1 µL hegzan içerisinde uçucu yağ enjekte edildi. Split oranı 1:5 şeklindedir.

GC-MS analizleri, Agilent-7890 model cihazında yapıldı ve analiz için HP-5 model apolar kapiler kolon (30 m x 0.32 mm, film kalınlığı 0.25 µm) kullanıldı.

Taşıyıcı gaz olarak 1 mL/min akış hızıyla helyum kullanılarak enjeksiyonlar 240 °C de splitless modunda uygulandı. Hegzan (GC sınıfı) içindeki 1 µL uçucu yağ çözeltisi enjekte edildi ve başlangıçta 60 °C de 2 dakika tutularak sonrasında 3 °C/min artışla 240 °C ye çıkarılarak spektrumlar alındı.

Tablo 2.3. *Primula veris subsp. columnae* (Tutya, Çuha çiçeği) araştırmak için kullanılacak GC/MS koşulları

Sistem:	Agilent-7890A GC-MS Cihazı
Kolon:	HP-5 model apolar kapiler kolon (30 m x 0.32 mm i.d., film kalınlığı 0.25 µm)
Taşıyıcı Gaz ve Akış Hızı:	Helyum 1 mL/dak
Dedektör:	FID
Enjeksiyon Sıcaklığı:	240 °C
Kolon Sıcaklığı:	60°C'de 2 dak., dakikada 3°C artışla 240°C'ye programlanmış, 240°C'de tutulacaktır
Split Oranı:	1:5
Elektron enerjisi:	0 eV
Enjeksiyon Miktarı:	1 µL

2.3.3. Metanol ile Ekstraksiyon

Çalışmada kullanılacak bitkilerin çiçek ve yaprak kısımları öğütülüp sırasıyla 80 ve 100'er gram alındıktan sonra üzerine 750 mL metanol eklenerek 200 rpm devirde çalkalayıcı da oda sıcaklığında 24 saat bekletildi. Yirmi dört saat sonunda whatman 1 filtreden 2 defa süzülerek 4000 devirde 10 dakika santrifüj edildi ve bitki özütleri elde edildi. Santrifüj sonunda üstte kalan kısım bir behere alınarak 40 °C'de metanol tamamen uçurularak ekstraktlar elde edildi.

Yapılan metanol ekstraksiyon görselleri olarak metanol eklenerek çalkalayıcıya konulan çiçek ve yaprak örnekleri Şekil 2.5' de, filtreden süzülen çiçek ve yaprak örnekleri Şekil 2.6' da, evaporatörde santrifüj işlemi Şekil 2.7' de ve metanolden elde edilen çiçek ve yaprak ekstraktları ise Şekil 2.8'de gösterilmiştir.



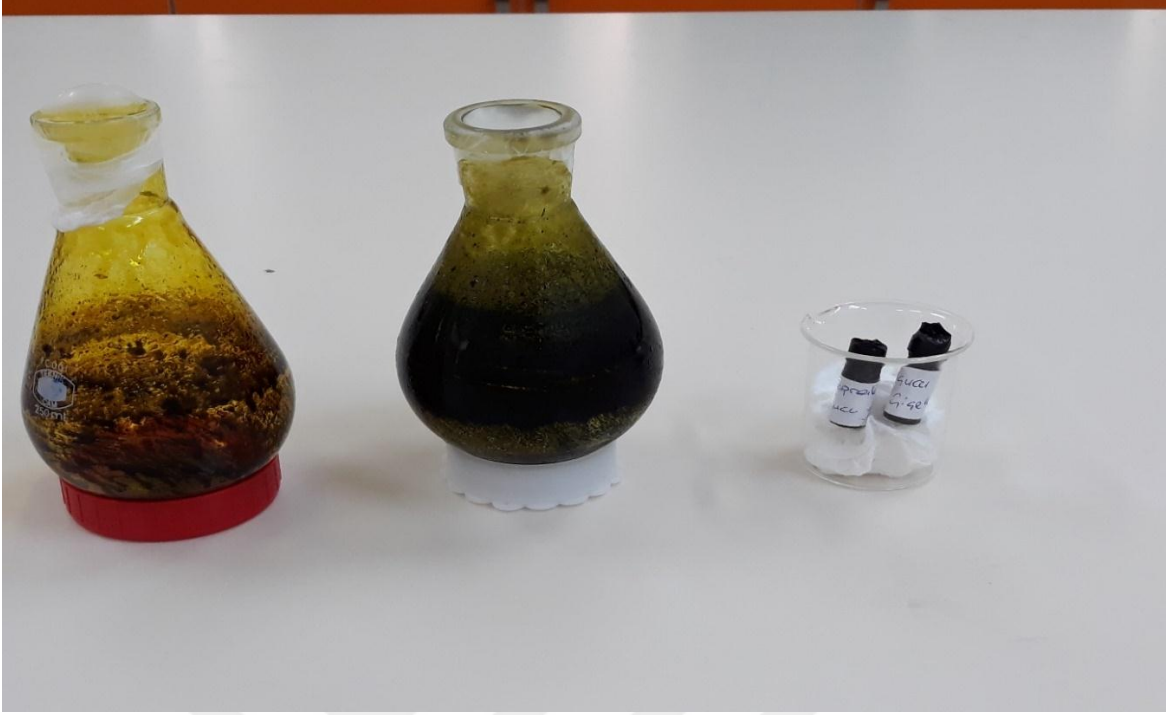
Şekil 2.5. Metanol eklenerek çalkalayıcıya konulan çiçek ve yaprak örnekleri



Şekil 2.6. Filtreden süzölen çiçek ve yaprak örnekleri



Şekil 2.7. Evaporatörde santrifüj işlemleri



Şekil 2.8. Metanolden elde edilen çiçek ve yaprak ekstraktları

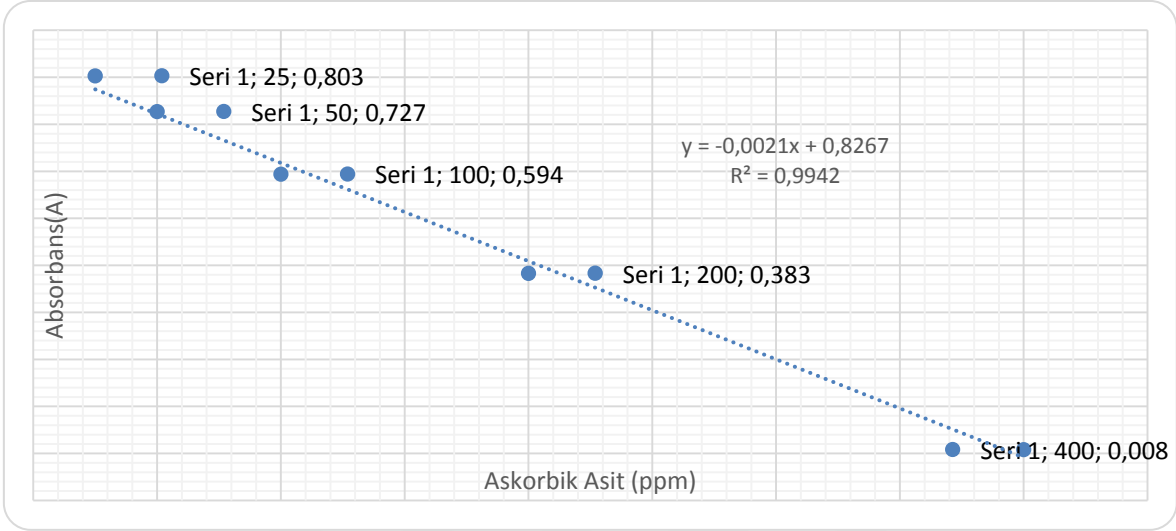
2.4. Antioksidan Aktivite Tayini

2.4.1. DPPH Serbest Radikal Temizleme Aktivitesi Tayini

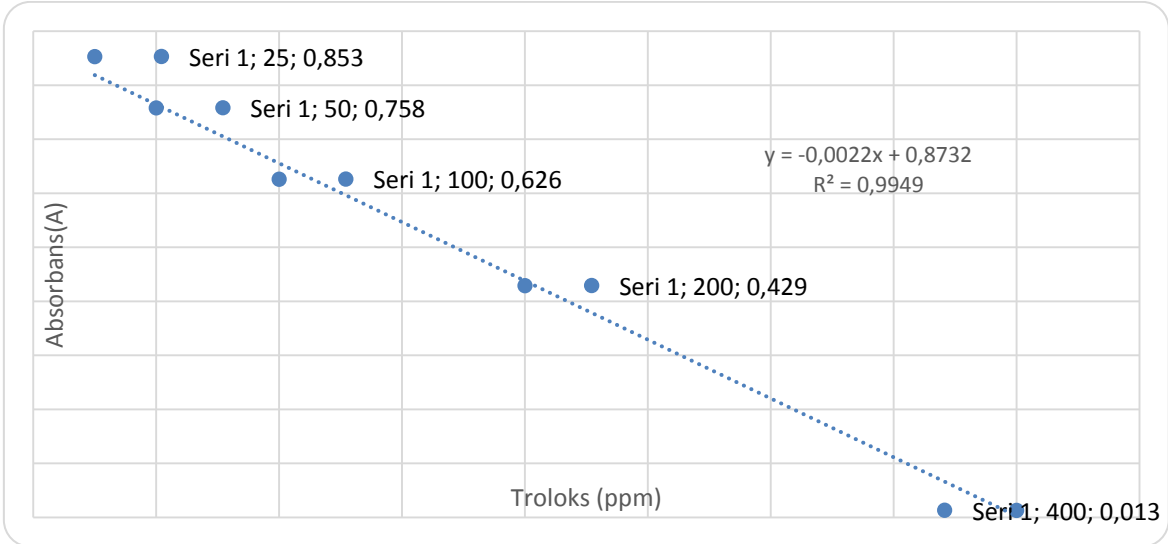
Ana stok DPPH reaktifinin hazırlanması: 39.5mg DPPH (2,2 difenil 1-pikrilhidrazil) 10mL metanol içinde çözüldü. Elde edilen çözelti daha sonraki kullanımlar için buzdolabında saklandı. Ana stok çözeltisinden 2.5 mL alınıp 250 mL' ye metanol ile tamamlandı. Tamamlanan çözeltinin absorbanı 517 nm de seyreltme ya da ana stoktan ilave edilerek absorbanı 0.980 ± 0.02 değere ayarlandı. *Primula veris* subsp. *columnae* (Tutya, Çuha çiçeği) türünün çiçek ve yaprak kısımlarından elde edilen metanol ekstraktlarından %0.2' lik numuneler hazırlandı. Metanol (HPLC saflıkta), Analitik saflıkta DPPH, Analitik saflıkta Troloks ve Analitik saflıkta L-Askorbik asit kullanıldı. Troloks ve Askorbik asit' in metanolde çalışma çözeltileri 25, 50, 100, 200 ve 400 $\mu\text{g/ml}$ hazırlandı. Karışım vortekslenip, 30 dk karanlıkta bekletildi. Elde edilen çözelti daha sonra 517 nm' de Spektrofotometre absorbanı okundu. Kör olarak metanol kullanıldı. Standartlardan (Askorbik asit ve Troloks) alınıp aynı işlemler yapıldı. Sonuçlar % inhibisyon olarak verildi. *Primula veris* subsp. *columnae* örneklerinden DPPH radikal temizleme miktarları;

aşağıdaki şekilde hesaplandı (Ahmed vd. 2015). Toplam DPPH serbest radikal temizleme kapasitesi Askorbik asit için şekil 2.9’de, Troloks için ise şekil 2.10’da verildi.

$$\% \text{ İnhibisyon} = ((\text{Kontrol Absorbansı} - \text{Örneğin Absorbansı}) / \text{Kontrol Absorbansı}) \times 100$$



Şekil 2.9. Toplam DPPH Serbest Radikal Temizleme Kapasitesi (Askorbik Asit standartları)



Şekil 2.10. Toplam DPPH Serbest Radikal Temizleme Kapasitesi (Troloks standartları)

2.4.2. Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Gücü (FRAP) Tayini

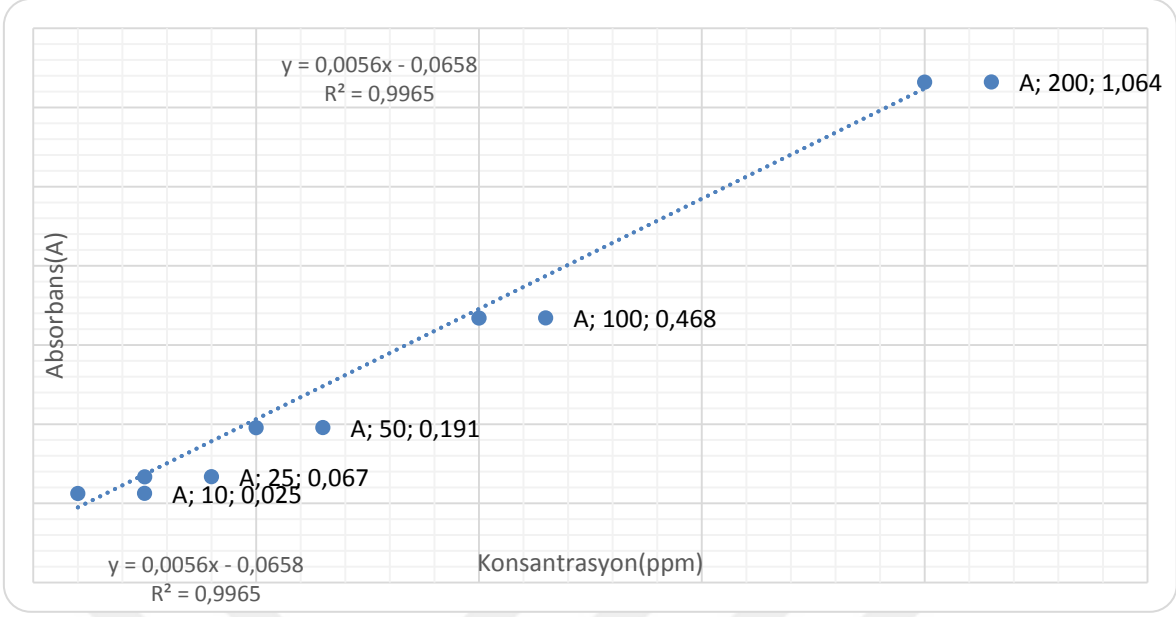
Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Gücü (FRAP) Tayini için kullanılan reaktifler; Metanol (HPLC saflıkta) %30 v/v, Analitik saflıkta 2,4,6-Tri(2-piridil)-s-triazin, TPTZ, Analitik saflıkta Sodyumasetat trihidrat ($C_2H_3NaO_2 \cdot 3H_2O$), Analitik saflıkta Glasial asetik asit, Analitik saflıkta Hidroklorik asit (HCl), Analitik saflıkta Demir üç klorür heksahidrat ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) Analitik saflıkta Demir iki sülfat heptahidrat ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$), 300 mM asetat buffer: Litrelik balona 3.1 g Sodyumasetat trihidrat tartıldı. Bir miktar saf su ile çözüldü. Üzerine 16 ml Glasial asetik asit ilave edildi. PH'ı 3.60'a ayarlandı. 40 mM HCl çözeltisi: 1.19, %37 'lik derişik HCl' den 3.4 ml alınarak hacmi 1 litreye tamamlandı. 10 mM TPTZ çözeltisi: 3.123 g TPTZ 40 mM HCl çözeltisi ile hacmi 1 litreye tamamlandı. 20 mM $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ çözeltisi: 5.406 g $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ saf su ile hacmi 1 litreye tamamlandı. FRAP çözeltisi: 10:1:1 (Asetat buffer çözeltisi: 10 mM TPTZ çözeltisi: 20 mM $FeCl_3 \cdot 6H_2O$). FRAP çözeltisi kullanılmadan önce 37 °C de 15 dk inkübe edildi. Ana Stok 1000 mg/L Demir iki sülfat heptahidrat ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) çözeltisi: 0.1830g $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ tartılarak 1 litreye tamamlandı.

Primula veris subsp. *columnnae* türünün çiçek ve yaprak kısımlarından elde edilen metanol ekstaktlarından %0,04' lük numuneler hazırlandı. Çalışma standartları: Ana stok Demir iki sülfat heptahidrat ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) çözeltisinden 5, 10, 25, 50, 100, 200 µl/ml çözeltiler hazırlandı. Karışım vortekslenip, 30 dk karanlıkta bekletildi. Elde edilen çözelti daha sonra 593 nm' de spektrofotometre absorbansı okundu. Kör olarak saf su kullanıldı.

Toplam demir indirgeme antioksidan kapasitesi mg/g olarak tespit edildi (Ahmed vd. 2015). Toplam demir indirgeme antioksidan kapasitesi şekil 2.11' da verildi.

$$C = (((Absorbans + 0.0064) / 0.0202)) \times 2$$

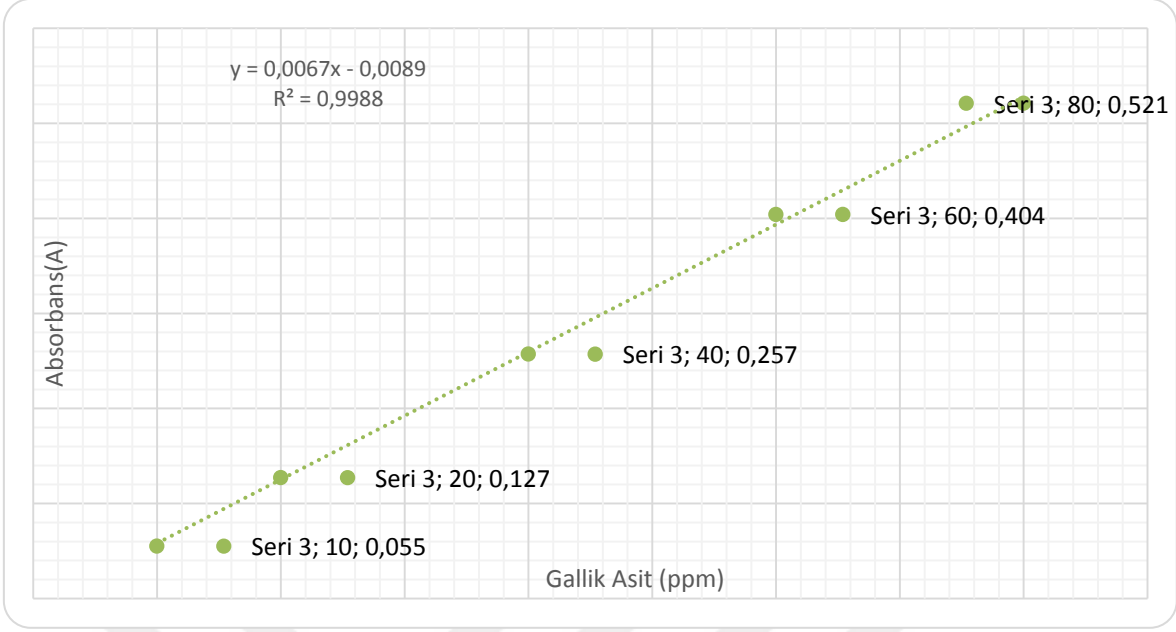
$$C = \text{Konsantrasyon mg FeSO}_4 \text{ Eşdeğeri / L}$$



Şekil 2.11. Toplam demir indirgeme antioksidan kapasitesi

2.4.3. Toplam Fenolik Madde Tayini

Toplam fenolik madde tayini için kullanılan reaktifler; %10 lik Na_2CO_3 , Folin – ciocalteu’s reaktifi, Kalibrasyon eğrisi için Gallik asit kullanıldı. *Primula veris* subsp. *columnae* türünün çiçek ve yaprak kısımlarından elde edilen metanol ekstaktlarından %0,2’ lik numuneler hazırlandı. Karışıma 0.5 mL metanol ve ardından 200 μL folin–ciocalteu’s reaktifi ilave edildi. Karışım vortekslenip, 10 dakika oda şartlarında inkübe edildikten sonra üzerine 600 μL %10 lik Na_2CO_3 çözeltisi ilave edildi. Son karışım tekrar vortekslenildikten sonra 120 dakika oda şartlarında karanlıkta inkübe edilip inkübasyon süresinin sonunda karışımın 760 nm deki absorbansı okundu. Kör olarak 3.7 mL su 500 μL metanol +100 μL folin–ciocalteu’us reaktifi + 600 μL Na_2CO_3 karışımı kullanıldı. Örneklerinde fenolik madde miktarları; gallik asidin (10, 20, 30, 40, 60 ve 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$) çözeltisi ile elde edilen kalibrasyon grafiğinin doğru denklemi kullanılarak toplam fenolik mg/g olarak ifade edildi (Kasangana vd, 2015). Toplam fenolik madde miktarı için kullanılan gallik asit kalibrasyon grafiği şekil 2.12 ‘de verildi.



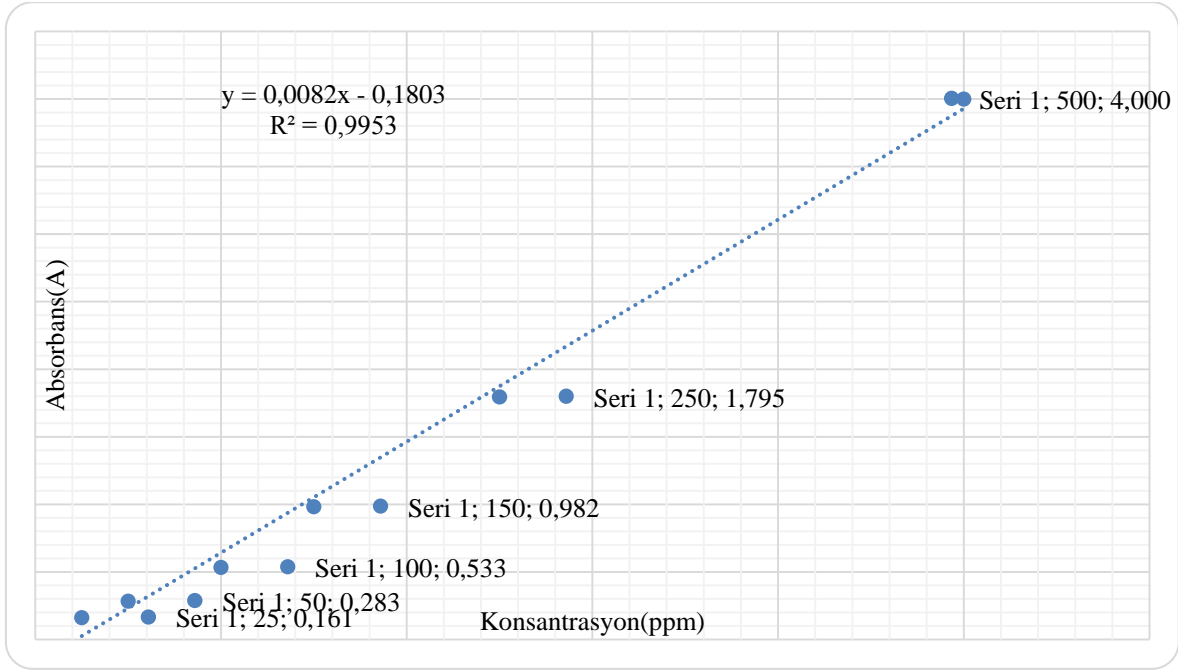
Şekil 2.12. Toplam fenolik madde miktarı için kullanılan gallik asit kalibrasyon grafiği

2.4.4. Toplam Antioksidan Madde Tayini

Toplam antioksidan madde tayini için kullanılan reaktifler; Monobazik Sodyumfosfat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), Amonyum heptamolibdat tetrahidrat (amonyum molibdat) ($\text{H}_2 \text{ 4 Mo}_7 \text{ N}_6 \text{ O}_2 \text{ 4 .4 H}_2 \text{ O}$), Analitik saflıkta Sülfirik Asit (H_2SO_4), Analitik saflıkta Askorbik Asit çözeltisi kullanıldı. Reaktifin hazırlanması ise (1,6 mL Sülfirik Asit (H_2SO_4), 28 mM (0.2295g) Monobazik Sodyumfosfat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), 4 mM (0.2472 g) Amonyum heptamolibdat tetrahidrat (ammonium molybdate) ($\text{H}_2 \text{ 4 Mo}_7 \text{ N}_6 \text{ O}_2 \text{ 4 . 4 H}_2 \text{ O}$) 12 ml metanole 1,6 mL Sülfirik Asit ilave edilip üzerine 28mM (0.2295g) Monobazik Sodyumfosfat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), 4 mM (0.2472 g) az miktarda metanol ilave edilip tamamen çözüldükten sonra hacmi metanol ile 50 mL' ye tamamlandı.

Primula veris subsp. *columnae* türünün çiçek ve yaprak kısımlarından elde edilen metanol ekstaktlarından %0,2' lik numuneler hazırlandı. Kalibrasyon eğrisi için Askorbik asit kullanıldı. Karışım vortekslendi ve 90 dakika 95 °C su banyosunda ağızları kapalı biçimde inkübe edildi. Su banyosundan alınarak oda şartlarında sıcaklığa gelmesi için 20-30 dk beklendi. Kör olarak örnek yerine 500 µL saf su kullanıldı. Elde edilen reaksiyon karışımlarının absorbansı 695 nm spektrofotometrede okundu. Standartlardan 500 µL alınıp aynı işlemler yapıldı. Çiçek ve yaprak örneklerinden toplam antioksidan madde

miktarları; Askorbik asidin (25, 50, 100, 150, 250 ve 500 µg/mL) çözeltisi ile elde edilen kalibrasyon grafiğinin doğru denklemi kullanılarak toplam antioksidan mg/g olarak tespit edildi (Kasangana vd. 2015). Toplam antioksidan madde analizi kalibrasyon eğrisi şekil 2.13.' de verildi.



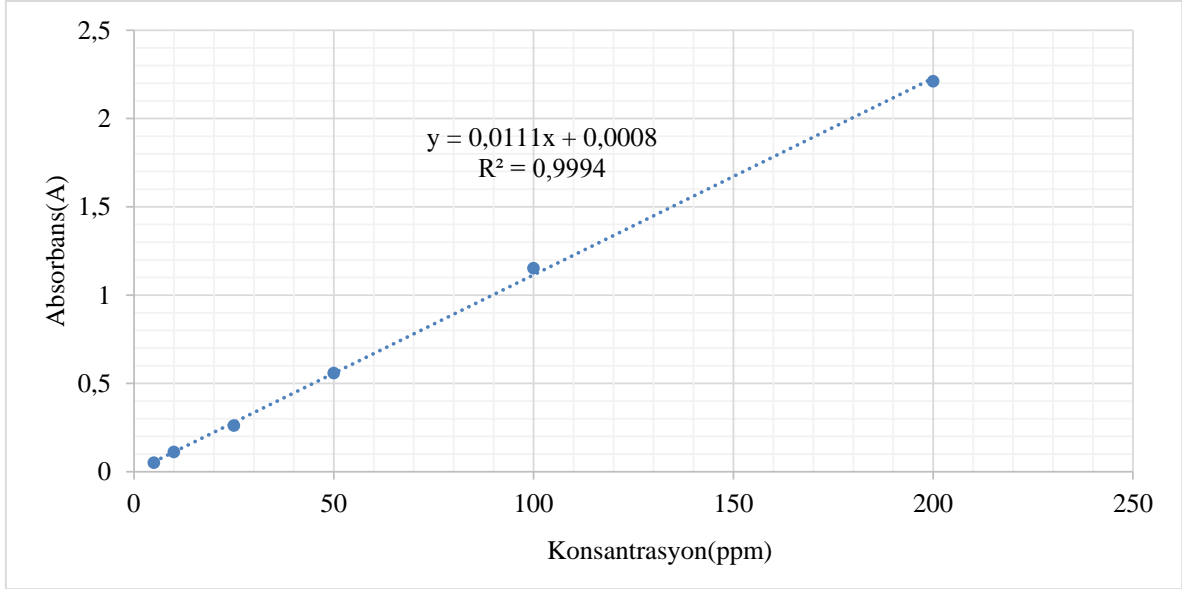
Şekil 2.13. Toplam antioksidan madde analizi kalibrasyon eğrisi

2.4.5. Toplam Flavanoid Madde Tayini

Toplam flavanoid madde tayininde kullanılan reaktifler; Metanol (HPLC saflıkta) %30 v/v, Analitik saflıkta Sodyumnitrit NaNO₂ (0.5 M), Analitik saflıkta Alüminyum klörür AlCl₃ (0.3 M), Analitik saflıkta Sodyum hidroksit NaOH (1 M) çözeltileri kullanıldı. Kalibrasyon eğrisi için kateşin kullanıldı.

Primula veris subsp. *columnae* türünün çiçek ve yaprak kısımlarından elde edilen metanol ekstaklarından %0,2' lik numuneler hazırlandı. Karışım vortekslendi ve üzerine 0.5 M Sodyumnitrit çözeltisinden 150 µL ilave edilerek arkasından 150 µL 0.3 M Alüminyum klörür eklendi. 5 dk beklendi. 1 ml 1 M NaOH çözeltisi ilave edildi. Karışım tekrar vortekslendi ve 10 dk beklendikten sonra 506 nm' de spektrofotometrede absorbansı okundu. Kör olarak 500 µL saf su kullanıldı. Standartlardan 500 µL alınıp aynı işlemler

yapıldı. 5, 10, 25, 50, 100, 200 ppm çözeltisi standartları ile elde edilen kalibrasyon grafiğinin doğru denklemi kullanılarak, toplam flavanoid mg/g olarak tespit edilmiştir (Kasangana vd. 2015). Toplam antioksidan analizi kalibrasyon eğrisi şekil 2.14' de verildi.

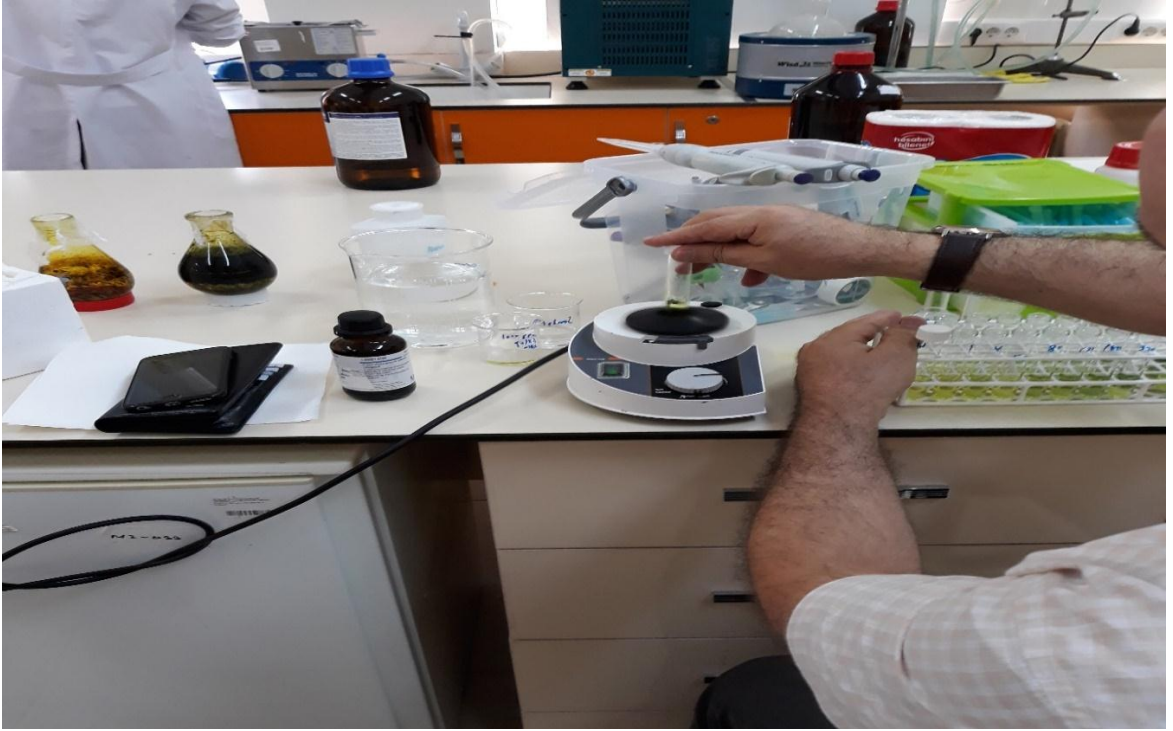


Şekil 2.14. Toplam Flavanoid madde analizi kalibrasyon eğrisi

Antioksidan aktivite analiz yöntem uygulama aşaması Şekil 2.15'de, Örneklerin antioksidan madde tayini için vortekslenmesi Şekil 2.16'da, Örneklerin antioksidan madde tayinine hazırlanmış durumu Şekil 2.17'de ve Örneklerin antioksidan madde tayini için spektrofotometrede absorbanslarının okunması Şekil 2.18' verilmiştir.



Şekil 2.15. Antioksidan aktivite analiz yöntem uygulama aşaması



Şekil 2.16. Örneklerin antioksidan madde tayini için vortekslenmesi



Şekil 2.17. Örneklerin antioksidan madde tayinine hazırlanmış durumu



Şekil 2.18. Örneklerin antioksidan madde tayini için spektrofotometrede absorbanlarının okunması

2.5. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Örnek ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi agar difüzyon ve disk difüzyon yöntemlerine uygun olarak iki farklı yöntem ile belirlenmiştir. Her iki yöntem içinde örneklerin dört farklı konsantrasyonları (%100, %50, %25 ve %10) hazırlanmıştır. Uçucu yağ örnekleri heksanda, diğer ekstraktlar etanol ve suda çözülerek hazırlanmıştır.

2.5.1. Agar Difüzyon Yöntemi

Agar difüzyon yöntemi mikroorganizmaların hazırlanması, katı besiyerinin hazırlanması ve ekim olmak üzere 3 aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir.

2.5.1.1. Mikroorganizmaların Hazırlanması

Örneklerin agar difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktiviteleri *Aeromonas hydrophila* ATCC 7965, *Bacillus cereus* ATCC 33019, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterobacter cloacea* ATCC 13047, *Escherichia coli* ATCC 11230, *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 33150, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Proteus vulgaris* ATCC 13319, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 17853, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 bakterileri ile *Saccharomyces cerevisiae* BC 5461, *Candida albicans* ATCC 1223, *Aspergillus niger* ATCC 20611, *Aspergillus flavus* ATCC 9807 ve *Penicillium* ATCC 74414 maya ve küflere karşı belirlenmiştir. Bu amaçla bakteriler nutrient broth (merck) besiyerinde 24 saat 36°C'lik ilk aktifleştirmenin ardından 18 saatlik ikinci aktifleştirme sonunda 10^8 kob/ml olacak şekilde hazırlanmıştır. Maya ve küfler ise 48 saat 25°C'lik ilk aktifleştirmenin ardından 24 saatlik ikinci aktifleştirme sonunda 10^8 kob/ml olacak şekilde hazırlanmıştır.

2.5.1.2. Katı Besiyerinin Hazırlanması

Bakteriler için Nutrient Agar (Merck) besiyeri, maya-küfler için ise Malt Ekstrakt Agar (Merck) besiyeri hazırlanarak otoklavda steril edilmiştir. Ardından dökme sıcaklığına getirilen besiyerlerine %1 olmak üzere aktifleştirilen mikroorganizmalar ilave edilerek petrilere dökülerek katılaşmaları sağlanmıştır.

2.5.1.3. Ekim

Hazırlanan katı besiyerlerinin üzerine 4 mm çapında kuyucuklar açılmıştır. Açılan bu kuyucuklara örnek ekstraktları 20 µL ilave edilerek bakteriler 36°C’de 24 saat, maya-küfler ise 25 °C’de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından kuyucukların etrafında oluşan şeffaf zonun çapı ölçülmüştür.

2.5.2. Disk Difüzyon Yöntemi

Disk difüzyon yöntemi *Aeromonas hydrophila* ATCC 7965, *Bacillus cereus* ATCC 33019, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterobacter cloacea* ATCC 13047, *Escherichia coli* ATCC 11230, *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 33150, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Proteus vulgaris* ATCC 13319, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 17853, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 bakterileri ile *Saccharomyces cerevisiae* BC 5461, *Candida albicans* ATCC 1223, *Aspergillus niger* ATCC 20611, *Aspergillus flavus* ATCC 9807 ve *Penicillium* ATCC 74414 maya ve küflere karşı belirlenmiştir. Bu amaçla mikroorganizmalar 10⁸ kog/mL yoğunlukta hazırlanmıştır. Steril olarak hazırlanan Nutirent Agar ve Malt Ekstrak Agar besiyerlerinin üzerine aktifleştirilerek yoğunlukları ayarlanmış bakteriler 1 mL olacak şekilde yayılmıştır. Ardından örnek ekstraktlarından 20 µL emdirilmiş steril diskler besiyerlerinin üzerine bırakılmıştır. Daha sonra bakteriler 36°C’de 24 saat, maya-küfler ise 25 °C’de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından disklerin etrafında oluşan şeffaf zonun çapı ölçülmüştür.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Yapılan çalışmada; Gümüşhane ilinde doğal olarak yayılış gösteren odun dışı orman ürünü ve tıbbi aromatik bitkilerden birisi olan *Primula veris* subsp. *columnae* (Tutya, Çuha çiçeği) bitkisi 2019 yılı Nisan ayında toplanarak çiçek ve yapraklarının uçucu yağları Clevenger tipi cihazda su buharı destilasyonu metodu ile elde edilerek ve uçucu yağların kimyasal bileşimleri GC-MS cihazı ile analiz edilerek belirlendi. Ayrıca çiçek ve yapraklarından metanol ekstraksiyonu ile ekstraktları elde edildi.

Sonrasında ise elde edilen metanol ekstraktlarının antioksidan aktivite tayini “DPPH üzerinden Serbest Radikal Süpürücü Etki Tayini” metodu, Toplam Fenolik Madde Tayini Singleton ve Rossi (1965)’ nin uyguladığı Folin-Ciocalteu metoduna göre ve Demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan gücü (FRAP) yöntemine göre yapıldı. Ayrıca Toplam Flavanoid Madde İçeriği ve Toplam Antioksidan Madde İçeriği analizleri yapıldı. Antimikrobiyal aktivite testleri ise hem uçucu yağların hem de metanol ekstraktlarının agar difüzyon yöntemi ile en az 17 farklı mikroorganizmaya karşı belirlendi.

3.1. *Primula veris* subsp. *columnae* (Tutya, Çuha çiçeği) Bitkisinin Çiçeğinden ve Yapraktan Elde Edilen Uçucu Yağ Miktarı

2019 yılında toplanan *Primula veris* subsp. *columnae* türünün çiçeklerinden 80 g numune alınarak uçucu yağ elde etmek için kullanıldı. Analiz sonucunda bu bitkinin çiçek kısımlarından elde edilen uçucu yağ miktarı 276.00 mg olduğu belirlendi. Yüzde olarak uçucu yağ oranı ise çiçek kısmında %0.33 olarak tespit edildi.

2019 yılında toplanan *Primula veris* subsp. *columnae* türünün yapraklarından 100 g hammadde numune uçucu yağ elde etmek için kullanıldı. Analiz sonucunda bu bitkinin yaprak kısımlarından elde edilen uçucu yağ miktarı 123.70 mg olduğu belirlendi. Yüzde olarak uçucu yağ oranı ise yaprak kısmında %0.12 olarak tespit edildi.

3.2. *Primula veris* subsp. *columnnae* (Tutya, Çuha çiçeği) Bitkisi Çiçek ve Yaprığının Metanol Ekstraksiyonu Sonucu Elde Edilen Ekstraktif Madde Miktarı

2019 yılında toplanan *Primula veris* subsp. *columnnae* türünün çiçeklerinden alınan 80 g hammadde numune ile 750 mL metanol karıştırılarak 200 rpm çalkalayıcıda 24 saat karıştırıldı. Analiz sonucunda bu bitkinin çiçek kısmından elde edilen ekstraktif madde miktarı 27.63 g olduğu belirlendi. Yüzde olarak ise çiçekte ekstraktif madde miktarı %34.54 olarak tespit edildi.

2019 yılında toplanan *Primula veris* subsp. *columnnae* türünün yapraklarından alınan 100 g hammadde numune ile 750 mL metanol karıştırılarak 200 rpm çalkalayıcıda 24 saat karıştırıldı. Analiz sonucunda bu bitkinin yaprak kısmından elde edilen ekstraktif madde miktarı 28.81 g olduğu belirlendi. Yüzde olarak ise yaprakta ekstraktif madde miktarı %28.81 olarak tespit edildi.

3.3. Antioksidan Aktivite Tayini Verileri

3.3.1. DPPH Serbest Radikal Temizleme Aktivitesi Tayini Verileri

Primula veris subsp. *columnnae* (Tutya, Çuha çiçeği) türünün çiçek ve yaprak kısımlarından elde edilen metanol ekstraktlarından hazırlanan % 0.20, % 0.50 ve % 1.00' lik hazırlanan konsantrasyonlarda DPPH çalışması yapılarak sonuçlar Askorbik asit ve Troloks standartlarına göre % inhibisyon olarak verildi. *Primula veris* subsp. *columnnae* örneklerinden DPPH serbest radikal temizleme kapasitesi miktarları üste verilen konsantrasyonlardaki sonuçlar Tablo 3.1 ve Tablo 3.2 de verilmiştir. Yapılan çalışmada % 0.04' lük Askorbik asit, Troloks standartları sırasıyla % 99.14 ve % 99.57' lik bir inhibisyon oranı göstermiştir. Çalışılan Çuha çiçeğinin yaprak ve çiçek kısımlarının metanol ekstraksiyonları konsantrasyona bağlı olarak önemli bir artış göstermiştir. Tabloya baktığımızda yaprak ekstraktı A.A. ve Troloks cinsinden % İnhibisyon; % 0.20, % 0.50 ve % 1.00 konsantrasyonlarda sırasıyla % 33.01, 31.39 , %70.42, 69.70, % 84.46 ve 84.08 göstermiştir. Çiçek ekstraktı A.A. ve Troloks cinsinden % İnhibisyon; % 0.20, % 0.50 ve % 1.00 konsantrasyonlarda sırasıyla % 74.81, 74.20, % 85.21, 84.85, % 86.53 ve 86.21 göstermiştir. Hem yaprak kısmı hemde çiçek kısmı % 1.00 ' lik konsantrasyonda hemen hemen A.A. ve Troloksın % 0.04' lük konsantrasyonuna yakın bir inhibisyon

göstermiştir. Yapılan çalışmada çiçek ve yaprak ekstraktlarının % inhibasyon oranlarına bakıldığında çiçek metanol ekstraktı yaprağa göre daha fazla inhibasyon özelliği göstermiştir. Buda çiçek kısımlarında yaprak kısımlarına göre daha fazla sayıda organik bileşiklerin olmasından kaynaklanmış olduğu düşünülmektedir.

Tablo 3.1. *Primula veris* subsp. *columnae* yaprak metanol ekstraktı DDPH sonuçları

Yaprak Metanol Ekstraktı	A.A. Cin. % İnhibasyon	Troloks Cin. % İnhibasyon	A.A. Cin. % İnhibasyon	Troloks Cin. % İnhibasyon	A.A. Cin. % İnhibasyon	Troloks Cin. % İnhibasyon
Çalışılan Konsantrasyon	% 0.20 Metanol Eks.		% 0.50 Metanol Eks.		% 1.00 Metanol Eks.	
1	28.83	27.11	62.38	61.47	84.78	84.41
2	32.48	30.85	71.38	70.69	85.64	85.29
3	33.01	31.39	70.42	69.70	84.46	84.08
Ortalama	31.44	29.78	68.06	67.29	84.96	84.60
SD	2.27	2.33	4.94	5.06	0.61	0.62

Tablo 3.2. *Primula veris* subsp. *columnae* çiçek metanol ekstraktı DDPH sonuçları

Çiçek Metanol Ekstraktı	A.A. Cin. % İnhibasyon	Troloks Cin. % İnhibasyon	A.A. Cin. % İnhibasyon	Troloks Cin. % İnhibasyon	A.A. Cin. % İnhibasyon	Troloks Cin. % İnhibasyon
Çalışılan Konsantrasyon	% 0.20 Metanol Eks.		% 0.50 Metanol Eks.		% 1.00 Metanol Eks.	
1	74.71	74.09	85.32	84.96	86.39	86.06
2	73.42	72.78	85.74	85.40	86.60	86.28
3	76.31	75.74	84.57	84.19	86.60	86.28
Ortalama	74.81	74.20	85.21	84.85	86.53	86.21
SD	1.45	1.48	0.60	0.61	0.12	0.13

Literatürde *Primula veris* L. % 70 etanol ekstraktı ile 10 ve 20 çiçek örneği ile yapılan çalışmada sırasıyla DPPH inhibasyon oranları % 86.65±1.11 ve % 88.46±0.11 olarak bulunmuştur. Konsantrasyona bağlı olarak inhibasyon oranının arttığı verilmiştir (Tünde vd., 2015). *Primula* çiçeklerinin ve köklerin ana aktif bileşikleri triterpen saponinlerin yanı sıra fenolik bileşiklerdir, flavonoidler (çiçeklerde yaklaşık% 3), fenolik asitler, ve fenolik glikozitler olduğu literatürde verilmiştir. Sekretolitik ve balgam söktürücü aktivite için saponinlerin sorumlu olduğu buna karşılık, *Primula* çiçeklerinde bulunan fenolik özellikle bileşikler antioksidan, antimikrobiyal ve sitostatik özellikler sorumlu olduğu belirtilmiştir (Demir vd., 2014; Tokalov vd., 2004).

Yapılan çalışmaya göre literatür verileri ile kıyaslama yapıldığında DPPH inhibasyon oranları bakımından *Primula veris* subsp. *columnae* türünün diğer *primula* türlerine göre yüksek olduğu anlaşılmaktadır.

3.3.2. Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Gücü (FRAP) Tayini Verileri

Primula veris subsp. *columnae* türünün çiçek ve yaprak kısımlarından elde edilen metanol ekstaktlarından hazırlanan % 0.04' lük Demir iki sülfat heptahidrat ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) çözeltisinden standartlara göre alınarak, sonuçlar toplam demir indirgeme antioksidan kapasitesi $FeSO_4$ cinsinden mg/g olarak tablo 3.3 ' de verilmiştir.

Tablo 3.3. *Primula veris* subsp. *columnae* çiçek ve yaprak metanol ekstraktı FRAP sonuçları

FRAP	Yaprak $FeSO_4$ cin. mg/g	Çiçek $FeSO_4$ cin. mg/g
Çalışılan Konsantrasyon	% 0.04 Metanol Ekstraktı	
1	162.86	631.61
2	166.88	689.64
3	167.77	711.52
Ortalama	165.83	677.59
SD	2.62	41.30

Primula veris subsp. *columnnae* örneklerinden toplam demir indirgeme antioksidan kapasitesi miktarları çiçek kısmında 677.59 ± 41.30 mg/g ve yaprak kısmında 165.83 ± 2.62 mg/g olduğu tespit edildi. FRAP değerlerine bakıldığında yaprak ve çiçek kısımları ($p < 0.05$) arasında önemli derecede fark vardır.

Bitkilerin birçoğunda fazla miktarda askorbik asit bulunmaktadır. Çiğ olarak tüketilen bu bitkiler çok iyi birer C vitamini kaynağıdır. Askorbik asidin serbest radikal indirgeme özelliğinden dolayı iyi bir antioksidan olarak bilinmektedir (Meos vd., 2017). *Primula veris* L. taze toprak üstü kısımları ile yapılan çalışmada toplam askorbik asit içeriklerinin 118.50 mg/100g olduğu belirlenmiştir. Yapılan aynı çalışmada *Primula veris* L. bitkisinde FRAP değeri 115.09 mg/g FeSO_4 cinsinden tespit edilmiştir (Murathan, 2018).

Primula veris L. bitkisinin kırmızı ve beyaz şaraplara ilave edilmesi ile ilgili yapılan bir çalışmada şaraplarda analiz edilen antioksidant bileşenlerinin her birinde istatistiksel olarak yüksek derecede önemli artışlara sebep olduğu tespit edilmiştir. İlave edilen % 10'luk en yüksek *Primula veris* L. çiçek içeriği, şaraplardaki antosiyaninlerin içeriğini yaklaşık % 80, *Primula veris* L. ilavesi olmayan şaraplara kıyasla flavonol içeriğini 28 kata kadar ve saponin içeriğini, en düşük *Primula veris* L. ilavesiyle kıyasla neredeyse 2.5 kat önemli ölçüde artırmıştır. *Primula veris* L. ilavesi, FRAP, DPPH ve özellikle ABTS yöntemleri kullanılarak belirlenen şaraplarının antioksidan kabiliyetinde istatistiksel olarak yüksek bir iyileşme ile sonuçlanmış ve bu değeri 130 kattan daha fazla artırmıştır (Tarapatsky vd., 2019).

Primula veris subsp. *columnnae* metanol ekstraktın FRAP değerlerini *Primula veris* L. literatürdeki değerleri ile karşılaştırıldığında önemli derecede farklı olduğu özellikle çiçek kısımlarının yüksek derecede demir indirgeme özelliğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Literatürdeki bu çalışmalardan *Primula veris* türlerinin antioksidan özellik gösteren bileşikler bakımından zengin olduğu anlaşılmaktadır.

3.3.3. Toplam Fenolik Madde Tayini Verileri

Primula veris subsp. *columnnae* türünün çiçek ve yaprak kısımlarından elde edilen metanol ekstaktlarından hazırlanan % 0.20' lik fenolik madde miktarları; gallik asidin çözeltisi ile standartlara göre alınarak, kalibrasyon grafiğinin doğru denklemi kullanılarak Gallik asit cinsinden mg/g olduğu tespit edildi. Tablo 3.4' de verilmiştir.

Tablo 3.4. *Primula veris* subsp. *columnnae* çiçek ve yaprak metanol ekstraktı toplam fenolik madde sonuçları

Toplam Fenolik Madde	Yaprak Gallik asit mg/g	Çiçek Gallik asit mg/g
Çalışılan Konsantrasyon	% 0.20 Metanol Ekstraktı	
1	38.57	80.96
2	39.02	78.43
3	37.68	76.49
Ortalama	38.43	78.62
SD	0.68	2.25

Literatürde *Primula veris* ile yapılan çalışmada tanımlanan fenolik bileşikler, özellikle hiperosid, primverin ve primulaverin, *Primula* türlerinin tanımlanmasında kimyasal belirteç olarak belirtilmiştir (Bdczek vd., 2017 *Primula veris* L. ile yapılan toplam fenolik madde çalışmasında 1.73 ± 0.16 mg/g olarak tespit edilmiştir.). Yapılan bir çalışmada farklı *Primula veris* L. ekstraktlarının toplam fenolik madde içeriklerinin sırasıyla 5.10 ile 17.30 mg/g değerleri arasında olduğunu tespit etmişlerdir (Rudhani vd., 2017). Yapılan çalışmada toplam fenolik madde çiçek kısmında 78.62 ± 2.25 Gallik asit cinsinden mg/g, yaprak kısmında ise 38.43 ± 0.68 olarak bulunmuştur. Yaprak ve çiçek kısmında toplam fenolik madde bakımından önemli derecede fark ($p < 0.05$) olduğu tespit edilmiştir.

Primula veris subsp. *Columnnae* metanol ekstraktın fenolik madde bakımından literatürdeki *Primula veris* L. bitkisinin değerlerine bakıldığında önemli derecede farklı olduğu ve buradan anlaşılacağı üzere fenolik içerik bakımından *Primula veris* subsp. *columnnae* bitkisinin oldukça zengin olduğu söylenebilir.

3.3.4. Toplam Antioksidan Madde Tayini Verileri

Primula veris subsp. *columnae* türünün çiçek ve yaprak kısımlarından elde edilen metanol ekstaktlarından % 0.20' lik numuneler Askorbik asit standartlarına göre hazırlanarak, kalibrasyon grafiğinin doğru denklemi kullanılarak toplam antioksidan madde çiçek kısmına ait sonuçlar tablo 3.5' de verilmiştir.

Tablo 3.5. *Primula veris* subsp. *columnae* çiçek ve yaprak metanol ekstraktı toplam antioksidan madde sonuçları

Toplam Antioksidan Madde	Yaprak A.A. mg/g	Çiçek A.A. mg/g
Çalışılan Konsantrasyon	% 0.20 Metanol Ekstraktı	
1	70.38	121.85
2	81.24	121.24
3	72.27	138.07
Ortalama	74.63	127.05
SD	5.80	9.55

Primula veris L., Primulaceae familyasının bir bitki türüdür. Literatür verilerine göre, primulik asit 1 dahil olmak üzere saponinler (yaklaşık% 60), ayrıca çok sayıda flavonoid bileşiği ve flavonol, yani rutin, kateşin, kaempferol ve luteolin bakımından zengin bir bitkisel bitki olduğu bildirilmiştir (Colombo vd., 2017; Okrslar vd., 2007).

Yapılan farmakolojik çalışmalarda, *Primula* cinsinin ekstraktlarının saponinler ve fenolik glikozitler açısından zengin olduğunu tespit edilmiştir (Gamze vd., 2008). *Primula veris* L. fenolik ve flavonoid bileşiklerin kaynağıdır. Rutoside bakımından zengin olduklarından çok sayıda farmakolojik hiperosid aktiviteler, yani anti-enflamatuar, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteler yönünden etki göstermektedirler (Gamze vd., 2008). *Primula veris* L. türlerinin antioksidan kapasite bakımından zengin olduğu anlaşılmaktadır. Yapılan çalışmada çiçek kısmında 127.05 ± 9.55 mg/g, yaprak kısmında

ise 74.63±5.80 mg/g olduğu tespit edildi. Yaprak ve çiçek kısmında toplam antioksidan madde bakımından önemli derecede fark ($p<0.05$) olduğu tespit edilmiştir.

3.3.5. Toplam Flavanoid Madde Tayini Verileri

Primula veris subsp. *columnae* türünün çiçek ve yaprak kısımlarından elde edilen metanol ekstaktlarından % 0.2' lik numuneler kateşin asit standartlarına göre hazırlanarak, flavanoid madde kalibrasyon grafiğinin doğru denklemi kullanılarak kateşin cinsinden mg/g olduğu tespit edildi. Tablo 3.6' de verilmiştir.

Tablo 3.6. *Primula veris* subsp. *columnae* çiçek ve yaprak metanol ekstraktı toplam flavanoid madde sonuçları

Toplam Fenolik Madde	Yaprak Kateşin mg/g	Çiçek Kateşin mg/g
Çalışılan Konsantrasyon	% 0.20 Metanol Ekstraktı	
1	1.01	1.91
2	0.99	2.03
3	0.98	1.95
Ortalama	1.00	1.96
SD	0.01	0.06

Yapılan bir çalışmada farklı *Primula veris* L. ekstraktlarının toplam toplam flavanoid madde içeriklerinin sırasıyla 12.15 ile 31.43 mg/g değerleri arasında olduğunu tespit etmişlerdir (Rudhani vd., 2017). Yine başka bir çalışmada *Primula veris* L. 0.23±0.03 mg/g olarak bulunmuştur (Murathan, 2018). Literatürde *Primula veris*'in yaprak, kök ve çiçeklerinin çeşitli sağlık özelliklerine sahip olduğu uzun zamandan beri halk arasında bilinmektedir. Bu nedenle halk arasında idrar atıcı, antimikrobiyal, antifungal, sedatif, iltihap giderici ve balgam çıkarıcı olarak kullanılmaktadır. Bitki aynı zamanda çiçeklerinde ve köklerinde fenolik asitler ve flavanoidler bakımından zengin olduğundan, bronşit, öksürük ve nezleye karşı kullanılmaktadır (Gamze vd., 2008).

Yapılan çalışmada çiçekte 1.96 ± 0.06 mg/g, yaprak kısmında ise 1.00 ± 0.01 mg/g olduğu tespit edildi. Yaprak ve çiçek kısmında toplam flavanoid madde bakımından önemli derecede fark ($p < 0.05$) olduğu tespit edilmiştir.

Avrupa'da Çuha çiçeği (*Primula veris* L.) sadece geleneksel tıptaki uygulamaları ile sınırlı değildir; gıdalarda katkı maddesi olarak da kullanılmaktadır. Bu geleneksel bitki ürünü, birçok Orta Avrupa ülkesinde bitkisel preparatlarda ve farmasötik formülasyonlarda yaygın olarak kullanılmaktadır ve biyolojik ve farmakolojik aktivitesi, hem bilimsel hem de tıbbi literatürde doğrulanmıştır. Çuha çiçeği (*Primula veris* L.) Avrupa ve Asya'da yabani olarak büyüyen *Primulaceae* familyasından küçük, uzun ömürlü. Bu türün uzun süreli tıbbi kullanım öyküsü vardır. Avrupa Farmakopesinin mevcut sayısında, farmakolojik uygulamalar için biyoaktif maddelerin elde edildiği *Primula* kökü kaynağı olarak listelenmiştir. Bununla birlikte, İngiliz Bitkisel Farmakopesinde ve aynı zamanda Farmakope Frankaise 'da, sadece *Primula veris* L., idrar söktürücü, antimikrobiyal, antifungal ve yatıştırıcı etkiler, mukoaktif, anti-inflamatuar ile farmasötik ve sağlık öncesi preparatların üretimi için bir hammadde kaynağı olarak listelenmiştir (Tarapatsky vd., 2019).

Yapılan çalışmada *Primula veris* subsp. *columnae* bitkisi genel olarak literatür verileri ile karşılaştırıldığında antioksidan özelliklerinin oldukça yüksek olduğu söylenebilir.

3.4. *Primula veris* subsp. *columnae* (Tutya, Çuha çiçeği) Bitkisinin Çiçek ve Yapraktan elde edilen Uçucu Yağ Bileşenlerine Ait GC/MS ve GC/FID Analiz Sonuçları

GC/MS ve GC/FID analizi sonucunda, *Primula veris* subsp. *columnae*' nin çiçeklerine ait toplam 62 adet bileşiğin yapısı aydınlatılırken 3 adet bileşik tanımlanamadı. *Primula veris* subsp. *columnae*' nin yapraklarına ait toplam 50 adet bileşiğin yapısı aydınlatılırken 4 adet bileşik belirlenemedi.

Primula veris subsp. *columnae* (Tutya, Çuha çiçeği) bitkisinin uçucu yağında bulunup yapısı aydınlatılan bileşiklerin sırasıyla isimleri, toplam numune içindeki yüzde oranları (%M), alıkonma indeksleri (RI) ve literatür alıkonma indeksleri (LRI/MS), *Primula veris* subsp. *columnae* (Tutya, Çuha çiçeği) bitkisini aksamalarında (çiçek ve yaprak) sırasıyla belirlendi.

Yapısı aydınlatılan bileşiklerin, GC/MS analizi ile elde edilen kütle spektrumlarının, cihaz veri tabanında bulunan NIST ve WILEY kütüphanelerindeki kütle spektrumları ile karşılaştırılarak belirlendi.

NIST ve WILEY kütüphanelerindeki karşılaştırmalarında bileşiklerin benzeşme oranı %80 ve üzerinde olanlar dikkate alınarak, bu oranın altında kalanlar bilinmeyen olarak kabul edildi. Yapısı bilinmeyen bileşiklere ait kütle/yük (m/z) oranları bitki aksamalarında sırasıyla gösterildi. Kütüphanede tespit edilen oranlara göre bileşiklerin doğrulanması için, bileşiklerin literatür alikonma indeksleri ile bulunan bileşiklere ait alikonma indeksleri karşılaştırıldı. İndekslerin hesaplanmasında Sigma-Aldrich C₆-C₃₂ karbon sayılı doymuş alkan standardı ile hidrokarbonların aynı cihazdaki analizlerinin sonuçlarından faydalanılarak, yüzde oranları ise FID analizi sonucunda tespit edildi.

3.4.1. *Primula veris* subsp. *columnae* (Tutya, Çuha çiçeği) Bitkisinin Çiçeklerinden elde edilen Uçucu Yağ Bileşenlerine Ait GC/MS ve GC/FID Analiz Sonuçları

Primula veris subsp. *columnae* (Tutya, Çuha çiçeği) bitkisinin çiçeklerinden elde edilen uçucu yağın GC/MS ve GC/FID analiz sonuçları Tablo 3.7.'de gösterilmiştir.

Tablo 3.7. *Primula veris* subsp. *columnae* (Tutya, Çuha çiçeği) bitkisinin çiçeklerinden elde edilen uçucu yağın GC/MS ve GC/FID analiz sonuçları

No	Bileşikler	Bileşik Sınıfı	PcÇ	RI	LRI/ MS	Kaynak
			% M			
1	Toluen	Hidrokarbon	0,05	765	765	a
2	2-Hegzanon	Keton	0,15	789	789	a
3	Hegzanal	Aldehid	0,26	801	801	a
4	Heptanal	Aldehid	0,05	902	902	a
5	α -Pinen	Monoterpen	0,09	933	933	a
6	Benzaldehid	Aldehid	0,47	960	960	a
7	β -pinen	Monoterpen	0,11	977	977	a
8	1-Okten-3-ol	Alkol	0,09	980	980	a
9	4-Karen	Monoterpen	0,04	1011	1011	a
10	p-Simen	Monoterpen	0,12	1025	1025	a
11	Limonen	Monoterpen	2,23	1029	1029	a
12	γ -Terpinen	Monoterpen	0,41	1060	1060	a
13	1-Oktanol	Alkol	0,05	1067	1067	a
14	α - Terpinolen	Monoterpen	0,03	1089	1089	a

Tablo 3.7. (Devamı)

No	Bileşikler	Bileşik Sınıfı	PcÇ	RI	LRI/	Kaynak
			% M		MS	
15	β -Linalool	Monoterpenoid	1,10	1101	1101	a
16	Nonanal	Aldehid	0,29	1105	1105	a
17	(E,E)-2,6-Nonadienal	Aldehid	0,03	1154	1153,1	a
18	o-Asetilfenol	Diğer	0,04	1164	1167	a
19	1-Nonanol	Alkol	0,06	1172	1172	a
20	Terpinen-4-ol	Monoterpenoid	0,04	1179	1179	a
21	Naftalen	Hidrokarbon	0,10	1185	1184	a
22	Metil salisilat	Ester	0,58	1196	1196	a
23	Dekanal	Aldehid	0,06	1206	1206	a
24	D-Karvon	Monoterpenoid	0,16	1247	1246	a
25	cis-Geraniol	Monoterpenoid	0,08	1256	1255	a
26	Timol	Monoterpenoid	0,10	1295	1295	a
27	Karvakrol	Monoterpenoid	0,04	1304	1304	a
28	(E,E)-2,4-Dekadienal	Aldehid	0,15	1318	1318	a
29	Eugenol	Diğer	0,23	1360	1360	a

Tablo 3.7. (Devamı)

No	Bileşikler	Bileşik Sınıfı	PcÇ	RI	LRI/	Kaynak
			% M		MS	
30	α -Kopaen	Seskiterpen	0,05	1413	1416	a
31	Aromadendren	Seskiterpen	0,11	1436	1436	a
32	Metil 2,6-dihidroksi-4-metil benzoat	Ester	12,23	1447	1474	a
33	Humulen	Seskiterpen	0,20	1460	1460	a
34	Tetradekan, 4,11-dimetil	Hidrokarbon	2,07	1465	1464,4	a
35	Metil 4-metoksialisilat	Ester	37,12	1488	1490	a
36	2-Tridekanon	Keton	0,09	1497	1497	a
37	Valensen	Seskiterpen	0,20	1499	1499	a
38	β -Bisabolen	Seskiterpen	0,06	1512	1512	a
39	Dodekanoik asid metil ester	Ester	0,54	1525	1525	a
40	cis-Kalamenen	Seskiterpen	0,07	1529	1529	a
41	Selinen	Seskiterpen	0,13	1555	1534	a
42	2-Tetradekanon	Keton	0,27	1562	1569	a
43	Dodekanoik asid	Organik asit	0,70	1570	1570	a
44	Benzofenon	Keton	0,08	1633	1634	a

Tablo 3.7. (Devamı)

No	Bileşikler	Bileşik Sınıfı	PcÇ	RI	LRI/	Kaynak
			% M		MS	
45	Tetradekanoik asid metil ester	Ester	0,08	1725	1725	a
46	Tetradekanoik asid	Organik asit	0,26	1764	1764	a
47	Hegzahidrofarnesil aseton	Terpen benzeri	2,30	1847	1847	a
48	Benzoik asid, 2-hidroksi-fenilmetil ester	Ester	0,09	1875	1876	a
49	Nonadekan	Hidrokarbon	0,16	1899	1900	a
50	Hegzadekanoik asid metil ester	Ester	0,31	1927	1927	a
51	2-Metilnonadekan	Hidrokarbon	0,27	1963	1966	a
52	Palmitik asid	Organik Asit	0,24	1969	1969	a
53	Eikosan-2metil	Hidrokarbon	0,23	2063	2063	a
54	Linoleik asid metil ester	Ester	0,13	2096	2096	a
55	Heneikosan	Hidrokarbon	2,07	2100	2100	a
56	Fitol	Diterpenoid	0,26	2114	2114	a
57	Metil stearat	Ester	0,43	2128	2128	b
58	Linoleik asid etil ester	Ester	0,08	2141	2144	a
59	3-Metil heneikosan	Hidrokarbon	0,32	2172	2172	a

Tablo 3.7. (Devamı)

No	Bileşikler	Bileşik Sınıfı	PcÇ	RI	LRI/	Kaynak
			% M		MS	
60	Dokosan	Hidrokarbon	3,10	2200	2200	a
61	4-metildokosan	Hidrokarbon	0,22	2261	2261	a
62	Trikosan	Hidrokarbon	23,52	2307	2300	a

%M: Numune içerisindeki % oranı

RI: Alıkonma indeksi (C₆-C₃₂) karbon sayılı hidrokarbonlar standart olarak alındı, GC-MS şartları: Apolar HP-5 kolon, 30. m/0.32 mm/0.25 µm, He, 3. K/min; T_{start}: 60. °C; T_{end}: 230. °C

LRI: Literatür alıkonma indeksi

MS: NIST ve Willey kütüphaneleri

a: NIST'den b: Adams 2004'den

Tablo 3.7.'de görüldüğü gibi *Primula veris* subsp. *columnae* (Tutya, Çuha çiçeği) bitkisinin çiçeklerinden elde edilen bileşikler sırasıyla; (1) Toluen (2), 2-Hegzanon (3), Hegzanal (4), Heptanal (5), α -Pinen (6), Benzaldehid (7), β -pinen (8), 1-Okten-3-ol (9), Karen (10), p-Simen (11), Limonen (12), γ -Terpinen (13), 1-Oktaol (14), α - Terpinolen (15), Beta-linalool (16), Nonanal (17), 2,6-Nonadienal,(E,E)- (18), o-Asetilfenol (19), 1-Nonanol (20), Terpinen-4-ol (21), Naftalen (22), Metil salisilat (23), Dekanal (24), cis-Geraniol (25), D-Karvon (26), Timol (27), Karvakrol (28), 2,4-Dekadienal, (E,E)- (29), Eugenol (30), α -Kopaen (31), Aromadendiren (32), Metil 2,6-dihidroksi-4-metilbenzoat (33), Humulen (34), Tetradekan,4,11-dimetil (35), Metil 4-methoksisalisilat (36), 2-Tridekanon (37), Valensen (38), β -Bisabolen (39), Dodekanoik asid, metil ester (40), cis-kalamenen (41), Selinenen (42), 2-Tetradekanon (43), Dodekanoik asid (44), Benzofenon (45), Metil tetradekanoat (46), Tetradekanoik asid (47), Hegzahidrofarnesil aseton (48), Benzoik asid 2-Hidroksi-fenilmetil ester (49), Nonadekan (50), Hegzadekanoik asid, metil ester (51), 2-metilnonadekan (52), Palmitik asid (53), Eikosane,2-metil (54), Linoleik asid, metil ester (55), Heneikosan (56), Fitol (57), Metil stearat (58), Linoleik asid etil ester (59), 3-Metilheneikosan (60), Dokosan (61), 4-metildokosan (62), Trikosan'dır.

3.4.2. *Primula veris* subsp. *columnae* (Tutya, Çuha çiçeği) Bitkisinin Yapraklarından elde edilen Uçucu Yağ Bileşenlerine Ait GC/MS ve GC/FID Analiz Sonuçları

Primula veris subsp. *columnae* (Tutya, Çuha çiçeği) bitkisinin yapraklarından elde edilen uçucu yağın GC/MS ve GC/FID analiz sonuçları Tablo 3.8.'de gösterilmiştir.

Tablo 3.8. *Primula veris* subsp. *columnae* (Tutya, Çuha çiçeği) bitkisinin yapraklarından elde edilen uçucu yağın GC/MS ve GC/FID analiz sonuçları

No	Bileşikler	Bileşik Sınıfı	PcY	RI	LRI/ MS	Kaynak
			% M			
1	2,5-Dimetiltetrahidrofuran	Eter	0,05	713	727	a
2	Tropilidin	Hidrokarbon	0,09	765	765	a
3	2-Hegzanon	Keton	0,21	789	789	a
4	Hegzanal	Aldehid	0,15	801	801	a
5	α -Pinen	Monoterpen	0,38	933	935	a
6	Benzaldehid	Aldehid	0,24	960	960	a
7	β -Pinen	Monoterpen	0,37	976	976	a
8	1-Okten-3-ol	Alkol	0,07	979	979	a
9	o-Simen	Monoterpen	0,33	1025	1025	a
10	Limonen	Monoterpen	5,76	1029	1032	a
11	Benzenasetaldehid	Aldehid	0,11	1044	1044	a
12	γ -Terpinen	Monoterpen	1,09	1059	1059	a
13	1-Oktanol	Alkol	0,04	1071	1071	a
14	α - Terpinolen	Monoterpen	0,09	1089	1089	a
15	β -Linalool	Monoterpenoid	1,04	1101	1101	a
16	Nonanal	Aldehid	0,21	1105	1105	a
17	o-Asetilfenol	Diğer	0,15	1164	1167	a
18	1-Nonanol	Alkol	0,26	1172	1172	a
19	Terpinen-4-ol	Monoterpenoid	0,28	1179	1179	a
20	Naftalen	Hidrokarbon	0,26	1184	1184	a

Tablo 3.8. (Devamı)

No	Bileşikler	Bileşik Sınıfı	PcY	RI	LRI/	Kaynak
			%M		MS	
22	Nerol	Monoterpenoid	0,20	1230	1230	a
23	Karvon	Monoterpenoid	0,39	1246	1246	a
24	Timol	Monoterpenoid	0,20	1294	1294	a
25	Karvakrol	Monoterpenoid	0,10	1304	1304	a
26	Eugenol	Diğer	0,38	1360	1360	a
27	Difenil eter	Eter	0,05	1404	1396	a
28	Metilleugenol	Diğer	0,08	1406	1406	a
29	Metil 2,6-dihidroksi-4-metil benzoat	Ester	3,41	1446	1474	a
30	Neril aseton	Terpen benzeri	0,07	1455	1455	a
31	Humulen	Seskiterpen	0,06	1459	1459	a
32	Tetradekan,4,11-dimetil	Hidrokarbon	0,73	1462	1464,4	a
33	Metil 4-metoksisalisilat	Ester	7,49	1471	1490	a
34	Valensen	Seskiterpen	0,55	1498	1499	a
35	Dodekanoik asid, metil ester	Ester	0,24	1525	1525	a
36	2-Tridekanon	Keton	0,28	1561	1527	a
37	Dodekanoik asid	Organik asit	0,70	1568	1568	a
38	Benzofenon	Keton	0,17	1633	1635	a
39	Tetradekanoik asid	Organik asit	0,65	1766	1766	a
40	Hegzahidrofarnesil aseton	Terpen benzeri	0,79	1846	1846	a
41	Hegzadekanoik asid, metil ester	Ester	0,29	1927	1927	a
42	Hegzadekanoik asid	Organik Asit	9,78	1976	1976	a
43	Nonadekan	Hidrokarbon	0,16	1998	2000	a

Tablo 3.8. (Devamı)

No	Bileşikler	Bileşik Sınıfı	PcY	RI	LRI/	Kaynak
			%M		MS	
45	Linoleik asid, metil ester	Ester	0,28	2096	2096	a
46	Heneikosan	Hidrokarbon	0,34	2099	2100	a
47	Metil stearat	Ester	0,10	2128	2128	a
48	Linoleik asid	Organik asit	40,08	2161	2159	a
49	Dokosan	Hidrokarbon	0,43	2200	2200	a
50	Trikosan	Hidrokarbon	14,10	2302	2300	a

%M: Numune içerisindeki % oranı,

LRI: Literatür alıkonma indeksi

RI: Alıkonma indeksi (C₆-C₃₂) karbon sayılı hidrokarbonlar standart olarak alındı,

GC-MS şartları: Apolar HP-5 kolon,

30. m/0.32 mm/0.25 µm, He, 3. K/min; T_{start}: 60. °C; T_{end}: 230. °C,

a: NIST'den, b: Adams 2004'den

Tablo 3.8.'de görüldüğü gibi *Primula veris* subsp. *columnae* (Tutya, Çuha çiçeği) bitkisinin yapraklarından elde edilen bileşikler sırasıyla; (1) 2,5 Dimetiltetrahidrofuran (2), Tropilidin (3), Hegzanon (4), Hegzanal (5), α -Pinen (6), Benzaldehid (7), β -pinen (8), 1-Okten-3-ol (9), o-Simen (10), Limonen (11), Benzenasetaldehid (12), γ -Terpinen (13), 1-Oktnol (14), α - Terpinolen (15), Linalool (16), Nonanal (17), o-Asetilfenol (18), 1-Nonanol (19), Terpinen-4-ol (20), Naftalen (21), Metil salisilat (22), Nerol (23), Karvon (24), Timol (25), Karvakrol (26), Eugenol (27), Difenil eter (28), Metileugenol (29), Metil 4-methoksisalisilat (30), Neril aseton (31), Humulen (32), Tetradekan,4,11-dimetil (33), Metil 4-methoksisalisilat (34), Valensen (35), Dodekanoik asid, metil ester (36), 2-Tridekanon (37), Dodekanoik asid (38), Benzofenon(39), Tetradekanoik asid (40), Hegzahidrofarneşil aseton (41), Hegzadekanoik asid, metil ester (42), Palmitik asid (43), Nonadekan (44), 9,12,15-Oktadekatrienoik asid, metil ester (45), Linoleik asid, metil ester (46), Heneikosan (47), Metil stearat (48), Linoleik asid (49), Dokosan (50), Trikosan'dır.

3.5. *Primula veris* subsp. *columnae* (Tutya, Çuha çiçeği) Bitkisinin Yaprak ve Çiçeklerinden Elde Edilen Uçucu Yağ Miktarlarının Karşılaştırılması

2019 yılında toplanan Tutya, Çuha çiçeği (*Primula veris* subsp. *columnae*) ait incelenen çiçek ve yaprak örneklerindeki uçucu yağ miktarları, ağırlık oranı Tablo 3.9'da gösterilmiştir.

Tablo 3.9. Tutya, Çuha çiçeği (*Primula veris* subsp. *columnae*) ait incelenen çiçek ve yaprak örneklerindeki uçucu yağ miktarları

Örnek Adı	Hacim μ L	Hammadde g	Miktar mg	%Uçucu Yağ
Çiçek	1000	80	276,00	0,33
Yaprak	1000	100	123,70	0,12

Tablo 3.9'da verildiği gibi toplanan çiçek ve yapraklarda tespit edilen uçucu yağ miktar ve yüzde oranı karşılaştırıldığında çiçekteki uçucu yağ miktar ve oranının daha fazla olduğu belirlenmiştir.

Vuko vd. (2017) Hırvatistan'da, 2011 yılında topladıkları *Primula veris* var. *columnae* yaprak, kök ve çiçekleri ile yaptıkları araştırmada toplam uçucu yağ verimini numunelerin kuru ağırlığına göre % 0.03 olduğunu tespit etmişlerdir.

Bitki içerik analizleri hakkında literatürde başka herhangi bir alısmaya rastlanmamıştır.

Yapısı aydınlatılan sınıflar, içerdikleri bileşik sayısı ve ana bileşenleri ile birlikte bitkilere göre düzenlenerek Tablo 3.10’da gösterilmiştir.



Tablo 3.10. *Primula veris* subsp. *columnae* çiçek ve yapraklarında bulunan bileşiklerin kimyasal sınıflandırılması

Bileşik Sınıfı	Çiçek				Yaprak			
	% Miktar	Bileşik Sayısı	Ana Bileşen	% Oranı	% Miktar	Bileşik Sayısı	Ana Bileşen	% Oranı
Ketonlar	0,59	4	2-Tetradekanon	0,27	0,66	3	2-Tridekanon	0,28
Aldehidler	1,31	7	Benzaldehid	0,47	0,71	4	Benzaldehid	0,24
Alkoller	0,20	3	1-Okten-3-ol	0,09	0,37	3	1-Nonanol	0,26
Esterler	51,59	10	Metil 4-metoksisalisilat	37,12	12,74	8	Metil 4-metoksisalisilat	7,49
Asitler	1,20	3	Dodekanoik asid	0,70	51,21	4	Linoleik asid	40,08
Hidrokarbonlar	32,11	11	Trikosan	23,52	16,11	7	Trikosan	14,10
Monoterpenler	3,03	7	Limonen	2,23	8,02	6	Limonen	5,76
Monoterpenoidler	1,52	6	β -Linalool	1,10	2,21	6	β -Linalool	1,04
Seskiterpenler	0,82	7	Valensen	0,20	0,61	2	Valensen	0,55
Diterpenoidler	0,26	1	Fitol	0,26				
Terpen benzeri	2,30	1	Hegzahidrofarnesil aseton	2,30	0,86	2	Hegzahidrofarnesil aseton	0,79
Diğerleri	0,27	2	Eugenol	0,23	0,71	5	Eugenol	0,38
Bilimeyenler	3,52	3			3,66	4		
Toplam	98,72	62+3			97,87	50+4		

Tablo 3.10 incelendiğinde toplanan çiçek ve yaprak uçucu yağ analizlerinde elde edilen sonuçların benzer olduğunu söylenebilir.

Yapısı aydınlatılan 62 adet bileşiğin *Primula veris* subsp. *columnae* çiçeklerinden toplanan örneklerine; 50 tanesi ise *Primula veris* subsp. *columnae* yaprak örneklerine ait olup, toplam numunenin sırasıyla %95.20 ve %94.21'ini oluşturmaktadır. Yapısı aydınlatılmayan bileşik sayısı çiçek uçucu yağında 3 tane iken, yaprak uçucu yağında ise 4 adet olup sırasıyla %3.52 ve %3.66'lık oranları bulunmaktadır. Çiçeklerin uçucu yağının analizi sonucu aydınlatılan bileşik sayısı ve bu bileşiklerin toplam numune içindeki yüzdelere yaprak uçucu yağ örneklerinden daha fazla bulunduğu söyleyebilir.

Primula veris subsp. *columnae* çiçeklerinden izole edilen uçucu yağlardaki ana bileşiklerin, Metil 4-metoksisalisilat (%37.12), trikosan (%23.52), Metil 2,6-dihidroksi-4-metil benzoat (%12.23), Dokosan (%3.10), olduğu belirlenmiştir. Çiçek uçucu yağında en fazla bulunan ana bileşik Metil 4-metoksisalisilat olmuştur.

Primula veris subsp. *columnae* yapraklarından izole edilen uçucu yağlardaki ana bileşiklerin, Linoleik asid (%40.08), trikosan (%14.10), Metil 4-metoksisalisilat (%7.49), Hegzadekanoik asid (%9.87), Limonen (%5.76), olduğu belirlenmiştir. Yaprak uçucu yağında en fazla bulunan ana bileşik Linoleik asid tespit edilmiştir.

Yapılan analiz sonucunda çiçek örneklerinde yapıları aydınlatılan 62 adet bileşik 12 grupta sınıflandırılmıştır. Bu sınıflardan tespit edilenler ve içerdikleri bileşik sayısı sırasıyla ketonlar 4, aldehidler 7, alkoller 3, esterler 10, asitler 3, hidrokarbonlar 11, monoterpenler 7, monoterpenoidler 6, seskiterpenler 7, terpen benzeri bileşikler 1, diterpenoidler 1 ve diğerleri de 2 adet olarak belirlenmiştir.

Yapılan analiz sonucunda yaprak örneklerinde yapıları aydınlatılan 50 adet bileşik 11 grupta sınıflandırılmıştır. Yaprak örneklerinde tespit edilen sınıflar ise sırasıyla ketonlar 3, aldehidler 4, alkoller 3, esterler 8, asitler 4, hidrokarbonlar 7, monoterpenler 6, monoterpenoidler 6, seskiterpenler 2, terpen benzeri bileşikler 2 ve diğerleri de 5 adet şeklinde bulunmuştur. Çiçek uçucu yağ örneklerinde bileşik sayısı en fazla bileşik olan sınıf 11 adet ile hidrokarbonlar olurken, yaprak uçucu yağ örneklerinde 8 adet bileşik ile esterler olmuştur.

Primula veris subsp. *columnae* bitkisinin çiçek uçucu yağ analiz sonucunda % miktar olarak en fazla bulunan kimyasal sınıf, %51.59 ile esterler, yaprak uçucu yağ analizinde ise %51.21 ile asitler olmuştur.

Çiçek uçucu yağ örneklerinde 21 adet bileşik ve %5.63'lik mikar terpen sınıfı bileşikler tespit edilirken, en büyük terpen sınıfının monoterpenler (%3.03) olduğu belirlenmiştir. Yaprak uçucu yağ örneklerinde ise 14 adet bileşik ve %10.84'lik mikar terpen sınıfı bileşikler tespit edilirken, en büyük terpen sınıfının çiçekte olduğu gibi yine monoterpenler (%8.02) olduğu tespit edilmiştir.

Vuko vd. (2017) Hırvatistan'da, 2011 yılında topladıkları *Primula veris* var. *columnae* yaprak, kök ve çiçekleri ile yaptıkları araştırmada tanımlanan uçucu yağ bileşenlerinin 28 adet bulunduğunu bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada tespit edilen bileşenlerin oranının %87.7, uçucu yağda bulunan ana bileşenlerin ise Metil 4-methoksisalisilat (%17.2), pentakosan (%42.9) ve benzoik asid, 2-hidroksi-metil ester (%6.7) olduğunu rapor etmişlerdir.

Vitalini vd. (2011) yılında *Primula spectabilis* çiçek ve yapraklarının katı faz mikroekstraksiyonu (SPME) ile yaptıkları çalışmada Çiçeklerin çevresindeki 54 bileşen, yapraklarda ise 37 bileşenin tespit edildiğini, tanımlanan bileşenlerin miktar olarak çiçekte % 97.6'sını, yaprakta ise % 96.2'sini oluşturduğu belirtmiştir.

Güneş (2016) *Primula vulgaris* HUDS. subsp. *sibthorpii* bitkisinin çiçek ve yaprak kısımlarından destilasyon ve ekstraksiyon ile elde edilen esansiyel yağ ve kloroform ekstraktları ile yaptığı yüksek lisans tez çalışmasında, çiçek kısmından elde edilen esansiyel yağın ham karışımının %94.30'unu, yaprak kısmından elde edilen esansiyel yağın ham karışımının %95.90'ını, oluşturduğunu belirtmiştir. Çiçek esansiyel yağın ana bileşenleri Trikosan (%37.03) ve Hekzadekanoik asit (%16.13) olurken, yaprak esansiyel yağın ana bileşenlerinin ise Trikosan (%10.72) ve Hekzadekanoik asit (%27.63) olduğunu ifade etmiştir.

Yaylı vd. (2016) *Primula vulgaris* Huds. subsp. *vulgaris* (Pvv) and *P. vulgaris* Huds. subsp. *sibthorpii* (Pvs) ile yaptıkları çalışmada *Primula vulgaris* Huds. subsp. *vulgaris* uçucu yağ ana bileşeni yüksekliğe (300-2100 m) bağlı olarak, metil-4-metoksi salisilat (% 4.5-35.3), (Z, Z, Z) -7,10,13-heksadekatrienal (% 5.1-21.8), flavon (% 5.5-14.9), dokosan (0.7- % 18.9), trikosan (% 2.6-10.7) ve tetrakosan (% 9.1-19.7) olduğunu bildirmiştir. Aynı çalışmada *P. vulgaris* Huds. subsp. *sibthorpii* uçucu yağ ana bileşikler rakıma (100-1300 m) bağlı olarak metil-4-metoksi salisilat (% 3.2-37.2), flavon (% 1.6-18.0), dokosan (% 2.4-11.4), trikosan (% 3.9-12.1), tetrakosan (% 4.0-12.5) ve pentakosanlar (% 2.3-10.0) olduğunu bildirmişlerdir.

Primula obconica ile yapılan bir başka çalışmada Nan vd. (2002) Çin’de, 1998 yılında topladıkları *Primula obconica* yaprak, gövde ve çiçekleri ile yaptıkları araştırmada tanımlanan 43 adet uçucu yağ bileşeni tespit etmişlerdir. Yapılan çalışmada tanımlanan bileşenlerin oranının %93.49, olduğu belirtilirken, uçucu yağda bulunan ana bileşenlerin ise metil 2,4-dihidroksi-5-metil benzoat (% 30.41), metil 2,6-dihidroksi-4-metil benzoat (% 29.27), hipnon (% 8.92) ve metil salisilat (3.04%) olduğunu belirtmişlerdir.

Yapılan çalışma sonucunda *Primula veris subs. columnae* türünde metil-4-methoksisalisilat bileşiğinin (çiçekte %37.12, yaprakta %7.49), trikosan bileşiğinin (çiçekte %23.52, yaprakta %14,10) olduğu, çiçek ana bileşiğinin metil 4-methoksisalisilat ve yaprak ana bileşiğinin linoleik asit olduğu tespit edilmiştir. Vuko vd. (2017) yılında yaptıkları aynı türe ait olan çalışmada metil-4-methoksisalisilat bileşiğinin %17,2 olarak bulunduğu görülmüş olup buna göre yapılan çalışmanın literatür verilerine göre yüzde olarak yüksek olduğu söylenebilir. Güneş (2016) *Primula vulgaris* HUDS. subsp. *sibthorpii* bitkisinin çiçek ve yaprak kısımlarında yaptığı çalışmaya göre ise trikosanın %37.13 olarak bulunduğu görülmüş olup buna göre yapılan çalışmanın literatür verilerine göre yüzde olarak düşük olduğu anlaşılmaktadır.

3.6. *Primula veris* subsp. *columnae* (Tutya, Çuha çiçeği) Bitkisinin Çiçek ve Yapraklarından elde edilen Uçucu Yağ ve Metanol Ekstraktlarının Antimikrobiyal Test Sonuçları

Primula veris subsp. *columnae* (Tutya, Çuha çiçeği) bitkisinin 2019 yılında toplanan çiçek ve yaprak aksamlarından ekstrakte edilen uçucu yağ ve metanol ekstraktlarının farklı konstrasyonlarda (%100, %50, %25, %10) kullanılarak, antimikrobiyal aktivite tayini agar difüzyon yöntemi ile 17 farklı mikroorganizmaya karşı belirlendi (Sağdıç vd., 2011).

Antimikrobiyal aktivite tayini için *Aeromonas hydrophila* ATCC 7965, *Bacillus cereus* ATCC 33019, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047, *Escherichia coli* ATCC 11230, *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 33150, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Proteus vulgaris* ATCC 13319, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 17853, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 2592, olmak üzere 12 bakteri ile *Saccharomyces cerevisiae*,

ATCC 4126, Candida albicans ATCC 32354, Aspergillus niger ATCC 20611, Aspergillus flavus ATCC 9807 ve Penicillium ATCC 74414 olmak üzere 5 maya-küf suşu kullanıldı.

Çiçeklerin ve yaprakların uçucu yağları üzerinde yapılan antimikrobiyal aktivite testinde bunlardan sadece çiçek uçucu yağının *Escherichia coli* bakterisine karşı zayıf aktivite gösterdiği bunun dışında herhangi bir antifungal ve antibakteriyel aktivite göstermediği belirlendi. Analizde kullanılan çiçek uçucu yağın sadece %100 konsantrasyonunda test mikroorganizmalarından 1 tanesine karşı zayıf inhibite gösterdiği tespit edildi. Çiçek ve yaprak uçucu yağlarının, çiçek ve yaprak metanol ekstraktlarının kullanılan konsantrasyonlarının hiçbirinde test mikroorganizmalarına karşı bir aktivite bulunamadı.

Başbül vd. (2008) yılında *Primula veris* L. çiçeklerinin su, eter ve etanol ekstraktları ile yaptıkları kuyu difüzyon yöntemi ile çalışmada Test edilen mikroorganizmalar arasında *E. faecalis*, *B. cereus* ve *Pseudomonas fluorescens* tüm ekstraktlar tarafından inhibe edildi tespit etmişler. Ayrıca eter ve su ekstraktları, etanol ekstraktından daha yüksek önleyici aktiviteye sahip olduğunu ve test edilen ekstraktların hiçbiri *S. aureus*, *Proteus* sp. ve *Listeria* sp. Türlerine karşı aktivite göstermediğini bildirmişlerdir.

Saqib vd. (2009) yaptıkları çalışmada *Primula macrophylla*'nın ham özü, agar kuyusu difüzyon yöntemi kullanılarak *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Salmonella typhi* üzerinde Antibakteriyel aktivite gerçekleştirildiğini ve çalışma sonunda numunelerin herhangi bir aktivite göstermediğini belirtmişlerdir.

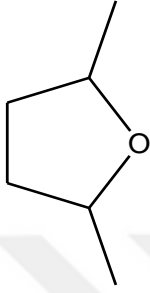
Yaylı vd. (2016) *Primula vulgaris* Huds. subsp. *vulgaris* (Pvv) and *P. vulgaris* Huds. subsp. *sibthorpii* (Pvs) uçucu yağlarının agar difüzyon yöntemi (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları) ile yaptıkları antimikrobiyal çalışmada *Bacillus cereus*'a karşı zayıf aktivite, *Mycobacterium smegmatis*'a karşı güçlü aktivite gösterdiğini ifade etmişlerdir.

Çiçek, yaprak uçucu yağları ve metanol ekstrakt örneklerinin antimikrobiyal aktivitelere ait sonuçlar Tablo 3.11'de gösterilmiştir.

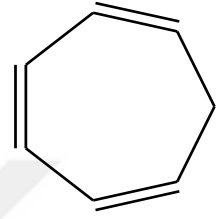
Tablo 3.11. *Primula veris* subsp. *columnnae* çiçek ve yapraklarından elde edilen uçucu yağın ve metanol ekstraktlarının antimikrobiyal testleri analiz sonuçları

Mikroorganizmalar	Çiçek				Yaprak			
	%100	%50	%25	%10	%100	%50	%25	%10
Bacteria Türleri	İnhibisyon çap değerleri (mm)							
<i>A. hydrophila</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. cereus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. subtilis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Ent. cloacae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	4,50	-	-	-	-	-	-	-
<i>E.coli</i> O157:H7	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L.monocytogenes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. vulgaris</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseu. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Sal. typhimurium</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
Maya-Küf								
<i>Sac. cerevisiae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A.niger</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A.flavus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Penicillum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-

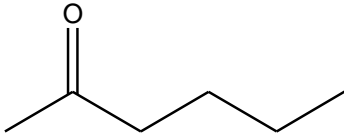
3.7. *Primula veris* subsp. *columnae* (Tutya, Çuha çiçeği) Bitkisinin Çiçeklerinden ve Yapraklarından elde edilen Uçucu Yağlarda Yapısı Aydınlatılan Bileşiklerin Formülleri



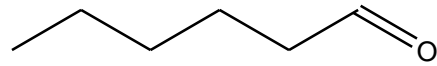
2,5-Dimetiltetrahidrofuran(PcY)



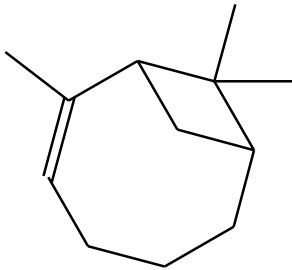
Tropilidin(PcY)



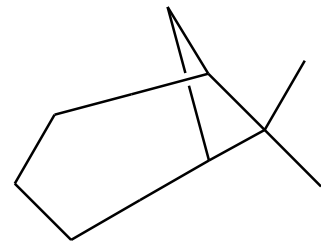
2-Hegzanon (PcÇ, PcY)



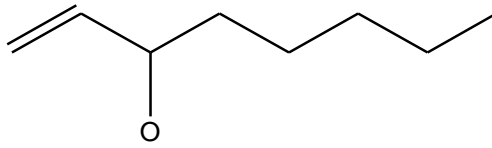
Hegzanal (PcÇ, PcY)



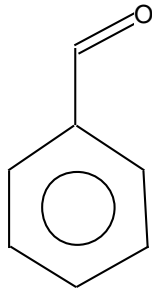
α-Pinen(PcÇ, PcY)



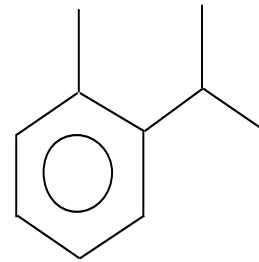
β-Pinen (PcÇ, PcY)



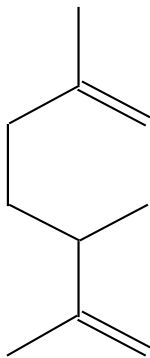
1-Okten-3-ol (**PcÇ**, **PcY**)



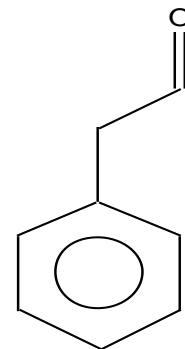
Benzaldehyd (**PcÇ**, **PcY**)



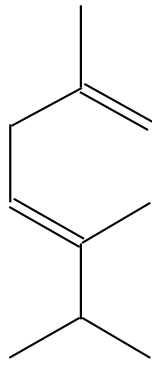
o-Simen(**PcY**)



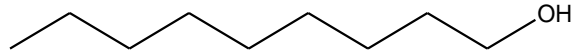
Limonen (**PcÇ**, **PcY**)



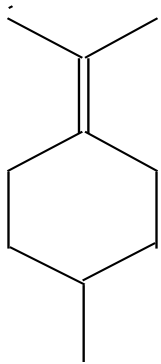
Benzenasetaldehyd(**PcY**)



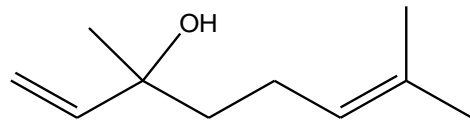
γ -Terpinen (**PcÇ**, **PcY**)



n-Oktanol (**PcÇ**, **PcY**)



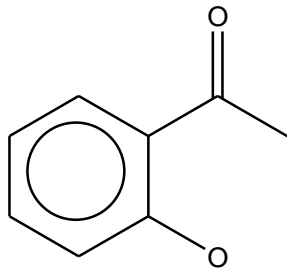
α -Terpinolen (**PcÇ**, **PcY**)



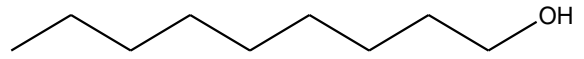
Linalool(**PcY**)



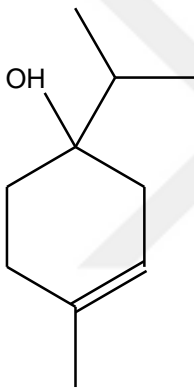
Nonanal (**PcÇ**, **PcY**)



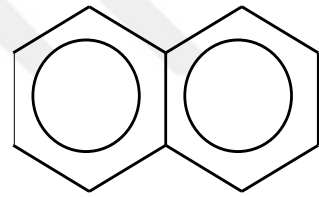
o-Asetilfenol(PcY)



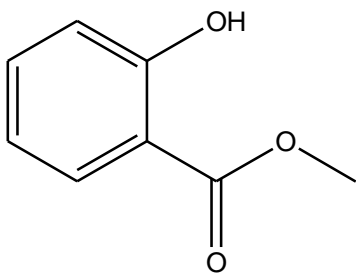
1-Nonanol (PcÇ, PcY)



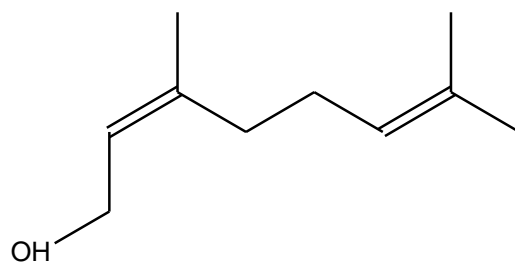
Terpinen-4-ol (PcÇ, PcY)



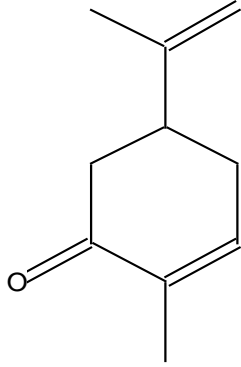
Naftalen (PcÇ, PcY)



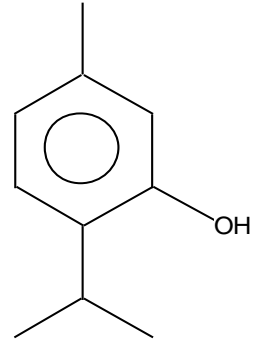
Metil salisilat (PcÇ, PcY)



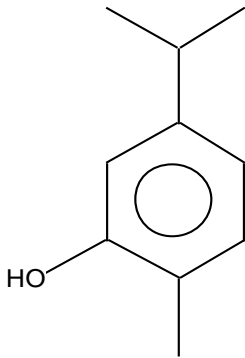
Nerol(PcY)



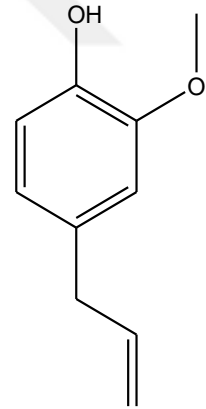
Karvon(**PcY**)



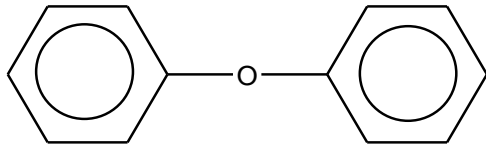
Timol (**PcÇ, PcY**)



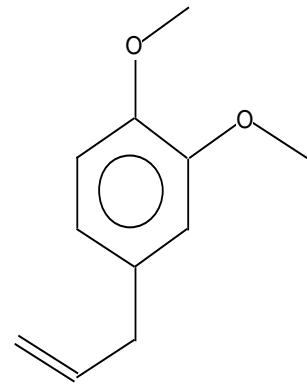
Karvakrol (**PcÇ, PcY**)



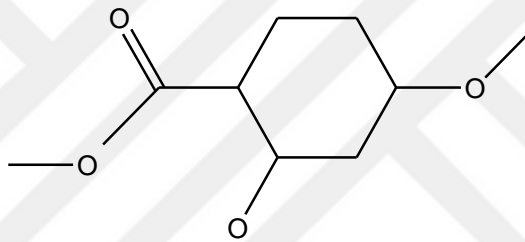
Eugenol (**PcÇ, PcY**)



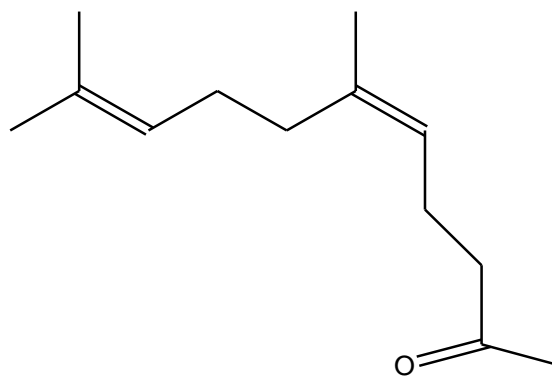
Difenil eter(**PcY**)



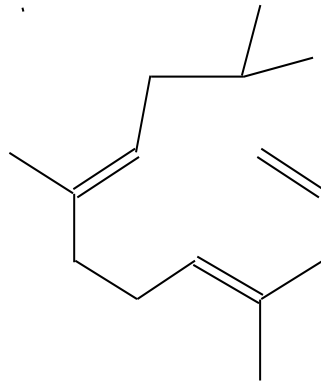
Metileugenol(**PcY**)



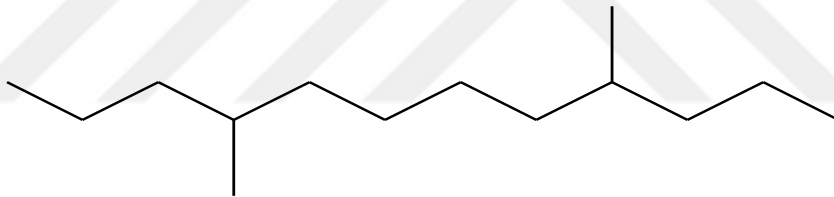
Metil 4-methoksisalisilat (**PcÇ, PcY**)



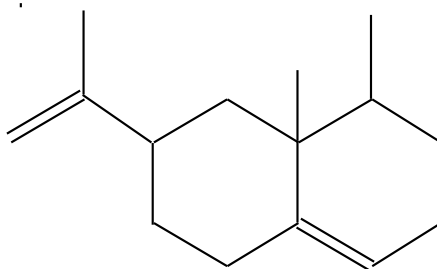
Nerilaseton (**PcY**)



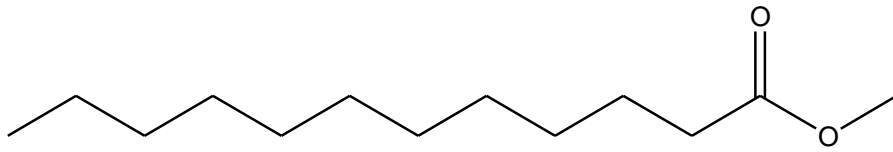
Humulen (**PcC**, **PcY**)



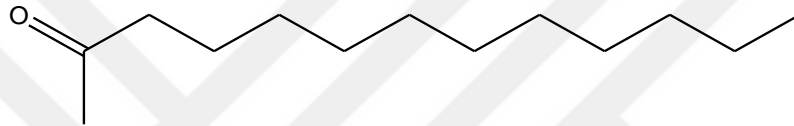
Tetradekan,4,11-dimetil- (**PcC**, **PcY**)



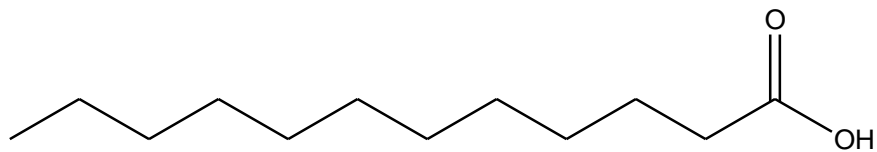
Valensen (**PcC**, **PcY**)



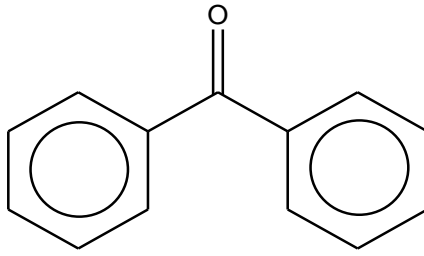
Dodekanoik asid, metil ester (**PcÇ**, **PcY**)



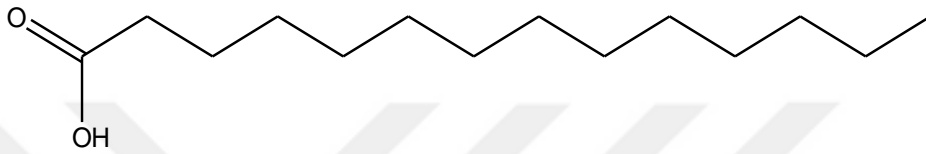
2-Tridekanon (**PcÇ**, **PcY**)



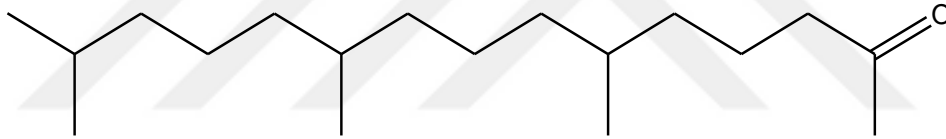
Dodekanoik asid (**PcÇ**, **PcY**)



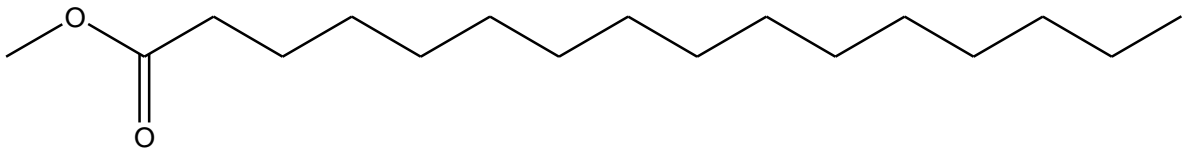
Benzofenon (**PcÇ, PcY**)



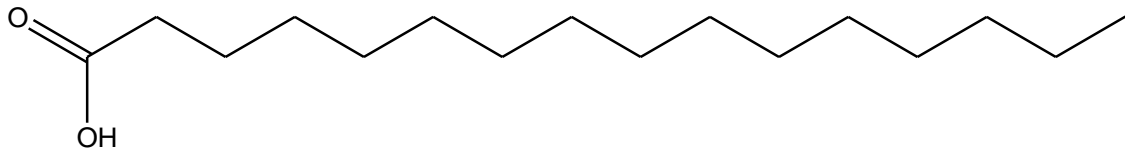
Tetradekanoik asid (**PcÇ, PcY**)



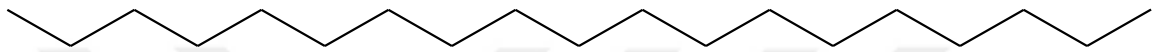
Hegzahidrofarnesil aseton (**PcÇ, PcY**)



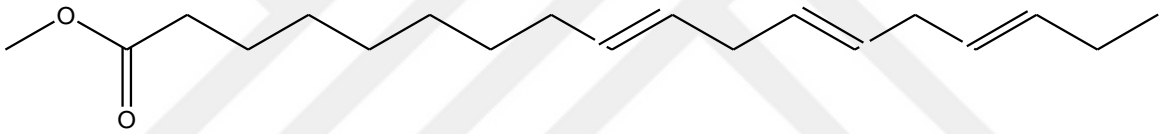
Hegzadekanoik asid metil ester (**PcÇ, PcY**)



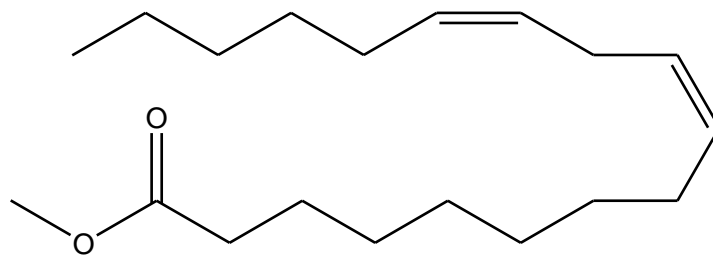
Palmitik asid (**PcÇ**, **PcY**)



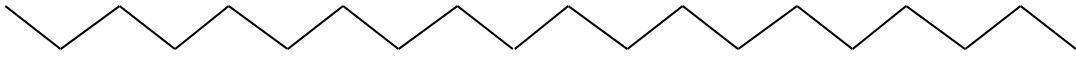
Nonadekan (**PcÇ**, **PcY**)



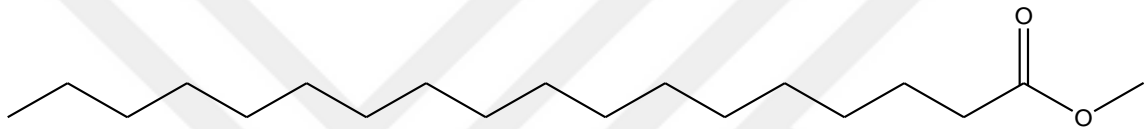
9,12,15 Oktadekatrienoik asid metil ester(**PcY**)



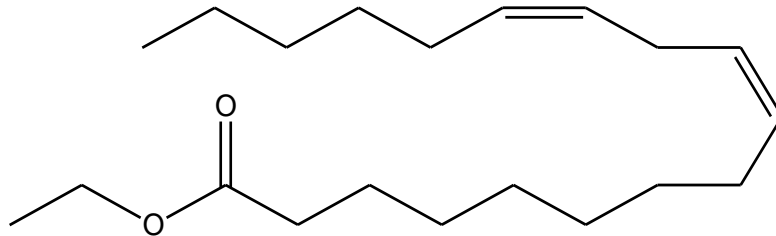
Linolenik asit metil ester (**PcÇ**, **PcY**)



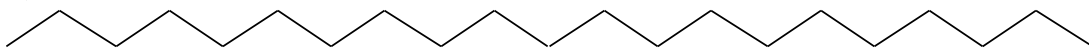
Heneikosan (**PcÇ**, **PcY**)



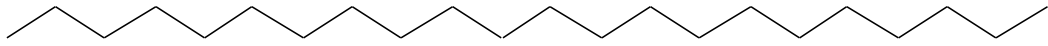
Metil stearat (**PcÇ**, **PcY**)



Linolenik asit etil ester (**PcÇ**)



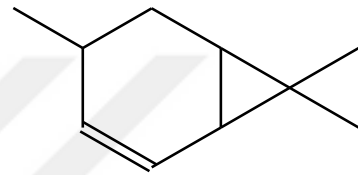
Dokosan(**PcÇ**, **PcY**)



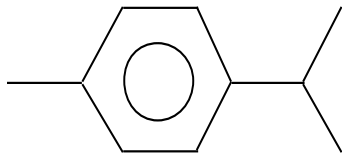
Trikosan(PcÇ, PcY)



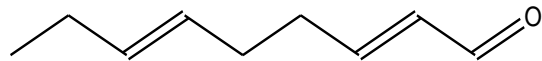
Heptanal(PcÇ)



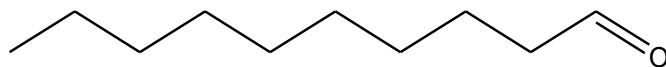
4-Karen(PcÇ)



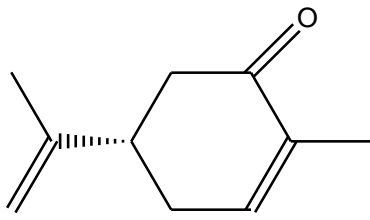
p-Simen(PcÇ)



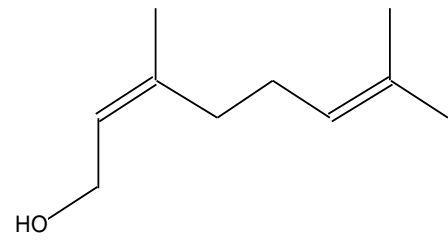
2,6-Nonadienal,(E,E)- (PcÇ)



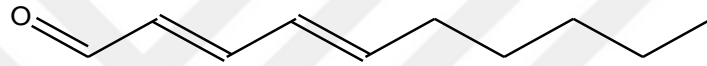
Dekanal(PcÇ)



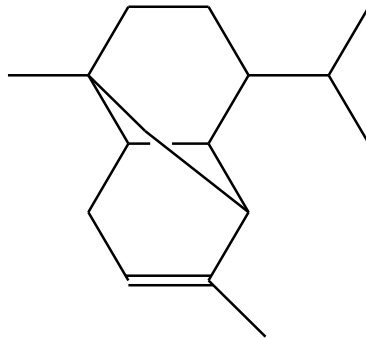
D- Karvon(**PcÇ**)



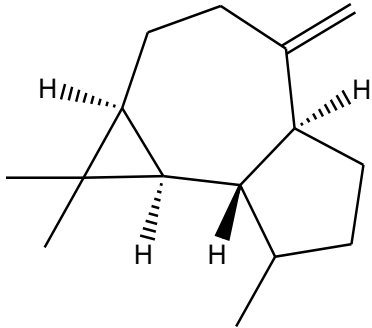
Cis-Geraniol(**PcÇ**)



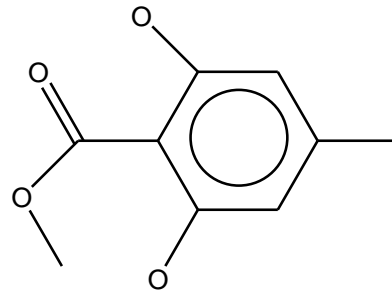
(*E,E*)-2,4-Dekadienal (**PcÇ**)



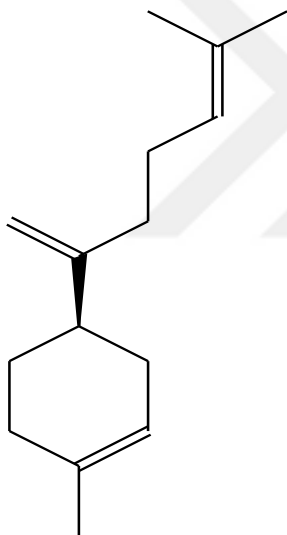
α -Kopaen(**PcÇ**)



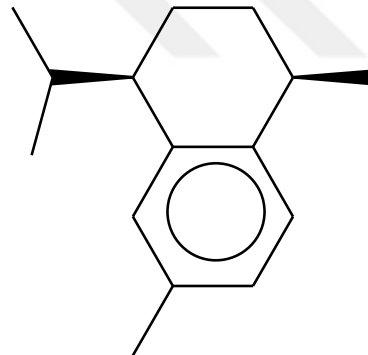
Aromadendren(PcÇ)



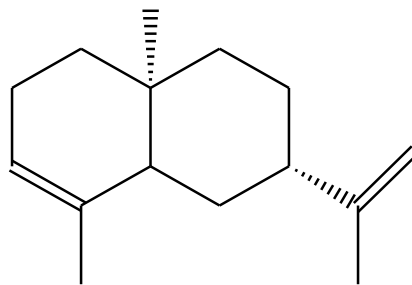
Metil 2,6-dihidroksi-4-metilbenzoat(PcÇ)



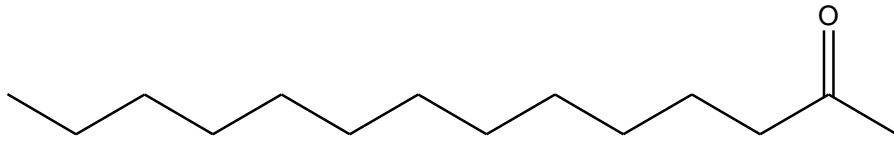
β -Bisabolen(PcÇ)



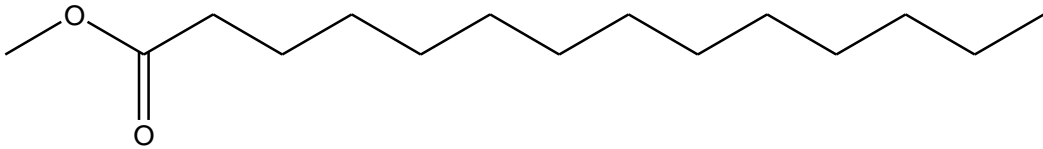
cis-Kalamenen(PcÇ)



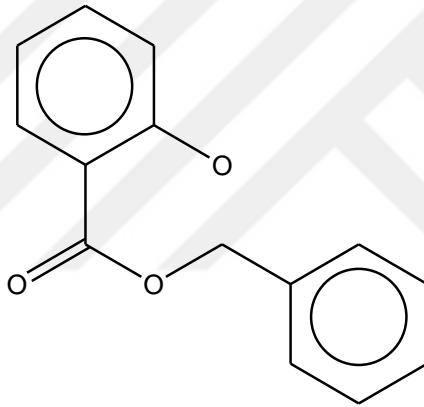
Selinenen(PcÇ)



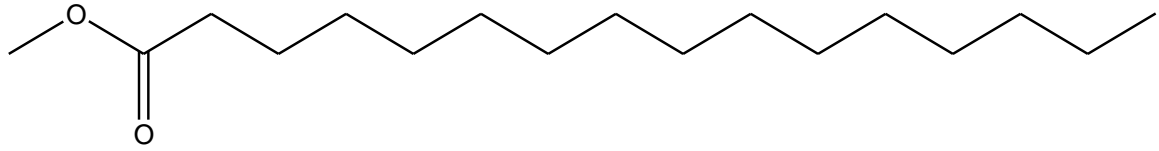
2-Tetradekanon(PcÇ)



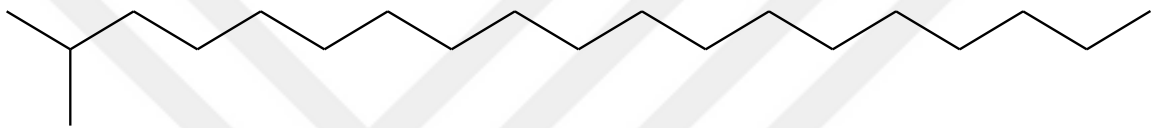
Tetradekanoik asid metil ester(PcÇ)



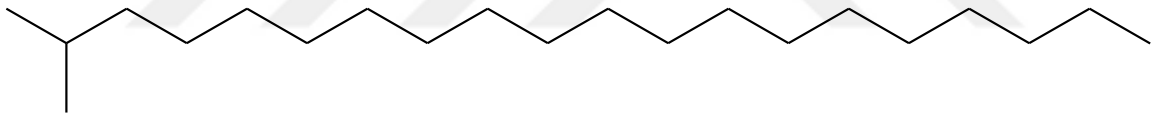
Benzoik asid,2-hidroksi-,fenilmetil ester(PcÇ)



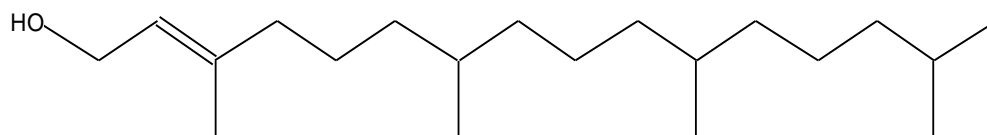
Hegzadekanoik asid metil ester (**PcÇ**, **PcY**)



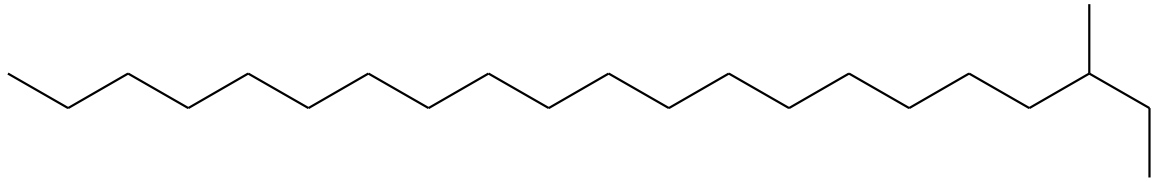
2-Metilnonadekan(**PcÇ**)



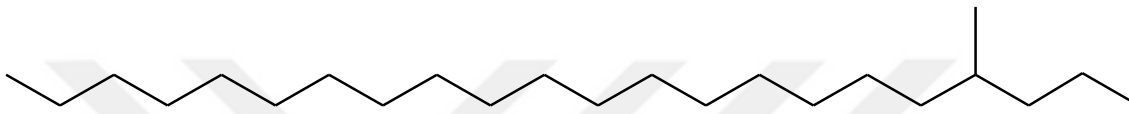
Eikosan,2-Metil(**PcÇ**)



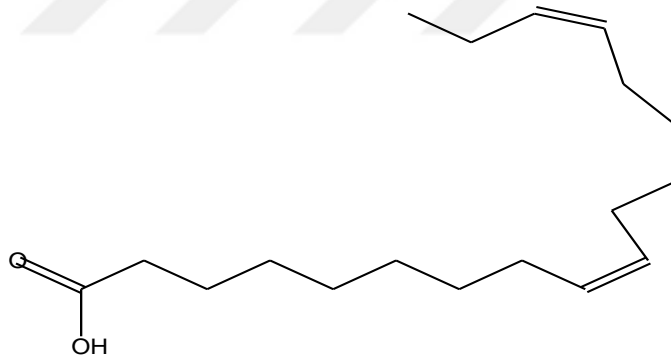
Fitol(**PcÇ**)



3-Metilheneikosan(**PcC**)



4-Metildokosan(**PcC**)



Lineloik Asid (**PcY**)

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

- *Primula veris* subsp. *columnae* türünün uçucu yağ analiz sonucunda yüzde olarak uçucu yağ verimi çiçek kısmında %0.33 olarak, yaprak kısmında ise yüzde olarak uçucu yağ verimi %0.12 olduğu tespit edilmiştir.

- GC/MS ve GC/FID analizi sonucunda, *Primula veris* subsp. *columnae*' nin çiçeklerine ait toplamda 62 adet bileşiğin yapısı aydınlatılırken, *Primula veris* subsp. *columnae*' nin yapraklarına ait toplamda 50 adet bileşiğin yapısı aydınlatıldı. En fazla bileşik çiçek kısmında olduğu belirlenmiştir.

- *Primula veris* subsp. *columnae* bitkisinin çiçek ve yaprak kısmında bulunan bileşikler toplam numunenin sırasıyla %95.20 ve %94.21'ini oluşturduğu tespit edilmiştir.

- Yapısı aydınlatılamayan bileşik sayısı çiçek uçucu yağında 3 tane iken, yaprak uçucu yağında ise 4 adet olup sırasıyla %3.52 ve %3.66'lık oranları bulunduğu tespit edilmiştir.

- Çiçeklerin uçucu yağının analizi sonucu aydınlatılan bileşik sayısı ve bu bileşiklerin toplam numune içindeki yüzdelerinin yaprak uçucu yağ örneklerinden daha fazla bulunduğu tespit edilmiştir.

- Çiçek uçucu yağında en fazla bulunan ana bileşik Metil 4-methoksisalisilat (%37.12), yaprak uçucu yağında en fazla bulunan ana bileşik Linoleik asid (%40.08) olduğu tespit edilmiştir.

- Çiçek uçucu yağ örneklerinde bileşik sınıfları sırasıyla tespit edilenler ve içerdikleri bileşik sayısı sırasıyla ketonlar 4, aldehidler 7, alkoller 3, esterler 10, asitler 3, hidrokarbonlar 11, monoterenler 7, monoterenoidler 6, seskiterpenler 7, terpen benzeri birleşikler 1, diterpenoidler 1 ve diğerleri de 2 adet olarak tespit edilmiştir.

- Yaprak uçucu yağ örneklerinde bileşik sınıfları sırasıyla ketonlar 3, aldehidler 4, alkoller 3, esterler 8, asitler 4, hidrokarbonlar 7, monoterenler 6, monoterenoidler 6, seskiterpenler 2, terpen benzeri birleşikler 2 ve diğerleri de 5 adet şeklinde tespit edilmiştir.

- Çiçek uçucu yağ örneklerinde ise bileşik sayısı en fazla bileşik olan sınıf 11 adet ile hidrokarbonlar olurken, yaprak uçucu yağ örneklerinde 8 adet bileşik ile esterler olduğu tespit edilmiştir.

- *Primula veris* subsp. *columnae* bitkisinin çiçek uçucu yağ analiz sonucunda % miktar olarak en fazla bulunan kimyasal sınıf, %51.59 ile esterler, yaprak uçucu yağ analizinde ise %51.21 ile asitler olmuştur. Çiçek uçucu yağ örneklerinde 21 adet bileşik ve %5.63'lik miktar terpen sınıfı bileşikler belirlenirken, en büyük terpen sınıfının monoterpenler (%3.03) olduğu tespit edilmiştir. Yaprak uçucu yağ örneklerinde ise 14 adet bileşik ve %10.84'lik miktar terpen sınıfı bileşikler belirlenirken, en büyük terpen sınıfının çiçekte olduğu gibi yine monoterpenler (%8.02) olduğu tespit edilmiştir.

- *Primula veris* subsp. *columnae* türünün çiçek ve yapraklarının metanol ile ekstraksiyonu sonucu yüzde olarak çiçekte ekstraktif madde miktarı %34.54, yaprakta ise ekstraktif madde miktarı %28.81 olarak tespit edilmiştir.

- *Primula veris* subsp. *columnae* (Tutya, Çuha çiçeği) türünün çiçek ve yaprak kısımlarından elde edilen metanol ekstraktlarından hazırlanan % 0.20, % 0.50 ve % 1.00' lik hazırlanan konsantrasyonlarda DPPH çalışması sonuçlarında Troloks standartları sırasıyla % 99.14 ve % 99.57' lik bir inhibasyon oranı gösterdiği ve çuha çiçeğinin yaprak ve çiçek kısımlarının metanol ekstraksiyonları konsantrasyona bağlı olarak önemli bir artış olduğu tespit edilmiştir. Yaprak ekstraktı A.A. ve Troloks cinsinden % İnhibasyon; % 0.20, % 0.50 ve % 1.00 konsantrasyonlarda sırasıyla % 33.01, 31.39 , %70.42, 69.70, % 84.46 ve 84.08 gösterdiği, çiçek ekstraktı ise A.A. ve Troloks cinsinden % İnhibasyon; % 0.20, % 0.50 ve % 1.00 konsantrasyonlarda sırasıyla % 74.81, 74.20, % 85.21, 84.85, % 86.53 ve 86.21 olduğu, hem yaprak kısmı hemde çiçek kısmı % 1.00 ' lik konsantrasyonda hemen hemen A.A. ve Troloksın % 0.04' lük konsantrasyonuna yakın bir inhibasyon gösterdiği tespit edilmiştir.

- DPPH çalışması sonuçlarında çiçek metanol ekstraktı yaprağa göre daha fazla inhibasyon özelliği gösterdiği tespit edilmiştir.

- *Primula veris* subsp. *columnae* türünün çiçek ve yaprak kısımlarından elde edilen metanol ekstraktlarından hazırlanan % 0.04' lük Demir iki sülfat heptahidrat ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) çözeltilisinden toplam demir indirgeme antioksidan kapasitesi miktarları çiçek kısmında 677.59 ± 41.30 mg/g ve yaprak kısmında 165.83 ± 2.62 mg/g olduğu tespit edilmiştir. FRAP değerlerine bakıldığında yaprak ve çiçek kısımları ($p < 0.05$) arasında önemli derecede fark olduğu tespit edilmiştir.

- *Primula veris* subsp. *columnae* türünün çiçek ve yaprak kısımlarından elde edilen metanol ekstraktlarından hazırlanan % 0.20' lik fenolik madde miktarları; gallik asidin

çözültüsü ile standartlara göre alınarak toplam fenolik madde çiçek kısmında 78.62 ± 2.25 Gallik asit cinsinden mg/g, yaprak kısmında ise 38.43 ± 0.68 olduğu tespit edilmiştir.

- Yaprak ve çiçek kısmında toplam fenolik madde bakımından önemli derecede fark ($p < 0.05$) olduğu ve buradan da anlaşılacağı üzere fenolik içerik bakımından *Primula veris* subsp. *columnae* bitkisinin oldukça zengin olduğu tespit edilmiştir.

- *Primula veris* subsp. *columnae* türünün çiçek ve yaprak kısımlarından elde edilen metanol ekstaktlarından % 0.20' lik numuneler Askorbik asit standartlarına göre çiçek kısmında 127.05 ± 9.55 mg/g, yaprak kısmında ise 74.63 ± 5.80 mg/g olduğu, yaprak ve çiçek kısmında toplam antioksidan madde bakımından önemli derecede fark ($p < 0.05$) olduğu tespit edilmiştir.

- *Primula veris* subsp. *columnae* türünün çiçek ve yaprak kısımlarından elde edilen metanol ekstaktlarından % 0.2' lik numuneler kateşin asit standartlarına göre çiçekte 1.96 ± 0.06 mg/g, yaprak kısmında ise 1.00 ± 0.01 mg/g olduğu, yaprak ve çiçek kısmında toplam flavanoid madde bakımından önemli derecede fark ($p < 0.05$) olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca *Primula veris* subsp. *columnae* bitkisi genel olarak değerlendirildiğinde antioksidan özelliklerinin oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir.

- *Primula veris* subsp. *columnae* türünün çiçeklerin ve yaprakların uçucu yağları üzerinde yapılan antimikrobiyal aktivite testinde bunlardan sadece çiçek uçucu yağının *Escherichia coli* bakterisine karşı zayıf aktivite gösterdiği bunun dışında herhangi bir antifungal ve antibakteriyel aktivite göstermediği, analizde kullanılan çiçek uçucu yağın sadece %100 konsantrasyonunda test mikroorganizmalarından 1 tanesine karşı zayıf inhibite gösterdiği tespit edilmiştir. Çiçek ve yaprak uçucu yağlarının, çiçek ve yaprak metanol ekstraktlarının kullanılan konsantrasyonlarının hiçbirinde test mikroorganizmalarına karşı bir aktivite tespit edilememiştir.

- *Primula veris* subsp. *columnae* türünün çiçek ve yaprak kısımlarından elde edilen metanol ekstaktlarından hazırlanan numunelerde fenolik madde bakımından bitkinin oldukça zengin olduğu tespit edilmiş olup fenolik bileşenleri ilerideki çalışmalarda araştırılabileceği söylenilebilir.

- *Primula veris* subsp. *columnae* türüne ait yapılan çalışmalar sonucunda antimikrobiyal aktivitesinin literatürde bulunan diğer türlere göre az olmasının nedenini ve bu türe ait farklı patojenler kullanılarak antimikrobiyal test yöntemleri ile araştırılabilir.

5. KAYNAKLAR

- Ahmed, D., Khan M.M. ve Saeed R., 2015. Comparative Analysis of Phenolics, Flavonoids, and Antiooxidant and Antibacterial Potential of Methanolic, Hexanic and Aqueous Extracts from *Adiantum caudatum* Leaves, Antioxidats, 4, 394-409.
- Akyüz, E., 2007. *Polygonum bistorta ssp. carneum* Bitki Ekstraktlarının Kromatografik Yöntemlerle Kimyasal Bileşiminin Belirlenmesi ve Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktiviteleri. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 154s.
- Alaska Boreal Forest Council, comps., 2003. Proceedings: Hidden Forest Values-The first Alaska-Wide Nontimber Forest Products Conference and Tour. Gen. Tech. Rep. PNW-GTR-579. Portland, OR: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Pacific Northwest Research Station. 150p.
- Albayrak, S., Sağdıç, O. ve Aksoy, A., 2010. Bitkisel Ürünlerin ve Gıdaların Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 26, 4, 401-409.
- Altunel, T., 2011. Odun Dışı Orman Ürünlerinin Dünyada ve Türkiye'de Sosyoekonomik Boyutu, 10s.
- Ardağ, A., 2008. Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemlerinin Analitik Açından Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın, 54s.
- Arslan Burnaz, N., 2007. *Viburnum opulus ve V. orientale* Bitki Ekstraktlarının Kimyasal Bileşimi ve Biyolojik Aktiviteleri. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 127s.
- Bardakçı, Ö., 2017. Bazı Sentetik Antioksidanların 2, 2-Difenil-1-Pikrilhidrazil (Dpph) Radikal Süpürme Kapasitesi Yöntemi ile Antioksidan Aktivitelerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın, 47s.
- Başaran, A.A., 2012. Ülkemizdeki Bitkisel İlaçlar ve Ürünlerde Yasal Durum, Türk Eczacıları Birliği Yayını, Meslek İçi Sürekli Eğitim Dergisi, 27-28, 22-26.
- Başbülbul, G., Özmen, A., Biyik, H. H. ve Şen, Ö., 2008. Antimitotic and Antibacterial Effects of the *Primula veris* L. Flower Extracts. Caryologia, 61(1), 88-91.
- Baytop, T., 1999. Türkiye'de Tıbbi Bitkiler ile Tedavi, Nobel Tıp Kitabevleri, 2. Baskı. ISBN:975-420-021-1, İstanbul, 480s.

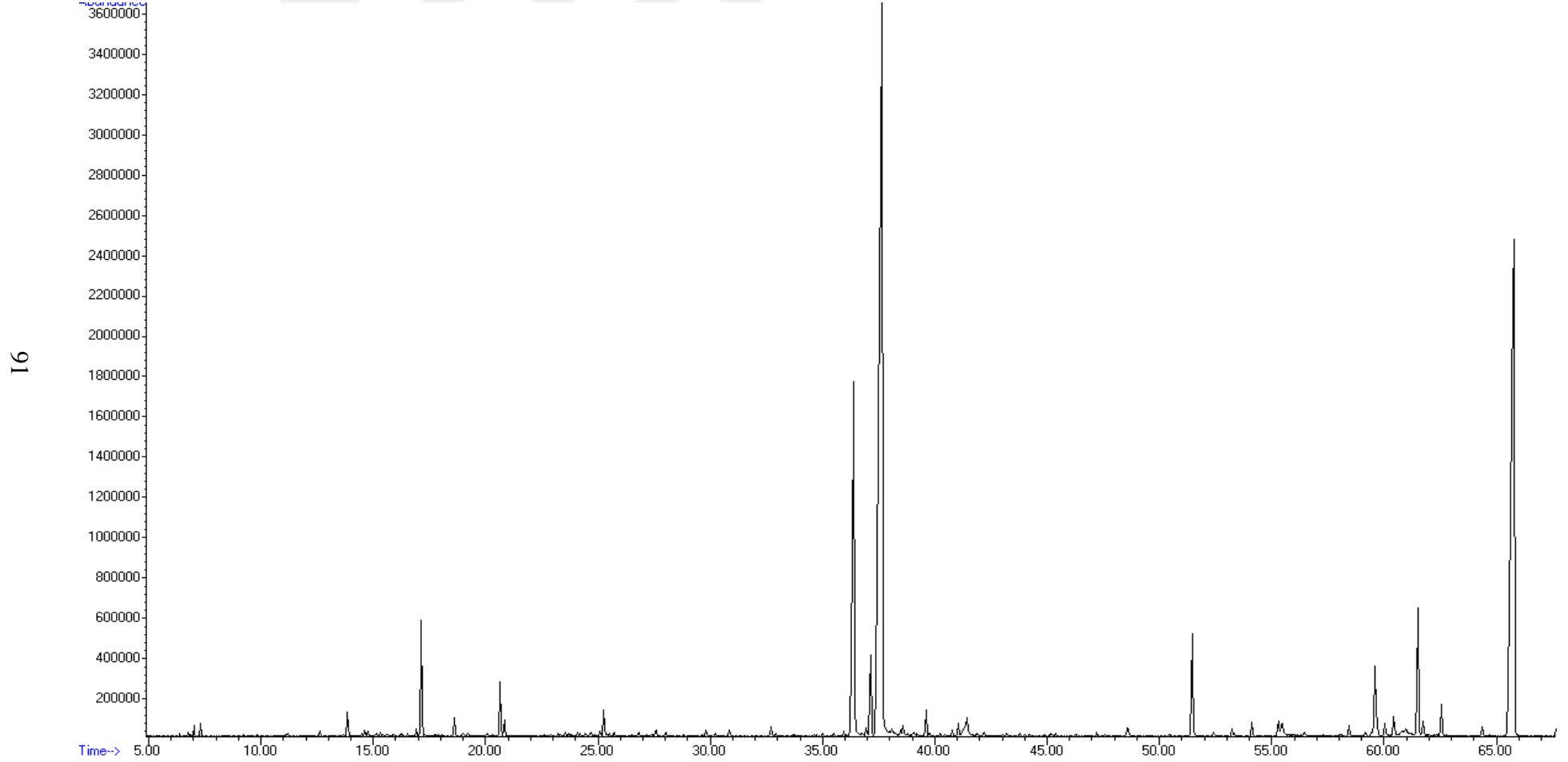
- Bdczek, K., PrzybyB, J.L., Mirgos, M., Kosakowska, O., Szymborska-Sandhu, I. ve Weglarz, Z. 2017. Phenolics in *Primula veris* L. and *P. elatior* (L.), International Journal of Analytical Chemistry, 3, 1-7.
- Benzie, I.F.F. ve Strain J.J., 1999. Ferric Reducing/Antioxidant Power Assay: Direct Measure of Total Antioxidant Activity of Biological Fluids and Modified Version for Simultaneous Measurement of Total Antioxidant Power and Ascorbic Acid Concentration, In Methods in Enzymology, 299, 15–27.
- Borisova, D. A. ve Popov, D. M., 2012. Comparative Study of the Qualitative Composition and Quantitative Content of Flavonoids in Various Organs of *Primulae Officinalis*, Voprosy Biologicheskoi, Meditsinskoi Farmatsevticheskoi Khimii, 8, 8-13.
- Ceylan, A., 1987. Tıbbi Bitkiler II. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 481, İzmir.
- Chiron, F., Chalchat, C.J. ve Garry, P.R., 1997. Photochemical Hydroperoxidation of Terpenes I. Synthesis and Characterization of α -pinene, β -pinene and Limonene Hydroperoxides. Photochem and Photobio, 111, 75-86.
- Colombo, P.S., Flamini, G., Rodondi, G., Giuliani, C., Santagostini, L. ve Fico, G., 2017. Phytochemistry of European *Primula* species, Phytochemistry, 143, 132–144.
- Cook, N.C. ve Samman, S., 1996. Flavonoids-Chemistry, Metabolism, Cardioprotective Effects, and Dietary Sources, Nutr Biochem, 7, 66-76.
- Çalışkol, M.M., 2013. Azerbaycan Yöresine Ait Propolis Örneklerinin Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 37s.
- Demir, N., Güngör, A.A., Nadaroğlu, H. ve Demir, Y., 2014. The Antioxidant and Radical Scavenging Activities of Primrose (*Primula vulgaris*), European Journal of Experimental Biology, 4, 395–401.
- Erciyes, E., 2014. *Convolvulus* L. Cinsine Ait Bazı Türlerin Antioksidan Aktivitesinin ve Hayvan Dokularına Etkisinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, 67s.
- Erlund, I., 2004. Review of the Flavonoids Quercetin, Hesperetin and Naringenin, Dietary Sources, Bioactivities, and Epidemiology. Nutr. Res., 24, 851-874.
- Fessenden, R.J., Fessenden, J.S. ve Logue, M.W., 2001. Organik Kimya.6th ed. Güneş Kitabevi, Ankara, 1192s.
- Fukumoto, L.R. ve Mazza, G., 2000. Assessing Antioxidant and Prooxidant Activities of Phenolic Compounds, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48, 3597-3604.
- Gamze, B. Ozmen A., Biyik, H. H. ve Şen, O., 2008. Antimitotic and Antibacterial Effects of the *Primula veris* L. Flower Extracts, Caryologia, 61, 1, 88–91.

- Güneş, G., 2016, *Primula vulgaris subs. sibthorpii* Bitkisinin Toprak Üstü Kısımlarının Uçucu Yağ ve Çözücü Ekstraktının GC/MS Analizi. Yüksek Lisans Tezi, Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Giresun, 61s.
- Huang, D., Ou B. ve Prior R.L., 2005. The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays, *J. Agric. Food Chem.*, 53, 1841-1856.
- İpek A., 2017. Türkiye’de Tıbbi ve Aromatik Bitkiler (Tab) Üzerine Yapılan Araştırmaların Değerlendirilmesi, *Erzincan Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Arama Çalıştayı, Sunum Kitapçığı*, 16 Şubat 2017, s.8-18.
- Kahraman, A., Serteser, M. ve Köken, T., 2002. Flavonoidler. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 3, 01-08.
- Kasangana, P.b., Haddad, P.S. ve Stevanovic, T., 2015. Study of Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of *Myrianthus Arboreus* (Cecropiaceae) Root Bark Extracts *Antioxidants (Basel)*, 4(2): 410–426.
- Kırıcı, S., 2015. Türkiye’de Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Genel Durumu, *TURKTOB Dergisi*, 15, 4-11.
- Latypova, G. M., Bubenchikova, V. N. ve Kataev, V. A., 2015. The Level of Ursolic Acid in the Plants of the Genus *Primula*, *Farmatsiya (Moscow, Russian Federation)*, (4), 21-24.
- Meos, A., Zaharova, I., Kask, M. ve Raal, A., 2017. Content of Ascorbic Acid in Common Cowslip (*Primula veris L.*) Compared to Common Food Plants and Orange Juices, *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 59(1), 113-120.
- Murathan, Z.T., 2018. Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi Ekolojik Koşullarında Yetişen Bazı Tıbbi Bitkilerin Biyokimyasal İçeriği ve Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi, *BAUN Fen Bil. Enst. Dergisi*, 20, 2, 51-60.
- Nacak, F.M., 2014. Elektrokimyasal Yöntemlerle Antioksidan Kapasite Tayini ve Klasik Yöntemlerle Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın, 7,25s.
- Najmus-Saqib, Q., Alam, F. ve Ahmad, M., 2009. Antimicrobial and Cytotoxicity Activities of the Medicinal Plant *Primula Macrophylla*, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 24(3), 697-701.
- Nan, P., Peng, S., Zhang, Y. ve Zhong, Y. 2002. Composition of Volatile Oil of *Primula obconica* in Central China, *Natural product letters*, 16(4), 249-253.
- Oğuz A., 2008. Bazı Çerez Gıdaların Antioksidan Kapasiteleri. Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat, 60s.

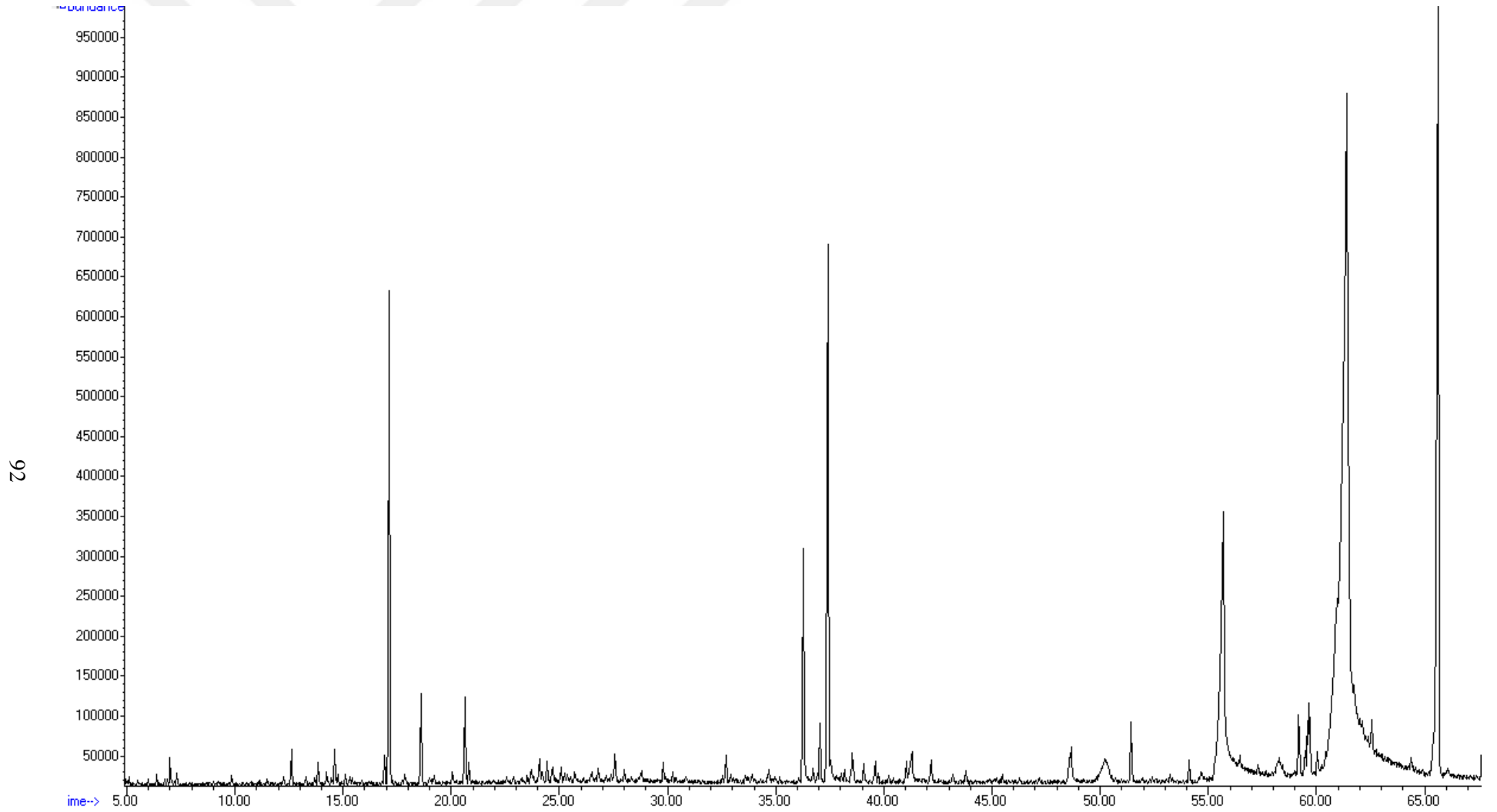
- Okrsar, V., Plaper, I., Kovac, M., Erjavec, A., Obermajer, T., Rebec, A., Ravnikar, M. ve Zel, J. Saponins in Tissue Culture of *Primula veris* L. In Vitro Cell Dev. Biol. Plant, 2007, 43, 644–651.
- Öz, M., 2016. *Rosa pimpinellifolia* L. ve *Rosa canina* L. Kuşburnu Türlerinin Çiçek, Yaprak, Gövde ve Meyvelerinde Uçucu Yağ Analizleri ve Biyolojik Aktiviteleri. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 159s.
- Özkan, M.T., 2015. *Primula vulgaris* (Çuha Çiçeği) Ekstraktlarının HPLC ile Karakterizasyonu ve Biyolojik Aktivitesinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 67s.
- Öztürk, S., 2015, Orman Altı Bitkilerinden *Rhinanthus Angustifolius Subsp. Grandiflorus* Bitkisinde Uçucu Yağların Kimyasal Bileşimleri ve Antimikrobiyal Aktiviteleri; Beta Pinen'in 2,4dinitrobenzensülfenil Klorür ile Katılma Tepkimesi ve Antioksidan-Radikal Giderici Aktivite Ölçümleri. Yüksek Lisans Tezi, Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gümüşhane, 69s.
- Plazonic, A., Buca, F., Males, Z., Mornar, A., Nigovic, B. ve Kujundzic, N., 2009. Identification and Quantification of Flavonoids and Phenolic Acids in Burr Parsley (*Caucalis platycarpos* L.), Using High-Performance Liquid Chromatography With Diode Array Detection and Electrospray Ionization Mass Spectrometry, Molecules, 14, 2466-2490.
- Prior R.L., Wu X. ve Schaich K., 2005. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements, J. Agric. Food Chem., 53, 4290-4302.
- Riffel, A., Medina, L. F., Stefani, V., Santos, R. C., Bizani, D. ve Brandelli, A., 2002. In Vitro Antimicrobial Activity of a New Series of 1, 4- naphthoquinones, Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 35 (7), 811-818.
- Rijken, P.J., Wiseman, S.A., Weisgerber, U.M., Mierlo, C.A.J., Quinlan, P.T. ve Put, F., 2005. Antioxidant and Other Properties of Green and Black Tea. In: eds. Cadenas E, Packer L. Handbook of Antioxidants. Second ed Revised and Expanded, New York -Base; 379p.
- Rudhani, I., Raci, F., Ibrahimi, H., Mehmeti, A., Kameri, A., Faiku, F., Majlinda, M., Govori, S. ve Haziri, A. 2017. Phytochemical and in vitro Antioxidant Studies of *Primula veris* L. Growing Wild in Kosovo, Khimiya, 26, 5, 773-785.
- Sağdıç, O. ve Özcan, M., 2002. Antibacterial Activity of Turkish Spice Hydrosols, Food Control, 14, 141-143.
- Sağdıç, O., Ozturk, I., Ozkan, G., Yetim, H., Ekici, L. ve Yilmaz, M., 2011. RP-HPLC-DAD Analysis of Phenolic Compounds in Pomace Extracts from Five Grape Cultivars: Evaluation of Their Antioxidant, Antiradical and Antifungal Activities in Orange and Apple Juices, Food Chemistry, 126, 1749-58.

- Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J. A. ve Saura-Calixto, F., 1998. A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols, Journal of the Science of Food and Agriculture, 76, 270-276.
- Tarapatsky, L.M., Kapusta, I., Gumienna, A. ve Puchalski, C., 2019. Assessment of the Bioactive Compounds in White and Red Wines Enriched with a *Primula veris*, Molecules, 24, 4074, 1-22.
- Tokalov, S. V., Kind, B., Wollenweber, E. ve Gutzeit, H. O. 2004. Biological Effects of Epicuticular Flavonoids from *Primula denticulata* on Human Leukemia Cells, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52, 2, 239–245.
- Toroğlu, S., Çenet, M., 2006. Tedavi Amaçlı Kullanılan Bazı Bitkilerin Kullanım Alanları ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi İçin Kullanılan Metodlar, KSU.Journal of Science and Engineering, 9, 2, 12-20
- Tünde, J., Eleonora, M., Laura, V., Neagu, O. ve Annamária, P., 2015. Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity of *Primula Veris* L. Flower Extracts, Analele Universitatii din Oradea, Fascicula: Ecotoxicologie, Zootehnie si Tehnologii de Industrie Alimentara, 14, 235-242.
- URL-1, http://www.ktu.edu.tr/dosyalar/ormanbotanigi_86440.pdf. 20 Ağustos 2019.
- URL2, <http://www.mikrobiyoloji.org/TR/Genel/BelgeKardes.aspx?F6E10F8892433CFFA79D6F5E6C1B43FF10CC3F7A155F5A36>. 18 Ocak 2020.
- URL-3, <http://www.tubives.com/>. 24 Nisan 2018.
- Üçüncü, O., Kahriman, N., Terzioğlu, S., Karaoğlu, Ş.A. ve Yaylı, N., 2010. Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils from Flowers of *Senecio othonnae*, *S. racemosus*, and *S. nemorensis*, Natural Product Communications, 5(5), 831-834.
- Vitalini, S., Flamini, G., Valaguzza, A., Rodondi, G., Iriti, M. ve Fico, G., 2011. *Primula spectabilis* Tratt. Aerial Parts: Morphology, Volatile Compounds and Flavonoids. Phytochemistry, 72(11-12),1371-1378.
- Vuko, E., Spahija, D., Bezic, N., Ruscic, M., Topic, S. ve Dunkic, V., 2017. Essential oil Composition of *Primula veris* var. *columnnae*, Chemistry of Natural Compounds, 53(2), 386-387.
- Yağcı, C., Toker, M.C. ve Toker, G., 2008. Bitki Doku Kültürü Yoluyla Üretilen Flavonoidler, Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 1, 47-58.
- Yaylı, N., Tosun, G., Yaylı, B., Gündoğan, Z., Coşkunçelebi, K. ve Karaoğlu, Ş. A., 2016. Altitude Variation in the Composition of Essential Oils, Fatty Acid Methyl Esters, and Antimicrobial Activities of Two Subspecies of *Primula vulgaris* Grown in Turkey, Natural Product Communications, 11(10), 1505-1510.

6. EKLER



Ek Şekil 1. *Primula veris* subsp. *columnae* bitkisinin çiçeklerinin GC spektrumu



Ek Şekil 2. *Primula veris* subsp. *columnae* bitkisinin yapraklarının GC spektrumu

ÖZGEÇMİŞ

Çağrı KARAPINAR, 20.05.1988 yılında Niğde ilinde doğdu. 2005 Yılında Konya Akşehir Selçuklu Lisesi'nde Lise öğrenimini tamamladı. 2010 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi, Orman Endüstrisi Mühendisliği Bölümü' nü kazandı. 2013 yılında Lisans eğitimi devam ederken Adalet Bakanlığı Ceza ve Tevkifevleri Genel Müdürlüğü' ne bağlı Ceza İnfaz Kurumu' nda İnfaz ve Koruma Memurluğu görevine atandı. 12.07.2016 yılında Orman Endüstrisi Mühendisliği Bölümü' nde lisans eğitimini tamamladı. 16.08.2017 Gümüşhane Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ormancılık ve Çevre Bilimleri Anabilim Dalı' nda Yüksek Lisans eğitimine başladı. Çağrı KARAPINAR evli ve 1 çocuk babasıdır. Yabancı dili İngilizcedir.