

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

Murat TÜRK

**BAZI ÖNEMLİ TIBBİ BİTKİLERİN KİMYASAL KOMPOZİSYONU
VE ANTİOKSİDAN KAPASİTELERİNİN BELİRLENMESİNDE
SUB VE SÜPERKRİTİK AKIŞKANLARIN ETKİSİ**

KİMYA ANABİLİM DALI

ADANA, 2010

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI ÖNEMLİ TIBBİ BİTKİLERİN KİMYASAL
KOMPOZİSYONU VE ANTİOKSİDAN KAPASİTELERİNİN
BELİRLENMESİNDE SUB VE SÜPERKRİTİK AKIŞKANLARIN
ETKİSİ**

MURAT TÜRK

DOKTORA TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

Bu Tez / / 2010 tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği /
Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

.....		
Prof. Dr. E. Sultan GİRAY	Prof. Dr. Hunay EVLİYA	Prof. Dr. Saliha KIRICI
DANIŞMAN	ÜYE	ÜYE

.....	
Doç. Dr. Ahmet Murat GİZİR	Yrd. Doç. Dr. Güray KILINÇÇEKER
ÜYE	ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Kimya Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.
Kod No:

Prof. Dr. İlhami YEĞİNGİL
Enstitü Müdürü

Bu çalışma, Ç.Ü. Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: FEF2006D19

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 Sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu'ndaki hükümlere tabidir.

ÖZ

DOKTORA TEZİ

BAZI ÖNEMLİ TIBBİ BİTKİLERİN KİMYASAL KOMPOZİSYONU VE ANTIOKSİDAN KAPASİTELERİNİN BELİRLENMESİNDE SUB VE SÜPERKRİTİK AKIŞKANLARIN ETKİSİ

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ KİMYA ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. E. Sultan GİRAY
2010, Sayfa: 127
Jüri : Prof. Dr. E. Sultan GİRAY
Prof. Dr. Hunay EVLİYA
Prof. Dr. Saliha KIRICI
Doç. Dr. Ahmet Murat Gizir
Yrd. Doç. Dr. Güray Kılınççeker

Bu çalışmada, tıbbi aromatik bitkilerden dereotu (*Anethum graveolens*), çörekotu (*Nigella sativa* L.), kişniş (*Coriandrum sativum* L.) yıllık pelinotu (*Artemisia annua*) ve taşnanesi (*Micromeria fruticosa* L.) bitkilerinin kimyasal kompozisyonları ve antioksidan aktiviteleri üzerine sub ve süperkritik akışkan ekstraksiyon metodlarının etkileri incelenmiştir. Uygulanan sub/süperkritik akışkan ekstraksiyonları, subkritik su, subkritik etanol ve süperkritik CO₂ kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemlerin etkinliği su buharı destilasyonu, gerisoğutucu altında kaynatma ve ultrasonik banyoda organik çözücü ile ekstraksiyon yöntemleri ile kıyaslanmıştır. Ekstraktların antioksidan aktivitelerini belirlemek için serbest radikal temizleme yöntemi (DPPH), toplam antioksidan kapasite (CUPRAC) ve toplam fenol içeriği (FOLIN) yöntemleri uygulanmıştır.

Sonuçlar ekstraktlardaki bileşen ve konsantrasyonların ekstraksiyon metoduna göre değişiklik gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu farklılıktan yararlanarak ekstraktın kullanım amacına uygun ekstraksiyon metodu seçilebilir. Ekonomik olarak önemli olan oksijenli bileşenler en fazla sub-kritik su ekstraksiyonu ile elde edilmiştir. Çörekotu tohumlarında süper kritik akışkan ekstraksiyonu ile yağ asitleri daha fazla elde edilmiştir. Antioksidan aktivite belirleme çalışmalarında en etkin yöntemin sub-kritik etil alkol ekstraksiyonu olduğu bulunurken, en etkin bitki ise taşnanesi olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Uçucu yağ, sub ve süperkritik akışkan ekstraksiyonu, antioksidan aktivite, CUPRAC, DPPH, FOLIN

ABSTRACT

PhD THESIS

EFFECT OF SUB AND SUPER CRITICAL FLUIDS ON THE ANTIOXIDANT CAPACITY AND CHEMICAL COMPOSITION OF SOME IMPORTANT MEDICINAL PLANTS

Murat TÜRK

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

Supervisor : Prof. Dr. E. Sultan GÜRAY
2010, Pages : 127

Jury : Prof. Dr. E. Sultan GÜRAY
Prof. Dr. Hunay EVLYA
Prof. Dr. Saliha KIRICI
Assoc. Prof. Dr. Ahmet Murat Gizir
Asst. Prof. Gray Kılıneker

In this study, the effect of extraction methods on chemical composition and antioxidant activity of medicinal aromatic plants such as *Anethum graveolens*, *Nigella sativa*, *Coriandrum sativum*, *Artemisia annua*, and *Micromeria fruticosa* is investigated. Sub/supercritical fluid extractions were performed by using subcritical water, subcritical ethanol and supercritical CO₂. Effect of these methods is compared with steam distillation, organic solvent extraction under reflux, organic solvent extraction under ultrasonic irradiation methods. Antioxidant activity determination was carried out by radical scavenging activity assay (DPPH), total antioxidant capacity cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC) and total phenol content assay(FOLIN).

The results showed that components and concentrations of the extracts strongly depend on extraction method. The extraction method may be chosen according to the goal of extract usage. Economically important oxygenated compounds were acquired mostly by subcritical water extraction. Fatty acids were obtained more by supercritical fluid extraction in *Nigella sativa* seeds. It was determined that the best effective method in antioxidant activity determination was ethyl alcohol extraction and the best effective plant was *Micromeria fruticosa*.

Key Words : Essential oil, sub and supercritical fluid extraction, antioxidant activity, CUPRAC, DPPH, FOLIN

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın tamamlanmasında, benden bilgisini, tecrübesini ve yardımlarını esirgemeyen, beni sürekli yönlendiren, bilimsel gelişimim için her türlü olanağı ve kolaylığı sağlayan bununla birlikte hayatımın en zor dönemlerinde destek olan danışman hocam Sayın Prof. Dr. E. Sultan GİRAY'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Deneyisel çalışmalarım sırasında desteklerini ve bilgilerini esirgemeyen değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Hunay EVLİYA'ya ve Sayın Prof. Dr. Saliha KIRICI'ya teşekkür ederim.

Bitkilerin temininde başta Sayın Prof. Dr. Saliha KIRICI olmak üzere, Yrd. Doç. Dr. Memet İnan ve Yrd. Doç. Dr. Alpaslan Kaya'ya teşekkür ederim.

Sub-kritik ekstraksiyon sisteminin tasarlanmasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Ahmet Murat Gizir'e teşekkür ederim.

Manevi desteğinden dolayı Yrd. Doç. Dr. Güray Kılınççeker'e teşekkür ederim.

Organik kimya anabilim dalında asistan olarak çalışmaya başladığımda yardımlarını esirgemeyen arkadaşım Dr. Özgür SÖNMEZ'e teşekkür ederim.

Analitik grubundan fikirlerinden yararlandığım, Yrd. Doç. Dr. Sibel IRMAK Öğr. Gör. Dr. Arif HESENOV'a ve Dr. Osman Malik ATANUR'a teşekkür ederim

Serkan KARACA, Deniz YILDIRIM, Serkan KOLDAŞ, Burak AY, Laboratuvar arkadaşlarımdan Dilek Akbaşlar, Murat Çopur, Onur Demirkol, Zeynep Tunalı, Tayfun Hüyükpınar, Duygu Erçelik, Z. Özlem(Şirin) Biçan, Ayşegül Doğan katkılarından dolayı tüm proje öğrencilerimize ayrıca çocukluk arkadaşım Muhittin Yıldırım'a ve dostum Mehmet TÜRKMENOĞLU'na teşekkür ederim.

Maddi ve manevi desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen değerli anneme, babama ve kardeşlerime; Ayrıca, manevi desteğinden dolayı sevgili eşim Esma TÜRK'e ve varlığıyla oğlum Kerem Ata TÜRK'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
SİMGELER ve KISALTMALAR	XIV
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	5
2.1. Tıbbi Bitkilerin Türkiye ve Dünyadaki Önemi	5
2.2. Uçucu Yağlar	6
2.2.1. Terpenoid Yapısında Olmayan Hidrokarbonlar	6
2.2.2. Terpenoidler	6
2.2.2.1. Monoterpenler	7
2.2.2.1.(1). Asiklik Monoterpenler	8
2.2.2.1.(2). Siklik Monoterpenler	9
2.2.2.1.(2).a. Monosiklik Monoterpenler	9
2.2.2.1.(2).b. Bisiklik Monoterpenler	11
2.2.2.1.(2).c. Trisiklik Monoterpenler	12
2.2.2.2. Seskiterpenler	13
2.2.2.2.(1). Asiklik Seskiterpenler	13
2.2.2.2.(2). Monosiklik Seskiterpenler	14
2.2.2.2.(3). Bisiklik Seskiterpenler	15
2.2.2.3. Diterpenler	16
2.3. Tıbbi Bitkiler için Genel Ekstraksiyon Metodları	17
2.4. Tıbbi Bitkilerin Ekstraksiyonunda Uygulanan Yeni Yöntemler	17
2.4.1. Mikrodalga Ekstraksiyonu	17
2.4.2. Ultrasonik Ekstraksiyon	18
2.4.3. Phytonics İşlem	18

2.4.4. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu.....	18
2.4.4.1. Süperkritik Akışkanlar	19
2.4.4.2. Süperkritik Akışkanın Seçimi.....	22
2.5. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar	24
2.6. Toplam Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemleri.....	26
2.6. 1. CUPRAC(Cupric Reducing Antioxidant Capacity; Cu(II) iyonu indirgen Antioksidan Kapasite) Yöntemi.....	26
2.6.2. Folin Cicalteu Yöntemi.....	26
2.6.3. DPPH Yöntemi.....	27
2.7. Dereotu Ekstraksiyonu ile İlgili Çalışmalar.....	27
2.8. Çörekotu Ekstraksiyonu ile İlgili Çalışmalar.....	29
2.9. Kişniş Ekstraksiyonu ile İlgili Çalışmalar.....	31
2.10. Yıllık Pelinotu Ekstraksiyonu ile İlgili Çalışmalar.....	33
2.11. Taşnanesi Ekstraksiyonu ile İlgili Çalışmalar.....	34
2.12. Süper Kritik/Sub Kritik Akışkanlarla Diğer Bitkilerin Ekstraksiyonu ile İlgili Çalışmalar.....	35
3. MATERYAL VE METOD.....	39
3.1. Materyal.....	39
3.1.1. Kullanılan Bitkiler ve Kimyasallar.....	39
3.1.2. Kullanılan Cihaz, Araç ve Gereçler	39
3.2. Metot.....	40
3.2.1. skCO ₂ E Yöntemiyle Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması.....	40
3.2.2. sbkH ₂ OYöntemiyle Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması.....	40
3.2.3. sbkEtOHE Yöntemiyle Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması	40
3.2.4. Su Buharı Destilasyonu ile Bitki Ekstraksiyonu(SBD).....	41
3.2.5. Ultrasonik Banyoda Organik Çözücülerle Bitki Ekstraksiyonu(USE),41	
3.2.6. Organik Çözücülerle Geri Soğutucu Altında Kaynatma ile Bitki Ekstraksiyonu(GSK).....	41
3.3.1. Metilleme İşlemi.....	42
3.3.2. Katı Faz Ekstraksiyonu(KFE).....	42
3.3.3. Kromatografik Ayırma ve Tanımlama	43

3.3.4. Kovat İndislerinin Hesaplanması.....	44
3.4.1. DPPH Yöntemi.....	44
3.4.2. CUPRAC Yöntemi ile Toplam Antioksidan Aktivite Ölçülmesi.....	44
3.4.3. Folin Cicalteu Yöntemi ile Toplam Fenol İçerik Tayini.....	45
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	47
4.1. Bitkilerin Ekstraksiyon Verimleri ve Kimyasal Kompozisyonları.....	47
4.1.1. Dereotu ile Yapılan Ekstraksiyonlar.....	49
4.1.2. Çörekotu ile Yapılan Ekstraksiyonlar.....	54
4.1.3. Kişniş ile Yapılan Ekstraksiyonlar.....	60
4.1.4. Yıllık Pelinotu ile Yapılan Ekstraksiyonlar.....	65
4.1.5. Taşnanesi ile Yapılan Ekstraksiyonlar.....	73
4.2. Bitkilerin Antioksidan Kapasiteleri.....	78
4.2.1. Dereotundan Elde Edilen Uçucu Yağ ve Ekstraktların Antioksidan Aktiviteleri.....	78
4.2.1.1. DPPH Yöntemi.....	78
4.2.1.2. CUPRAC Yöntemi.....	82
4.2.1.3. Folin Cicalteu Yöntemi.....	83
4.2.2. Çörekotundan Elde Edilen Uçucu Yağ ve Ekstraktların Antioksidan Aktiviteleri.....	85
4.2.2.1. DPPH Yöntemi.....	85
4.2.2.2. CUPRAC Yöntemi.....	89
4.2.2.3. Folin Cicalteu Yöntemi.....	90
4.2.3. Kişnişden Elde Edilen Uçucu Yağ ve Ekstraktların Antioksidan Aktiviteleri.....	92
4.2.3.1. DPPH Yöntemi.....	92
4.2.3.2. CUPRAC Yöntemi.....	96
4.2.3.3. Folin Cicalteu Yöntemi.....	97
4.2.4. Yıllık Pelinotundan Elde Edilen Uçucu Yağ ve Ekstraktların Antioksidan Aktiviteleri.....	98
4.2.4.1. DPPH Yöntemi.....	98
4.2.4.2. CUPRAC Yöntemi.....	102

4.2.4.3. Folin Cicalteu Yöntemi.....	103
4.2.5. Taşnanesinden Elde Edilen Uçucu Yağ ve Ekstraktların	
Antioksidan Aktiviteleri	104
4.2.5.1. DPPH Yöntemi.....	104
4.2.5.2. CUPRAC Yöntemi.....	108
4.2.5.3. Folin Cicalteu Yöntemi.....	109
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	113
5.1. Sonuçlar.....	113
5.1.1. Ekstraksiyon Deneylerine Ait Sonuçlar.....	113
5.1.2. Antioksidan Aktivite Belirleme Deneylerine Ait Sonuçlar.....	116
5.2. Öneriler.....	118
KAYNAKLAR.....	119
ÖZGEÇMİŞ.....	127

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 2.1. Süperkritik akışkanların fiziksel özellikleri.....	22
Çizelge 2.2. SC-CO ₂ nin çeşitli sıcaklık ve basınçtaki fiziksel özellikleri.....	23
Çizelge 2.3. Doğal maddelerin SC-CO ₂ de çözünürlükleri.....	24
Çizelge 4.1. sub ve süperkritik akışkanlarla ekstraksiyon için çalışma koşulları...	48
Çizelge 4.2. Ekstraksiyon metoduna göre hazırlanan ekstraktların ekstraksiyon verimleri	48
Çizelge 4.3. <i>Anethum graveolens</i> L.(Dereotu)'nun ekstraksiyon metoduna göre kimyasal kompozisyonu	52
Çizelge 4.4. <i>Nigella sativa</i> L. (çörekotu)'nun ekstraksiyon metoduna göre kimyasal kompozisyonu	57
Çizelge 4.5. <i>Coriandrium sativum</i> L(kişniş)'nin ekstraksiyon metoduna göre kimyasal kompozisyonu	63
Çizelge 4.6. <i>Artemissia annua</i> L(yıllık pelinotu)'nun ekstraksiyon metoduna göre kimyasal kompozisyonu.....	68
Çizelge 4.7. <i>Micromeria fruticosa</i> (taşnanesi)'nin ekstraksiyon yöntemine göre kimyasal kompozisyonu	75
Çizelge 4.8. Dereotunun altı farklı yöntemle elde edilen ekstraktlarının ve sentetik antioksidan BHT'nin DPPH yöntemi ile I ₅₀ değerleri.....	82
Çizelge 4.9. Dereotu ekstraktlarının CUPRAC yöntemi ile toplam antioksidan aktiviteleri	83
Çizelge 4.10. Dereotu ekstraktlarının Folin Cicalteu yöntemi ile toplam fenol içeriklerinin belirlenmesi	84
Çizelge 4.11. Çörekotunun altı farklı yöntemle elde edilen ekstraktlarının ve sentetik antioksidan BHT'nin DPPH yöntemi ile I ₅₀ değerleri.....	89
Çizelge 4.12. Çörekotu ekstraktlarının CUPRAC yöntemi ile toplam antioksidan aktiviteleri	90
Çizelge 4.13. Çörekotu ekstraktlarının Folin Cicalteu yöntemi ile toplam fenol içeriklerinin belirlenmesi	91

Çizelge 4.14. Kişnişin altı farklı yöntemle elde edilen ekstraktlarının ve sentetik antioksidan BHT'nin DPPH yöntemi ile I ₅₀ değerleri.....	96
Çizelge 4.15. Kişniş ekstraktlarının CUPRAC yöntemi ile toplam antioksidan aktiviteleri	97
Çizelge 4.16. Kişniş ekstraktlarının Folin Cicalteu yöntemi ile toplam fenol içeriklerinin belirlenmesi	98
Çizelge 4.17. Yıllık Pelinotunun altı farklı yöntemle elde edilen ekstraktlarının ve sentetik antioksidan BHT'nin DPPH yöntemi ile I ₅₀ değerleri.....	102
Çizelge 4.18. Yıllık Pelinotu ekstraktlarının CUPRAC yöntemi ile toplam antioksidan aktiviteleri	102
Çizelge 4.19. Yıllık Pelinotu ekstraktlarının Folin Cicalteu yöntemi ile toplam fenol içeriklerinin belirlenmesi	103
Çizelge 4.20. Taşnanesi ekstraktlarının ve sentetik antioksidan BHT'nin DPPH yöntemi ile I ₅₀ değerleri.....	108
Çizelge 4.21. Taşnanesi ekstraktlarının CUPRAC yöntemi ile toplam antioksidan aktiviteleri	108
Çizelge 4.22. Taşnanesi ekstraktlarının Folin Cicalteu yöntemi ile toplam fenol içeriklerinin belirlenmesi	109
Çizelge 4.23. DPPH yöntemiyle radikal temizleme aktivitesine göre etkin bitkinin ve etkin ekstraksiyon yönteminin belirlenmesi.....	110
Çizelge 4.24. CUPRAC yöntemiyle toplam antioksidan kapasitesine göre etkin bitkinin ve etkin ekstraksiyon yönteminin belirlenmesi.....	111
Çizelge 4.25. FOLIN yöntemiyle toplam fenol içeriğine göre etkin bitkinin ve etkin ekstraksiyon yönteminin belirlenmesi.....	112

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 2.1. İsoopren molekülü.....	7
Şekil 2.2. Monoterpen bileşikleri.....	7
Şekil 2.3. Benzen halkası içeren terpenler.....	8
Şekil 2.4. Düzenli asiklik monoterpenler.....	8
Şekil 2.5. Asiklik aldehit monoterpenleri.....	9
Şekil 2.6. Monosiklik monoterpenler.....	10
Şekil 2.7. Hidroksil grubu içeren monosiklik ve aromatik monoterpenler.....	10
Şekil 2.8. Keton grubu içeren monosiklik monoterpenler.....	11
Şekil 2.9. Bisiklik monoterpenler.....	11
Şekil 2.10. α -pinen ve β -pinen.....	12
Şekil 2.11. Bornaen, kamfen ve fençan tipi monoterpenler.....	12
Şekil 2.12. Tujan tipi monoterpenler.....	12
Şekil 2.13. Seskiterpen tipleri.....	13
Şekil 2.14. Asiklik seskiterpen tipleri.....	14
Şekil 2.15. Asiklik oksijenli seskiterpen tipleri.....	14
Şekil 2.16. Hidroksil grubu içeren asiklik seskiterpen tipleri.....	14
Şekil 2.17. Monosiklik seskiterpen tipleri.....	14
Şekil 2.18. Monosiklik seskiterpen tipleri.....	15
Şekil 2.19. Bisiklik seskiterpen tipleri.....	15
Şekil 2.20. Bisiklik seskiterpenlerden selinenin izomerleri.....	16
Şekil 2.21. Selinenin oksijenli türevleri.....	16
Şekil 2.22. Diterpen tipleri.....	16
Şekil 2.23. CO ₂ için yoğunluk/basınç diyagramı.....	20
Şekil 2.24. Reaktif oksijen türlerinin çeşitli doku, organlarda neden olduğu hastalıklar ve hasarlar.....	25
Şekil 3.1. sub ve süperkritik akışkanlarla yapılan ekstraksiyon sistemi.....	41
Şekil 3.2. Katı Faz Ekstraksiyon Düzenliği.....	43
Şekil 4.1. Dereotunun SBD, GSK, USE, skCO ₂ E, sbkH ₂ OE ve sbkEtOHE yöntemleriyle, elde edilen uçucu yağların kromatogramları.....	54

Şekil 4.2. Çörekotunun SBD, GSK, USE, skCO ₂ E, sbkH ₂ OE ve sbkEtOHE yöntemleriyle, elde edilen uçucu yağların kromatogramları.....	60
Şekil 4.3. Kişnişin SBD, GSK, USE, skCO ₂ E, sbkH ₂ OE ve sbkEtOHE yöntemleriyle, elde edilen uçucu yağların kromatogramları.....	65
Şekil 4.4. Yıllık Pelinotunun SBD, GSK, USE, skCO ₂ E, sbkH ₂ OE ve sbkEtOHE yöntemleriyle, elde edilen uçucu yağların kromatogramları.....	73
Şekil 4.5. Taşnanesinin SBD, GSK, USE, skCO ₂ E, sbkH ₂ OE ve sbkEtOHE yöntemleriyle, elde edilen uçucu yağların kromatogramları.....	77
Şekil 4.6. Dereotunun SBD ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim-%inhibisyon grafiği.....	79
Şekil 4.7. Dereotunun GSK ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim-%inhibisyon grafiği.....	79
Şekil 4.8. Dereotunun USE ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim-%inhibisyon grafiği.....	80
Şekil 4.9. Dereotunun sbkH ₂ OE yöntemiyle ile elde edilen ekstraktın Derişim-%inhibisyon grafiği.....	80
Şekil 4.10. Dereotunun sbkEtOHE ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim- %inhibisyon grafiği.....	81
Şekil 4.11. Dereotunun skCO ₂ E ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim- %inhibisyon grafiği.....	81
Şekil 4.12. Dereotu ekstraktlarının CUPRAC yöntemiyle toplam antioksidan aktivitesinin belirlenmesi için standart troloks kalibrasyon eğrisi.....	83
Şekil 4.13. Dereotu ekstraktlarının toplam fenol içeriklerinin belirlenmesi için standart gallik asit kalibrasyon eğrisi	84
Şekil 4.14. Çörekotunun SBD ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim-%inhibisyon grafiği.....	86
Şekil 4.15. Çörekotunun GSK ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim-%inhibisyon grafiği.....	86
Şekil 4.16. Çörekotunun USE ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim-%inhibisyon grafiği.....	87

Şekil 4.17. Çörekotunun sbkH ₂ OE yöntemiyle ile elde edilen ekstraktın Derişim- %inhibisyon grafiği.....	87
Şekil 4.18. Çörekotunun sbkEtOHE ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim- %inhibisyon grafiği.....	88
Şekil 4.19. Çörekotunun skCO ₂ E ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim- %inhibisyon grafiği.....	88
Şekil 4.20. Çörekotu ekstraktlarının CUPRAC yöntemiyle toplam antioksidan değerlerini belirlenmesi için standart troloks kalibrasyon eğrisi.....	90
Şekil 4.21. Çörekotu ekstraktlarının toplam fenol içeriklerinin belirlenmesi için standart gallik asit kalibrasyon eğrisi.....	91
Şekil 4.22. Kişnişin SBD ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim- %inhibisyon grafiği.....	92
Şekil 4.23. Kişnişin GSK ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim- %inhibisyon grafiği.....	93
Şekil 4.24. Kişnişin USE ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim- %inhibisyon grafiği.....	93
Şekil 4.25. Kişnişin sbkH ₂ OE yöntemiyle ile elde edilen ekstraktın Derişim- %inhibisyon grafiği.....	94
Şekil 4.26. Kişnişin sbkEtOHE ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim- %inhibisyon grafiği.....	95
Şekil 4.27. Kişnişin skCO ₂ E ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim- %inhibisyon grafiği.....	95
Şekil 4.28. Kişniş ekstraktlarının CUPRAC yöntemiyle toplam antioksidan değerlerini belirlenmesi için standart troloks kalibrasyon eğrisi.....	97
Şekil 4.29. Kişniş ekstraktlarının toplam fenol içeriklerinin belirlenmesi için standart gallik asit kalibrasyon eğrisi.....	98
Şekil 4.30. Yıllık Pelinotunun SBD ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim- %inhibisyon grafiği.....	99
Şekil 4.31. Yıllık Pelinotunun GSK ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim- %inhibisyon grafiği.....	99

Şekil 4.32. Yıllık Pelinotunun USE ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim- %inhibisyon grafiğı	100
Şekil 4.33. Yıllık Pelinotunun sbkH ₂ O ₂ yöntemiyle ile elde edilen ekstraktın Derişim- %inhibisyon grafiğı	100
Şekil 4.34. Yıllık Pelinotunun sbkEtOHE ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim- %inhibisyon grafiğı	101
Şekil 4.35. Yıllık Pelinotunun skCO ₂ E ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim- %inhibisyon grafiğı	101
Şekil 4.36. Yıllık Pelinotu ekstraktlarının CUPRAC yöntemiyle toplam antioksidan değerlerini belirlenmesi için standart troloks kalibrasyon eğrisi	103
Şekil 4.37. Yıllık Pelinotu ekstraktlarının toplam fenol içeriklerinin belirlenmesi için standart gallik asit kalibrasyon eğrisi	104
Şekil 4.38. Taşnanesinin SBD ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim- %inhibisyon grafiğı	105
Şekil 4.39. Taşnanesinin GSK ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim- %inhibisyon grafiğı	105
Şekil 4.40. Taşnanesinin USE ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim- %inhibisyon grafiğı	106
Şekil 4.41. Taşnanesini sbkH ₂ O ₂ yöntemiyle ile elde edilen ekstraktın Derişim- %inhibisyon grafiğı	106
Şekil 4.42. Taşnanesinin sbkEtOHE ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim- %inhibisyon grafiğı	107
Şekil 4.43. Taşnanesinin skCO ₂ E ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim- %inhibisyon grafiğı	107
Şekil 4.44. Taşnanesi ekstraktlarının CUPRAC yöntemiyle toplam antioksidan değerlerini belirlenmesi için standart troloks kalibrasyon eğrisi	109
Şekil 4.45. Taşnanesi ekstraktlarının toplam fenol içeriklerinin belirlenmesi için standart gallik asit kalibrasyon eğrisi	110

SİMGELER ve KISALTMALAR

SBD	: Su Buharı Destilasyonu
GSK	: Geri Soğutucu Altında Kaynatma
USE	: Ultrasonik Banyo Ekstraksiyonu
sbkH ₂ O	: Sub-Kritik Su Ekstraksiyonu
sbkEtOHE	: Sub-Kritik Etil Alkol Ekstraksiyonu
skCO ₂ E	: Süperkritik Karbondioksit Ekstraksiyonu
TR	: Troloks
GA	: Gallik Asit
KFE	: Katı faz ekstraksiyonu
KI	: Kovat İndeksi
CUPRAC	: CUPRAC yöntemi ile toplam antioksidan belirleme metodu
DPPH	: Radikal temizleme aktivite belirleme metodu
FOLIN	: Toplam fenol içeriği belirleme metodu
EtOH	: Etil alkol
BHT	: Bütillenmiş hidroksi toluen
GC-MS	: Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi
I ₅₀	: DPPH derişimini % 50 azaltan derişim
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
g	: Gram
w/w	: ağırlık/ağırlık
v/v	: hacim/hacim

1. GİRİŞ

Tıbbi bitkiler; modern ilaçlar, geleneksel ilaçlar, gıda katkıları, nutrosotikler, sentetik ilaçların kimyasal birimleri ve farmakolojik ara ürünler için en zengin biyolojik kaynaklardır. Aromatik bitkiler ise tat, koku, kozmetikler ve kimyasal terpenlerin kaynağıdır. Tıbbi ve aromatik bitkiler, gelişmiş ülkelerde olduğu gibi gelişmekte olan ülkelerde de basit yöntemlerden en ileri tekniklere kadar çeşitli yöntemlerle ekstrakte edilerek değerli bir biyo kaynağa dönüştürülebilmektedir.

Tıbbi ve aromatik bitkilerin endüstriyel olarak değerlendirilmesi; çeşitli teknikler kullanarak aktif bileşenlerinin ekstrakte edilmesiyle başlar. Bu amaçla kullanılan yaygın yöntemler; maserasyon (ıslatma), demleme, sızdırma, parçalama, Soxhlet ekstraksiyonu, organik çözücülerle ekstraksiyon, mikrodalga yardımıyla ekstraksiyon, süperkritik akışkan ekstraksiyonu, ultrasonik ekstraksiyon ve hidroflorokarbon çözücülerle ekstraksiyondur. Aromatik bitkiler için hidro destilasyon (su, buhar ve su-buhar destilasyonları), sulu maserasyon en yaygın olarak uygulanan yöntemlerdir. Çok daha yeni teknikler ise, katı-faz mikro ekstraksiyon, protoplast ekstraksiyon, mikrodestilasyon, termomikro destilasyon ve moleküler destilasyondur.

Tüm dünyada, bitkisel tıbbi ilaçlara, nutrosotiklere ve sağlık için doğal ürünlere gösterilen ilginin artmasıyla, tıbbi bitki ekstraktı üreticileri ve uçucu yağ ürecileri, ekstrakt ve uçucu yağ üretimi için belirli bir kaliteye sahip ve çalışma yapan her bir grubun birbirinden farklı sonuçlar vermeyeceği çok daha makul ekstraksiyon yöntemleri kullanmaya başlamışlardır. Bu yaklaşımlar, hem artan kaliteli ürün isteğini karşılayabilmek hem de özellikle gelişmiş ülkelerde pazar sahibi olmak isteyen tıbbi aromatik bitkilerce zengin, gelişmekte olan ülkelerde kabul görmeye başlamıştır.

Uçucu yağlar, düşük konsantrasyonlarda bulunan kompleks karışımlardır. Bunların analiz edilmeden önce bulundukları matriksden uzaklaştırılması gerekir. Bu amaçla hidrodestilasyon, buhar destilasyonu Soxhlet ekstraksiyonu yaygın olarak kullanılır. Ancak uçucu yağları oluşturan moleküller ısı olarak hassas ve sıcaklıkla kimyasal değişikliklere uğrayabilen bileşiklerdir. Bazı uçucu bileşenlerin kaybı, ısı

ve hidrolitik etkilerle doymamış ve ester bileşiklerinin parçalanması ve ekstrakta zehirli çözücü kalıntısı, bu yöntemler kullanıldığında sık karşılaşılan dezavantajlardır. Bu dezavantajlar, uçucu yağ ekstraksiyonunda yeni, daha az enerji daha az çözücü kullanılan, süperkritik akışkan ekstraksiyonu, ultrasonik ekstraksiyon ve mikrodalga ekstraksiyonu gibi “yeşil” tekniklerin gelişmesine neden olmuştur.

Uçucu yağlar, gıda, farmakoloji ve parfüm endüstrisinde, koku ve tatları için kullanılan önemli doğal ürünlerdir. Özellikle enantiomerler ve yararlı kiral yapıtaşların sentezinde, aromatik kimyasalların da kaynağıdır. Son yıllarda uçucu yağların biyolojik ve farmakolojik aktiviteleri ve bileşenleri, artan bir şekilde bir ivme kazanmıştır.

Uçucu yağların çoğu, hidrokarbonlar, esterler, terpenler, laktonlar, fenoller, aldehitler, asitler, alkoller ve ketonlardan oluşur. Bunların arasında oksijenli bileşenler (alkol, ester, aldehit, keton, lakton, fenol) ana koku kaynağıdır. Bu bileşenler oksitleyici ve reçineleşme etkilerine karşı diğer bileşenlere göre daha kararlıdır. Diğer taraftan, monoterpenler ve seskiterpenler gibi doymamış bileşenler hava ve ışık varlığında oksitlenme ve reçineleşme eğilimindedirler.

Son yıllarda süperkritik akışkan ile ekstraksiyon bir alternatif yöntem olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu alanda en yaygın kullanılan çözücü CO₂'dir. Sub-kritik su ise son birkaç yıl içinde çözücü olarak araştırmacılar tarafından kullanılmaya başlanmıştır. Sub-kritik su ekstraksiyonu, 100-374°C aralığında ve sıvı fazın oluşmasını sağlayacak bir basınçta suyun ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanıldığı bir yöntemdir. Bu koşullardaki su; pek çok organik molekül için iyi bir çözücü özelliğine sahip olması nedeniyle, bitki ekstraksiyonu için klasik ve süperkritik CO₂ ekstraksiyonu yöntemlerine karşı alternatif bir yöntem olarak gelecek vaat eden bir yöntem olarak son yıllarda araştırmacılar tarafından artan bir ilgiyle kullanılmaktadır. Bunların yanı sıra etanol toksik bir çözücü olmaması, suya göre düşük kritik sıcaklığa sahip olması, polaritesinin CO₂ de göre yüksek olması ve daha az korozyon özellik göstermesi nedeniyle bitki ekstraksiyonunda alternatif olmaya adaydır. Süperkritik akışkanlarla ekstraksiyon, hem hızlı hem de düşük çalışma sıcaklığı nedeniyle, bitkilerin ısıl olarak dayanıksız bileşenlerinin ekstrakte edilmesi, son otuz yılda bilim insanlarınca çok araştırılmasına neden olmuştur.

İnsan sağlığı açısından büyük risk oluşturan başta kanser olmak üzere kalp ve damar hastalıkları gibi pek çok hastalığın ortaya çıkma riskini azaltan veya olumlu etkiler gösteren antioksidanlar, günümüzde oldukça ilgi çeken ve üzerinde pek çok araştırmalar yapılan bir konudur. Vücutta çeşitli metabolik reaksiyonlar sonucu oluşan ve bir veya daha fazla eşleşmemiş elektronu olması sebebiyle oldukça reaktif olan serbest radikallerin aşırı miktarları (reaktif oksijen türleri üretiminin, tüketiminden fazla olması ‘oksidatif stres’ olarak adlandırılır) birçok doku, organ ve sistemlerde hasarlara neden olur. Ayrıca, bitki ekstraktlarının gıda maddelerinin korunmasında da kullanılabildiği bilinmektedir. Gıda maddelerinin işlenmesi, depolanması ve diğer işlemler sırasında lipidlerin oksidasyonu gıda ürünlerinde bozunmalara neden olan işlemlerin başında gelir. Dolayısıyla bunların dayanıklılığını artırmak için sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır. Doğal antioksidanlar, sentetik olan bütillenmiş hidroksi tolueen (BHT) ve bütillenmiş hidroksi anisol (BHA) bileşiklerinin kanserojenik oldukları şüpheleri nedeniyle doğal antioksidanlar tercih edilir hale gelmişlerdir.

Bu çalışmada, tıbbi özelliklere sahip olan dereotu (*Anethum graveolens*), çörekotu (*Nigella sativa* L.), kişniş (*Coriandrum sativum* L.) yıllık pelinotu (*Artemisia annua*) ve taşnanesi (*Micromeria fruticosa* L.) bitkilerinin kimyasal kompozisyonları ve antioksidan aktiviteleri üzerine sub ve süperkritik akışkan ekstraksiyon metodlarının etkileri incelenmiştir. Uygulanan sub/süperkritik akışkan ekstraksiyonları, subkritik su, subkritik etanol ve süperkritik CO₂ kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemler su buharı destilasyonu, gerisoğutucu altında kaynatma ve ultrasonik banyoda organik çözücü ile ekstraksiyon yöntemleri ile karşılaştırılmıştır. Ekstraktlara uygulanan antioksidan aktivite belirleme metodları olarak, serbest radikal temizleme yöntemi (DPPH), toplam antioksidan kapasitesi (CUPRAC) ve toplam fenol içeriği (FOLIN) yöntemleri kullanılmıştır. Belirlenen antioksidan kapasiteye göre en etkin bitki ekstraktı ve bir bitki için en yüksek antioksidan aktivite gösteren ekstraksiyon metodu değerlendirilmesi yapılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Tıbbi Bitkilerin Türkiye ve Dünyadaki Önemi

Tıbbi aromatik bitkiler alanı çok değişik endüstri kollarını kapsamaktadır. Başta ilaç sanayi olmak üzere, parfüm, kozmetik, sabun, çiklet, şeker ve daha birçok sanayi kollarının ham maddesini oluşturmaktadır. Özellikle baharat olarak tüketimi bütün dünyada yaygın bir şekildedir. Bu kadar önemli olan tüketim alanı çok geniş bulunan bu grup bitkilerin maalesef sağlıklı istatistikî rakamları bulunmamaktadır. Diğer sanayi kollarında da tüketim miktarları çok fazla olmamakla beraber, az miktardaki bir etken maddenin etkisinin fazla olması nedeni ile fiyatları oldukça yüksek bulunmaktadır.

Dünyada olduğu gibi Türkiye’de de tıbbi bitkiler hakkında sağlıklı istatistikî rakamlar bulmak mümkün değildir. Eskiden beri muntazam bir şekilde tarımı yapılan haşhaş, anason, şerbetçi otu, kimyon gibi tıbbi bitkilerin dışındaki bitkilerin Türkiye’de üretimi nedir, üretilmeden floradan toplanan miktarın ne kadar olduğu tam olarak bilinmemektedir. Ancak Türkiye florası tıbbi bitkiler bakımından çok zengindir. Bu zenginliğin nedeni ise Asya ve Avrupa kıtaları üzerinde bulunan ve 780.476 km² alanı kaplayan yurdumuzun iklimsel bakımından çok büyük farklılıklar göstermesinden kaynaklanmaktadır. Küçük Asya diye de anılan ve çok değişik iklimlerin bulunması nedeni ile zengin bir bitki florasına sahip olan yurdumuzda bugün 11000’den fazla bitki taksonunun bulunduğu belirtilmektedir. Bitki tür sayısının fazla olması yurdumuzun üç florastik bölgenin birleştiği bir yerde bulunmasından kaynaklanmaktadır. Bunlar Avrupa-Sibirya Bölgesi Akdeniz Bölgesi ve İran-Turan Bölgesidir(Ceylan, 1995; Başer, 2002). Günümüzde tıbbi bitkiler piyasasının yıllık yaklaşık 60 milyar dolarlık bir rakama sahip olduğu tahmin edilmektedir. Kişinin tüm dünyada dış satımı yapılan bitkiler arasında yer almakta olup, 121.525.000 \$ değere sahiptir. Dış alımda ise 115.587.000 \$ a ulaşmaktadır. Ülkemizde 347 türün iç ve dış ticaret karı olmaktadır. Dış satımı kişnişte 71.000 \$, çörekotunda 139.000 \$ değere sahiptir. Ülkemizde uçucu yağ dış satımı yaklaşık 25 milyon dolar olarak gerçekleşmiştir (Bayram ve ark., 2010).

2.2. Uçucu Yağlar

Uçucu yağ, canlı organizmalar tarafından sentezlenen uçucu bileşenlerin kompleks bir karışımıdır ve bulundukları matriksten su, buhar ve kuru destilasyon ya da narenciyedeki gibi sıkma yoluyla serbest hale getirilebilir.

Uçucu yağlar terpenoid veya terpenoid olmayan uçucu bileşenleri ihtiva eder. Bunların hepsi hidrokarbonlar ve onların oksijenli türevleridir. Bazıları azot ve kükürt türevleri içerebilirler. Alkol, asit, ester, epoksit, aldehit, keton amin, sülfid vb. yapılarda olabilirler. Uçucu yağlarda monoterpenler, seskiterpenler ve diterpenler bulunur. Bunlara ek olarak fenil propanoidlere, yağ asitleri ve bunların esterleri veya bunların parçalanma ürünlerine rastlanılabilir. Uçucu yağlar genellikle aromatik bitkilerde yağ hücrelerinde salgı kanallarında veya boşluklarında ya da salgı tüyleri içerisinde oluşurlar. Bazı durumlarda karbohidratlar ile bağlıdırlar. Bu durumda glikozidik bağın enzimatik reaksiyonlar ile hidroliziyle serbest kalırlar. Uçucu yağ bileşenleri terpenoidler ve terpenoid olmayan hidrokarbonlar şeklinde sınıflandırılabilirler (Berger, 2007).

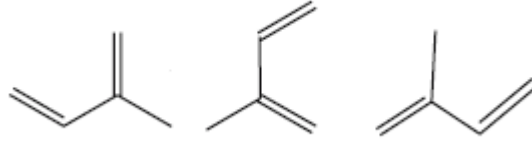
2.2.1. Terpenoid Yapısında Olmayan Hidrokarbonlar

Uçucu yağlarda terpenoid yapıda olamayan hidrokarbonlar, fosfolipitlerin ve yağ asitlerinin metabolik dönüşümleri veya parçalanmaları yoluyla oluşan kısa zincirli alkoller ve aldehitler şeklinde bulunurlar (Berger, 2007).

2.2.2. Terpenoidler

İsoprenoidler olarak adlandırılan terpenler iki veya daha fazla isopren moleküllerinin baş-kuyruk düzenlemeleri yoluyla oluşan doğal kimyasalların en geniş sınıflarından biridir. 30.000'den fazla terpenoid, bitkilerden mikroorganizmalardan ve hayvanlardan izole edilmişlerdir. İki isopren molekülünden bir monoterpen oluşur (Şekil 2.1). C_5H_8 bileşikler hemiterpenlerdir. Seskiterpenler üç isopren birimi içerirler ve bundan dolayı $C_{15}H_{24}$ yapısına

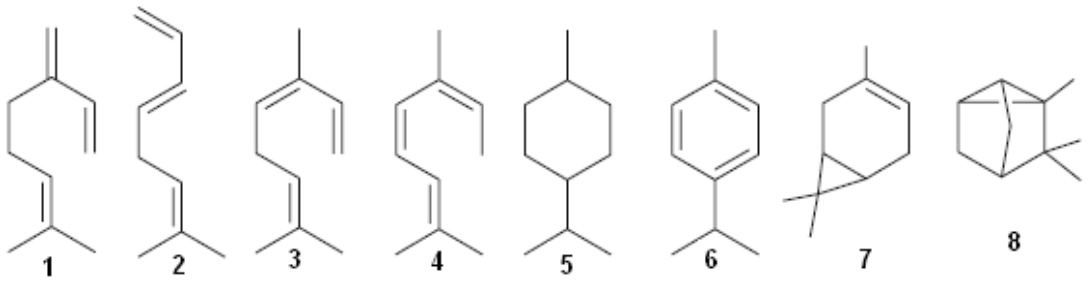
sahiptirler. Dört isopren biriminden oluşan $C_{20}H_{32}$ bileşikler diterpenlerdir. Diterpenler gibi daha ağır terpenler genellikle uçucu yağlarda bulunmazlar. Terpenlerin oksijen içeren türevleri terpenoidlerdir (Berger, 2007).



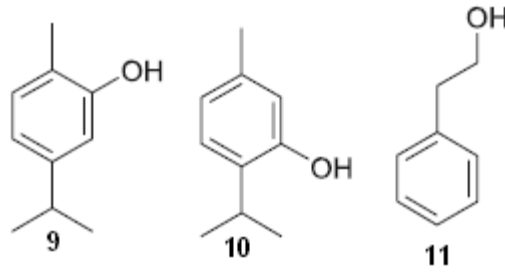
Şekil 2.1 İsoipren molekülü

2.2.2.1. Monoterpenler

Monoterpenler, iki isopren biriminden oluşur; en basit iskelet yapısı 2,6-dimetiloktan'dır. Böylece, β -mirsen **1**, (*E*)- β -osimen **2**, (*Z*)- β -osimen **3**, ve *allo*-osimen **4** gibi lineer ya da asiklik yapılar olabilir (Şekil 2.2.). Ya da en basit formu *p*-mentan **5**, ya da *p*-simen **6** gibi siklik olabilir. Monosiklik **5,6**, bisiklik δ -3-karen **7**, ve trisiklik trisiklen **8**, tipi mono terpenler uçucu yağlarda bulunur (Berger, 2007).



Şekil 2.2. Monoterpen bileşikler

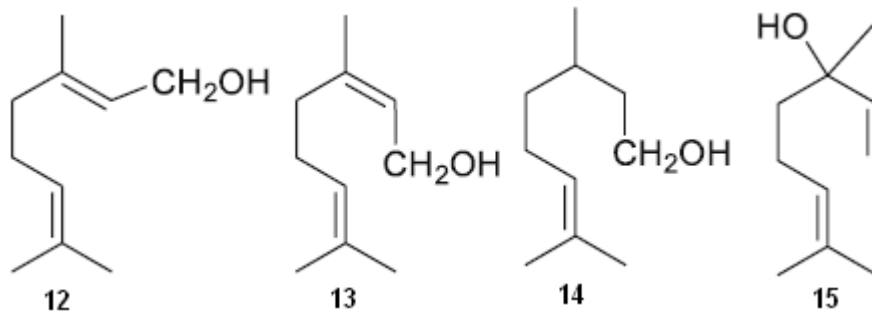


Şekil 2.3. Benzen halkası içeren terpenler

p-simen **6**, karvakrol **9**, timol **10** ve feniletil alkol **11** bir benzen halkası içeren aromatik terpenlerdir; keklik otu (*origanum sp.*), kekik (*thymus sp.*), zater (*satureja sp.*) ve gül (*rosa sp.*) yağlarındaki gibi bir çok uçucu yağların bileşenlerinde yaygın olarak bulunur. Uçucu yağların bir başka önemli bileşen sınıfı fenilpropanoidlerdir. Fenilpropanoidler, farklı biyogenetik kökenlerinden dolayı terpenoid olarak dikkate alınmaz (Berger, 2007).

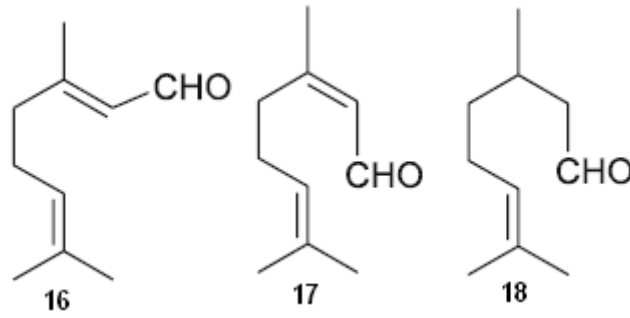
2.2.2.1.(1). Asiklik Monoterpenler

Asiklik monoterpenler mirsen **1**, osimen (2-4) trienlerini ve geraniol **12**, nerol **13**, sitronellol **14**, linalol **15**, alkollerini içeren bir küçük sınıfı oluşturur (Şekil 2.4) (Berger, 2007).



Şekil 2.4. Düzenli asiklik monoterpenler

Sitral; neral **17**, ve geranial **16** aldehytlerinin karışımından doğal olarak oluşmuştur. Bu grupta bulunan başka bir asiklik aldehyt sitronellal'dir **18** (Şekil 2.5) (Berger, 2007).



Şekil 2.5. Asiklik aldehyt monoterpenleri

2.2.2.1.(2) Siklik Monoterpenler

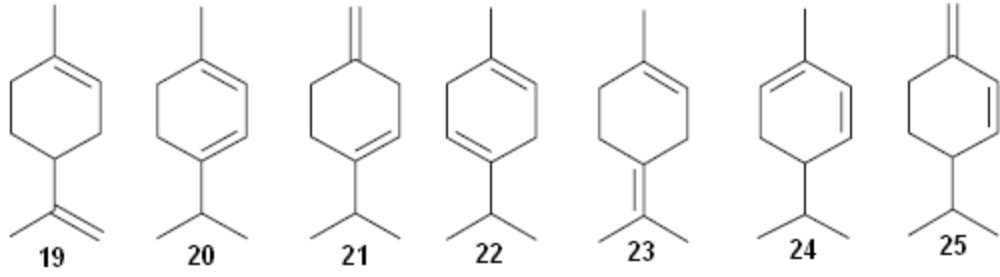
Siklik monoterpenler halka sayılarına göre 3 alt grupta sınıflandırılabilir:

- 1- Monosiklik Monoterpenler
- 2- Bisiklik Monoterpenler
- 3- Trisiklik Monoterpenler

2.2.2.1.(2).a. Monosiklik Monoterpenler

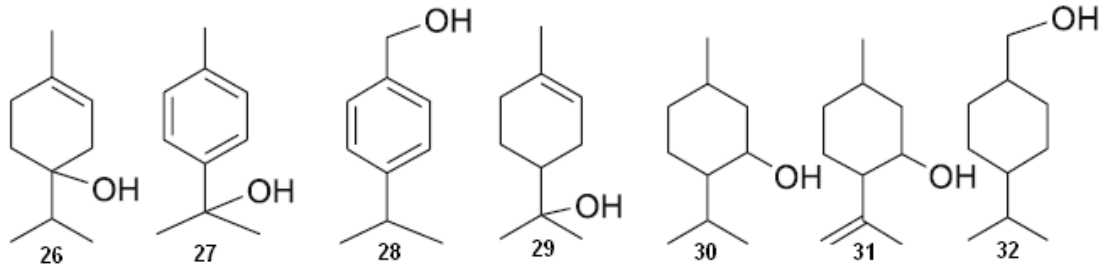
1-metil-4-izopropil-sikloheksan 5 iskeletine sahip *p*-mentan monoterpenleri doğal olarak bulunan monoterpenlerin en geniş grubunu oluşturmaktadır.

p-mentadienler, *a*-terpinil katyonun farklı yeniden düzenlenmelerinden oluşan limonen **19**, *a*-terpinen **20**, *b*-terpinen **21**, *g*-terpinen **22**, terpinolen **23**, *a*-felladren **24** ve *b*-felladren **25** 'dir (Şekil 2.6). Monosiklik monoterpen kendi aralarında da sınıflandırılır (Berger, 2007).



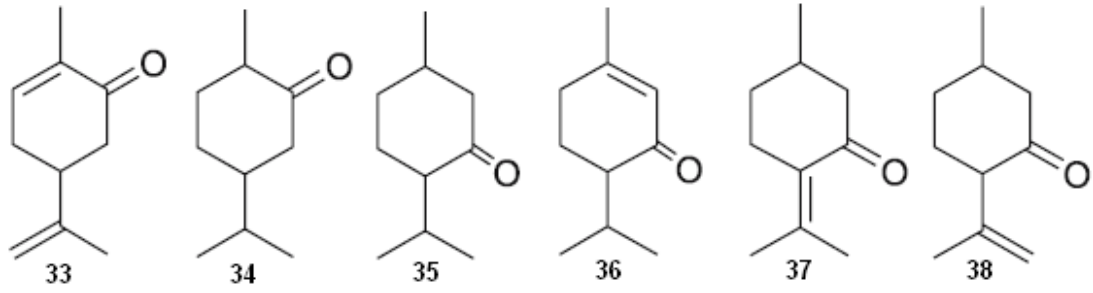
Şekil 2.6. Monosiklik monoterpenler

p-simen **6** ve bunun hidroksillenmiş türevleri, timol **9** ve timolün izomeri karvakrol **10** gibi aromatik monoterpenler, daima *α*-terpinen **20**, *g*-terpinen **22** ve terpinen-4-ol **26** ile birlikte oluşur (Şekil 2.7). *p*-simen-8-ol **27** ve küminil alkol **28** gibi metabolitler, *p*-simenden de türetilir.



Şekil 2.7. Hidroksil grubu içeren monosiklik ve aromatik monoterpenler

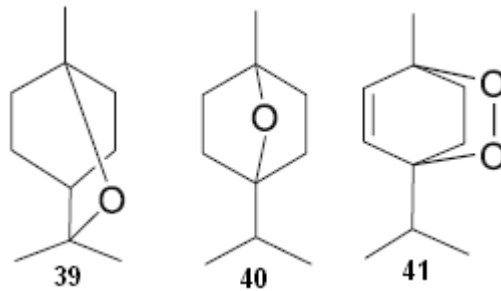
Bu sınıfın diğer önemli üyeleri monoterpen alkoller olarak sınıflandırılan *α*-terpineol **29**, mentol **30**, izopulegol **34** ve cis-hekzahidroküminil alkol gibi oksijenli türevleri içerir. Bu gruptaki ketonlar karvon **33**, dihidrokarvon **34**, izomenton **35**, piperiton **36**, pulegon **37** ve izopulegon **38** olarak sıralanmıştır (Şekil 2.8) (Berger, 2007).



Şekil 2.8. Keton grubu içeren monosiklik monoterpener

2.2.2.1.(2).b. Bisiklik Monoterpenler

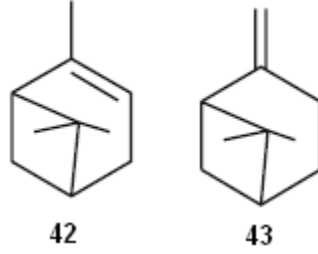
1,8-sineol **39** ve 1,4-sineol **40** siklik eterdir (Şekil 2.9). Askaridol **41** bisiklik oksijenli monoterpindir. Pinan monoterpeneri α -terpinil katyonunun [3.1.1] bisiklik sistemine uyacak şekilde molekül içi yeniden düzenlenmesiyle meydana gelen bisiklik monoterpenerlerdir. α -pinen **42** ve β -pinen **43** çamlardan elde edilen terbenin yağının ana bileşenleridir. Bornaen, kamfen ve fençan-tipi monoterpenerler terpinil katyonunun farklı halkalaşmasıyla oluşan [2.1.1] bisiklik iskelet yapısına sahiptir. Önemli üyeleri borneol **44**, izobornil asetat **45**, kamfen **46**, kamfor **47**, fençon **48**'dur (Şekil 2.11).



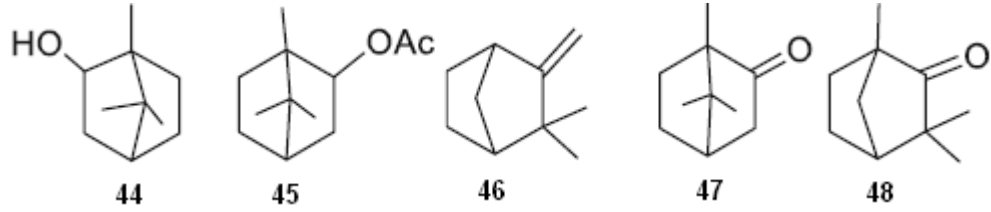
Şekil 2.9. Bisiklik monoterpener

Bisiklo [3.1.0] iskeletinde siklopropan halkası ile nadir bulunan monoterpenerden tujan tipi monoterpenerler direkt olarak terpinen-4-il katyonu veya sabinil katyonundan oluşmuştur. Önemli üyeleri α -tujen **49**, sabinen **50**, sabinen hidratin cis izomeri **51**, sabinol **52** sabinil asetat **53**, α -tujen **54**, β -tujen **55** ve izotujanol **56**'dır (Şekil 2.12).

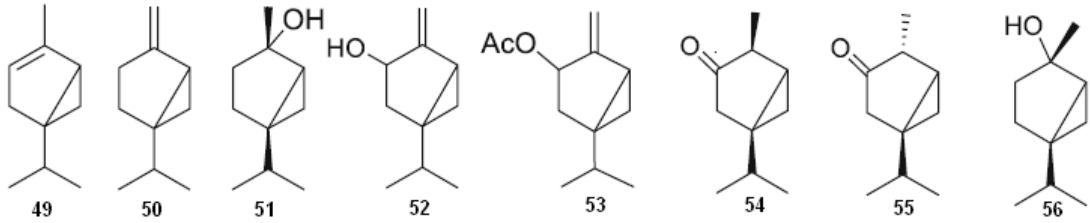
Karan tipi monoterpenler bisiklo [4.1.0] iskeletinde bir siklopropan halkasına sahiptir. *d*-3-karen 7 çeşitli uçucu yağların yaygın bir bileşenidir.



Şekil 2.10. *a*-pinen ve *b*-pinen



Şekil 2.11. Borneol, kamfen ve fençan-tipi monoterpenler



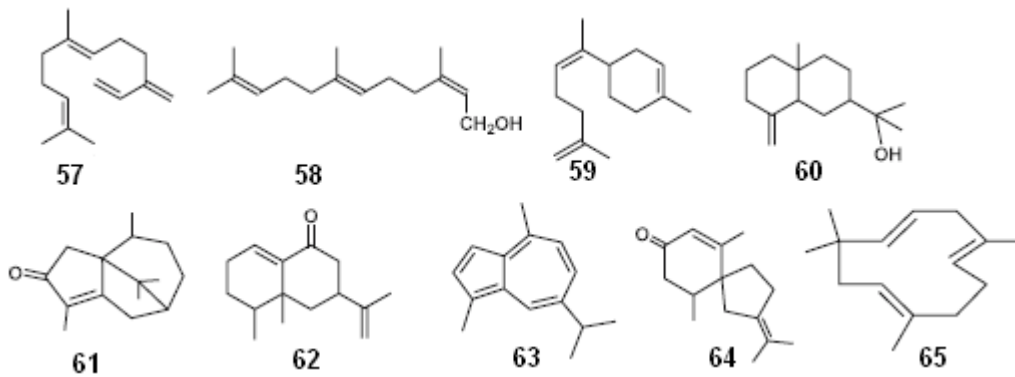
Şekil 2.12. Tujaen tipi monoterpenler

2.2.2.1.(2).c. Trisiklik Monoterpenler

Trisiklen 8 yada 1,7,7-trimetiltrisiklo[2.2.1.0^{2,6}] heptan çeşitli uçucu yağlarda sıklıkla bulunan iyi bir örnektir.

2.2.2.2. Seskiterpenler

Seskiterpenler, $C_{15}H_{24}$ formülüne sahiptirler ve bir monoterpen molekülüne bir isopren biriminin eklenmesiyle oluşur. Lineer, dallanmış ya da siklik olarak bulunurlar ve doymamış bileşiklerdir. Siklik terpenler monosiklik, bisiklik ya da trisiklik olarak bulunurlar. Seskiterpenlerin çeşitli tipleri (57-65) Şekil 2.13.'de görülebilir.

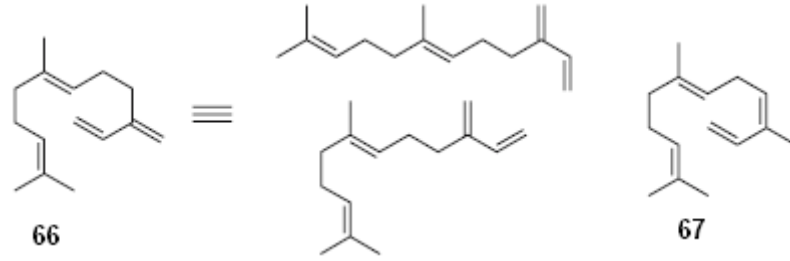


Şekil 2.13 Seskiterpen tipleri

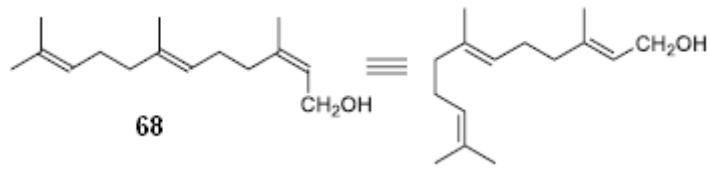
2.2.2.2.(1). Asiklik Seskiterpenler

Şerbetçiotu yağı ve diğer pek çok yağda bulunan *b*-farnesen **66** ve *a*-farnesen yapı izomeridirler. *a*-farnesen **67** ve *b*-farnesenin yapısal sembolleri Şekil 2.14'de gösterilmiştir.

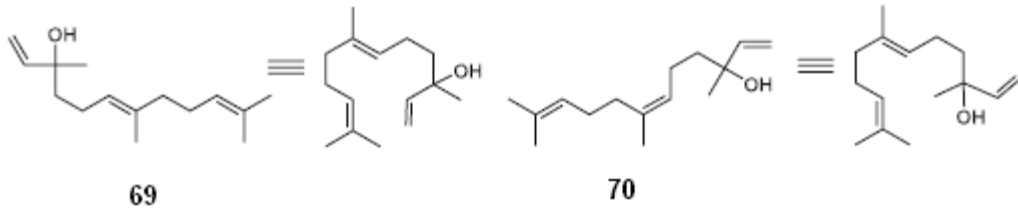
Bir başka asiklik seskiterpen olan farnesol **68**, gül, akasya ve siklamen gibi çiçek yağlarında yaygın olarak bulunur. Nerolidol **69**, farnesol ile izomerdir ve neroli yağı ve diğer birçok yağlarda bulunur. Doğada sıklıkla *E* izomeri, *Z* izomerinden **70** daha fazla bulunur (Şekil 2.16).



Şekil 2.14 Asiklik seskiterpen tipleri



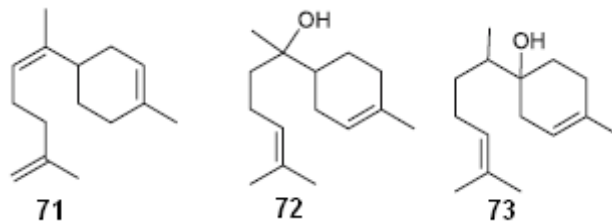
Şekil 2.15 Asiklik oksijenli seskiterpen tipleri



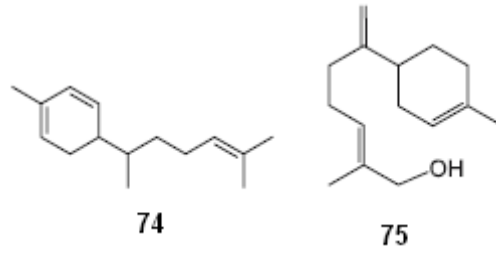
Şekil 2.16 Hidroksil grubu içeren bazı asiklik seskiterpen tipleri

2.2.2.2.(2). Monosiklik Seskiterpenler

Bisabolen tipi seskiterpenler, örneğin *a*-bisabolen **71** doğada geniş olarak yayılmıştır. Bu seskiterpen bileşiği, bergamot, mür ve çeşitli uçucu yağların bileşenidir. Bunun oksijenli türevleri, papatyada bolca bulunan *a*-bisabolol **72** ve *b*-bisabolol **73**'dur (Şekil 2.17).



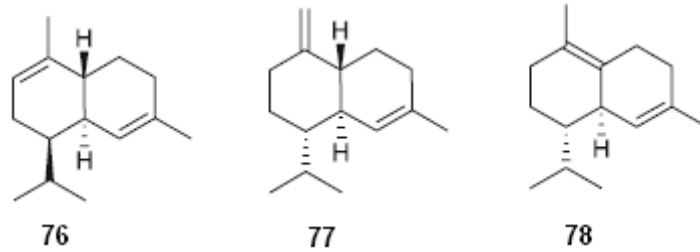
Şekil 2.17 Monosiklik seskiterpen tipleri



Şekil 2.18 Monosiklik seskiterpen tipleri

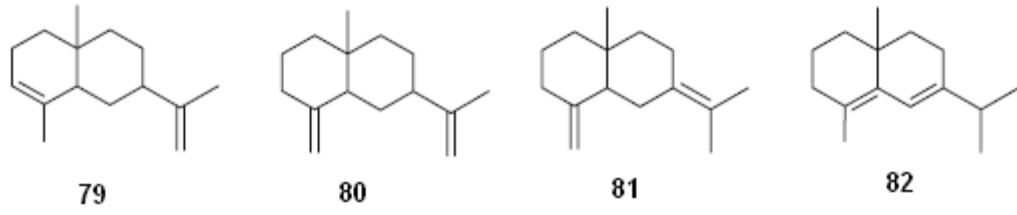
2.2.2.2.(3). Bisiklik Seskiterpenler

Kadinen, hint biberi tohumu yağı gibi uçucu yağların pek çok çeşitlerinde bulunan, birçok izomerik bileşiğin adıdır. Aslında, ardıçtan türetilir. Temel iskeleti kadalın (4-izopropil-1,6-dimetildekahidronaftalin) molekülünden oluşur. Önemli sterokimyasal izomerler *a*-kadinen **76**, *g*-kadinen **77** ve *d*-kadinen **78**'dir. Bu grup naftalin tipli seskiterpenler olarak da bilinir.

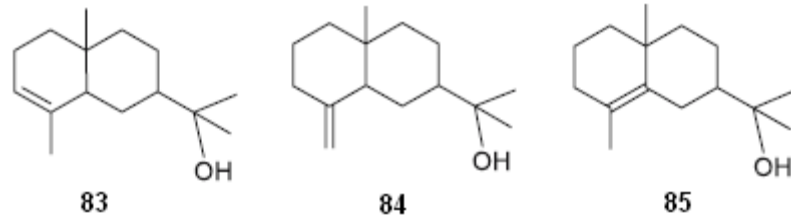


Şekil 2.19. Bisiklik seskiterpen tipleri

Bir diğer grup bisiklik seskiterpen bileşikleri *a*-selinen **79**, *b*-selinen **80**, *g*-selinen **81**, ve *d*-selinen **82**. Kereviz yağı ve diğer birçok yağda bulunurlar. *a*-eudesmol **83**, *b*-eudesmol **84** ve *g*-eudesmol **85** selinenlerin oksijenlenmiş formlarıdır ve birçok yağda bulunan tersiyer alkollerdir.



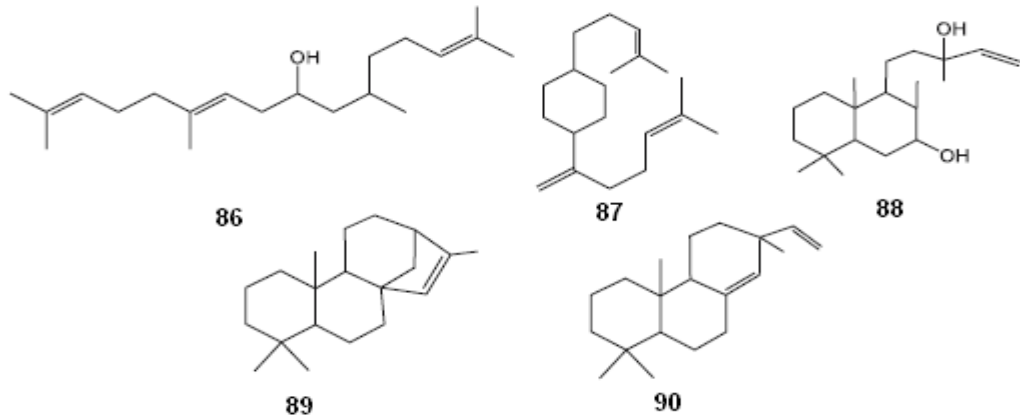
Şekil 2.20 Bisiklik seskiterpenlerden selinenin izomerleri



Şekil 2.21 Selinenin oksijenli türevleri

2.2.2.3. Diterpenler

Dört isopren biriminin baş-kuyruk şeklinde yeniden düzenlenmesi diterpen ($C_{20}H_{32}$) formasyonu ile sonuçlanır (Şekil 2.22). Diterpenler genel olarak reçinelerde (örneğin pimerik asit ve abietik asit) bulunur. Bazı diterpenler örneğin fitol gibi uçucu yağlarında bileşenleridir. Seskiterpenler gibi, diterpenler de monoterpenlerden daha ağırdırlar, böylece buhar fazına geçmeleri için daha fazla enerji gerekir. Bu nedenle geri kazanımları için uzun destilasyon süresi gereklidir.



Şekil 2.22 Diterpen tipleri

2.3. Tıbbi Bitkiler için Genel Ekstraksiyon Metodları

Tıbbi bitkiler için genel ekstraksiyon metodları şu şekildedir;

- Çözücü ile ıslatma (maserasyon)
- Demleme
- Parçalama
- Dekoksiyon
- Perkolasyon
- Sokslet Ekstraksiyonu
- Fermantasyon ile Sulu Alkolik Ekstraksiyon
- Ters Akım Ekstraksiyonu
- Hidrodestilasyon (Clevenger)

2.4. Tıbbi Bitkilerin Ekstraksiyonunda Uygulanan Yeni Yöntemler

2.4.1. Mikrodalga Ekstraksiyonu

Mikrodalgalar 0.3-300 GHz aralığında değişen elektromanyetik ışımalardır. Mikrodalga ışımaları polar ve polarlanabilen bileşiklerin dipolleri ile etkileşerek etki gösterirler. Bu etkileşimle polar moleküller yeniden düzenlenirler ve dolayısıyla ısınırlar. Bu ısıl etkileşim materyalin yüzeyinde gerçekleşir, materyalin tamamının ısınması ise iletkenlikle olur. Bu durum mikrodalga ısıtmasının dezavantajıdır çünkü küçük moleküllerden oluşan agregatların ısınması homojen olmaz. Doğal ürünlerin ekstraksiyonu genellikle 2.5-75 GHz'de gerçekleştirilmektedir. Mikrodalga enerjisinin etkinliği büyük oranda çözücünün içeriğine, bitki materyaline ve uygulanan mikrodalga gücüne bağlı olmaktadır (Kılıç, 2008).

Mikrodalga ekstraksiyon yöntemi son birkaç yılda artan bir şekilde kullanılmaktadır (Simoneau ve ark., 2000). Fakat mikrodalga hidrodestilasyon metodu uçucu bileşenleri kazanmak için nadiren kullanılır. Bu metotta clevenger aparatına yerleştirilen bitki materyalleri bir mikrodalga fırın içinde kısa bir zaman

periyodunda uçucu yağları almak için ısıtılır. Böylece örnek kaynama noktasına çok hızlı bir şekilde ulaşır(Koşar ve ark., 2005).

2.4.2. Ultrasonik Ekstraksiyon

Bu yöntem 20kHz-2000kHz aralığında ses dalgalarının kullanımını kapsar. Bu işlem ile hücre duvarının geçirgenliği artar ve hücre duvarında boşluklar oluşur. Rauwolfia köklerinin ekstraksiyonu gibi bazı durumlarda yararlı bir proses olmasına rağmen, geniş ölçekli uygulamalarda yüksek maliyetinden dolayı sınırlıdır. Bu yöntemin bir başka dezavantajı ise nadirde olsa 20kHz'in üzerindeki frekanslarda tıbbi bitkilerin aktif bileşenleri üzerinde, serbest radikallerin oluşumuna ve ilaç moleküllerinde istenmeyen değişikliklere neden olmasıdır (Handa ve ark., 2008).

2.4.3. Phytonics İşlem

Advanced Phytonics Limited (Manchester, UK) tarafından geliştirilmiş patentli bir yöntem olduğu için “phytonics” işlem olarak adlandırılmıştır. Bitkilerden etken bileşenlerin elde edilmesi için Hidroflorokarbon 134-a'nın çözücü olarak kullanıldığı yeni bir tekniktir. Çevre ve insan sağlığı açısından oldukça önemli avantajlara sahiptir. Bu yöntemle bitkilerden biyolojik ve farmakolojik etki gösteren bileşenleri, uçucu yağlar ve koku bileşenleri ekstrakte edilmektedir.

2.4.4. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu

20.yy'ın ikinci yarısında, doğal bileşiklerden doğal biyoaktif moleküllerin ekstraksiyonu için süperkritik akışkanlar önemli bir alternatif olmuştur. Bunda en önemli etken çalışma sıcaklığının ve işlem sürelerinin düşük, dolayısıyla ısı olarak bozulan doğal bileşenlerin zarar görmesinin engellenmiş olmasıdır. Özellikle 1980lerden itibaren yapılan yoğun araştırmalar ile günümüzde süperkritik akışkanlarla ekstraksiyona ait tüm teknik ve ekonomik sorunlar yanıtlanmıştır.

2.4.4.1. Süperkritik Akışkanlar

Süperkritik akışkan, aynı zamanda “yoğun gaz” olarak da tanımlanabilir. Sıcaklığı kritik sıcaklığın üzerinde ve basıncı da kritik basıncın üzerinde olan akışkanlardır. Bir akışkanın süperkritik akışkan olarak adlandırılması için indirgenmiş sıcaklığın T_r 1,2-1,3 arasında olması ($T_r = T/T_c$) gerekir. İndirgenmiş basınç P_r ise kullanılan sistemin teknik olarak elverdiği ölçüde olması yeterlidir ($P_r = P/P_c$).

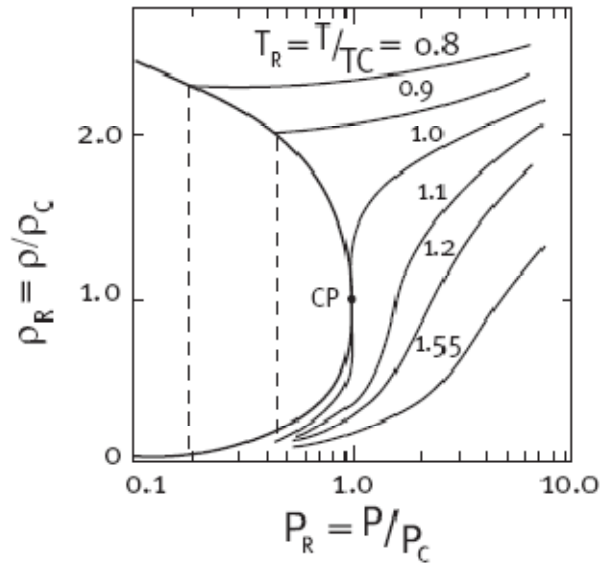
Uygun koşullar sağlandığında her hangi bir sıvı süperkritik koşullarına ulaşabilir. Ancak sadece kritik sıcaklığı oda sıcaklığının çok üzerinde olmayan sıvılar, tıbbi aromatik bitkilerin ekstraksiyonunda alternatif bir çözücü olabilirler. Karbon dioksit, düşük kritik sıcaklığı ve basıncı nedeniyle en çok uygulanan çözücü olmuştur ($T_c=31.06^\circ\text{C}$ ve $P_c=73.81\text{ bar}$), süperkritik karbondioksit aynı zamanda toksik ve alev alıcı olmayışı, ucuz ve kolay temin edilebilir olması nedeniyle de alternatif bir çözücüdür.

Süperkritik akışkanın yoğunluğu da önemli bir parametredir. Süperkritik akışkanların ekstraksiyon çözücüsü olabilmesi yoğunluğu ile doğrudan ilişkilidir. Chrastil, yoğunluk ve çözünürlük arasındaki ilişkiyi formül 1 de verildiği gibi ifade etmiştir (Chrastil, 1982).

$$s = \rho^a \exp (b/T + c) \quad (1)$$

s çözünürlük; ρ çözücünün yoğunluğu; T mutlak çalışma sıcaklığı; a , b ve c düzeltme sabitleridir.

Bir akışkan kritik şartlara yaklaştıkça yoğunluğu bir sıvının yoğunluğuna yaklaşır. Şekil 2.23 te CO_2 için yoğunluk izotermi indirgenmiş basınca karşı grafiğe geçirilmiştir. Buradan $T = 35^\circ\text{C}$ ve $P = 200\text{ bar}$ da $\rho = 866\text{ kg/m}^3$ olduğu görülebilir. Çözücü yoğunluğu başarılı bir süperkritik akışkan ekstraksiyonunda anahtar faktördür.



Şekil 2.23. CO₂ için yoğunluk/basınç diyagramı

Süperkritik akışkan ekstraksiyonu sahip olduğu avantajlar nedeniyle klasik çözücü ekstraksiyon yöntemlerinin yerini almaktadır. Süperkritik akışkan ekstraksiyonunun avantajları aşağıda özetlenmiştir (Lang ve Wai 2001).

- i. süperkritik akışkanlar, düşük viskoziteye ve yüksek difüzyon hızına sahip olmaları nedeniyle gözenekli yapıdaki katı maddelere sıvılara oranla daha hızlı yayımlanmaktadır. Yüksek yayımlılık gözenek içi kütle aktarım dirençlerini azaltmakta; ayrıca, süperkritik-CO₂'nin yüzey gerilimi çok düşük olduğundan, gözenekli katılara daha kolay girebilmektedir. Böylece artan kütle aktarım hızı işletme süresini azaltmakta ve klasik çözücü ekstraksiyon yöntemlerine oranla işlem daha kısa sürede gerçekleşmektedir.
- ii. süperkritik akışkanın dolgu kolon ekstraktöre sürekli olarak beslenmesi, ekstraksiyon işlemlerinde yürütücü kuvvetin artmasına neden olur, bu da kütle aktarım hızının artırır.
- iii. süperkritik akışkanların çözme güçleri sıcaklık ya da basınç değerlerindeki küçük değişimler ile büyük ölçüde değişmektedir. Bu özellik ürün seçiciliğini ve verimliliğini etkiler. Ayarlanabilir çözme gücü süperkritik akışkan ekstraksiyonu için önemli bir avantajdır.

- iv. süperkritik akışkanlar ile ekstraksiyon işlemi sona erdiğinde, basıncın düşürülmesi ile akışkan, çözünen maddeden kolaylıkla ayrılabilir. Bu yöntemde üründe çözücü kalıntısı kalmamakta ve yeni bir saflaştırma işlemine gereksinim duyulmamaktadır.
- v. Organik çözücü ekstraksiyonu uygulamalarına göre daha az çözücü harcanması ve özellikle süperkritik akışkanlarla gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemlerinde CO₂ kullanılması, çevreye daha duyarlı işlemler ortaya koymuştur.
- vi. Isıya duyarlı bileşiklerin ayırma ve saflaştırma süreçleri için süperkritik akışkan ekstraksiyonu en etkin yöntemdir.
- vii. süperkritik akışkan ekstraksiyonunda kullanılan akışkanlar inert çözücülerdir. Bu özellik, süperkritik koşullarda gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemlerinde herhangi bir hidroliz, oksidasyon ya da bozunma tepkimesinin oluşmasını engeller.
- viii. Doğal ürünlerden bileşimlerinde düşük miktarlarda bulunan değerli endüstriyel ürünlerin ayırma işlemlerinde süperkritik akışkan ekstraksiyonu etkin bir süreçtir.
- ix. Sistem doğrudan bir kromatografik analiz cihazına bağlanabilir ve elde edilen ekstraktın analizi çevrimiçi (on-line) olarak yapılabilir.
- x. süperkritik akışkanlarla ekstraksiyon süreçlerinde kullanılan akışkan ekstraktöre tekrar geri beslenebilir, böylece çözücü kaybı azaltıldığından ekonomik bir ayırma sürecidir.

Bunların yanı sıra süperkritik akışkanlarla ekstraksiyonun bazı dezavantajları da vardır. Mesela süperkritik akışkanlarla ayırma işlemlerinin yüksek basınçta (>80 atm) gerçekleşmesinden dolayı yüksek yatırım maliyeti ve yüksek enerji gereksinimi gibi birkaç dezavantajı vardır. Son derece önemli olduğu halde ihmal edilen diğer bir dezavantajı ise, en saf CO₂ tüplerinin içeriğinde bile var olan %1-2'lik oksijenin, antioksidantlar gibi oksijene hassas bileşikler ile tepkimeye girip az miktarda da olsa bozunmalarına neden olabilir.

Süperkritik karbondioksidin yanı sıra “sub-kritik su” da son birkaç yıl içinde çözücü olarak araştırmacılar tarafından artan bir ilgiyle kullanılmaya başlanmıştır

(Giray ve ark., 2008; Özel ve ark, 2003). Sub-kritik su ekstraksiyonu, 100-374°C aralığında ve sıvı fazın oluşmasını sağlayacak bir basınçta suyun ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanıldığı bir yöntemdir. Bu koşullardaki su; pek çok organik molekül için iyi bir çözücü özelliğine sahip olması nedeniyle, bitki ekstraksiyonu için klasik ve süperkritik CO₂ ekstraksiyonu yöntemlerine karşı alternatif bir yöntem olarak gelecek vaat etmektedir(Gracia ve Castro 2000; Kubatova ark., 2001).

2.4.4.2. Süperkritik Akışkanın Seçimi

Gıda ve ilaç endüstrisinde, değerli ve ortam koşullarına duyarlı hammaddelerin süperkritik akışkanlarla ekstraksiyon işleminde, kullanılacak akışkanın seçimi son derece önemlidir. Bu seçimde, hammaddenin akışkan içinde çözünürlüğü; akışkanın kimyasal kararlılığı; ekonomik ve kolay bulunabilen bir akışkan olması toksik, patlayıcı ve yanıcı olmaması gibi güvenlik özellikleri göz önünde tutulmalıdır. Çizelge 2.1’de biyolojik uygulamalarda en çok kullanılan çözücülerin kritik sıcaklık, basınç ve yoğunluk değerleri verilmiştir. Amonyak, n-pentan, metanol ve toluenin kritik sıcaklıklarının yüksek olması nedeniyle, sıcaklığa duyarlı olan doğal maddelerin ekstraksiyonu için uygun çözücü olmadıkları görülmektedir.

Çizelge 2.1. Süperkritik akışkanların fiziksel özellikleri (Skoog ve ark., 1998)

Çözücü	T _c (°C)	P _c (atm)	ρ (g/Cm ³)
Karbondiyoksit	31.3	72.9	0.47
Etanol	243.4	63	0.28
Su	374.4	226.8	0.33
Etan	32.4	48.3	0.20
n-Propan	96.8	42	0.22
Amonyak	132.5	112.5	0.24
n-pentan	196	33.2	0.237
Metanol	240	79.8	0.272
Toluen	319	40.6	0.292
Etilen	9	49.6	0.218

Süperkritik akışkanlarla ekstraksiyon işlemi oksijen ve ışık etkilerini ortadan kaldırdığından, atmosfer basıncında çözücülerle yapılan ekstraksiyon işlemlerine oranla daha yüksek verimler elde edilebilmektedir. Karbondioksit; kritik sıcaklığı ($T_c = 31,1\text{ }^{\circ}\text{C} = 304,3\text{ K}$) ve basıncının ($P_c = 72,8\text{ atm} = 7,4\text{ MPa}$) düşük olması, yanıcı ve toksik olmaması, diğer organik çözücülere göre çevreye zarar vermemesi özelliklerinden dolayı bu tür çalışmalarda en yaygın kullanılan çözücü olmuştur. Ayrıca karbondioksitin ekstraksiyon sonunda sistemden kolaylıkla ayrılması geride atık bırakmaması ekstraksiyon işlemi sonunda ikinci bir ayırma işlemini gerektirmemektedir (Skoog ve ark, 1998 ; Çalımlı, 2003).

Çizelge 2.2. SC-CO₂'nin çeşitli sıcaklık ve basınçtaki fiziksel özellikleri (Çalımlı, 2003)

Basınç (atm)	Sıcaklık (K)	Yoğunluk (kg.m ⁻³)	Viskozite (Kg.(m.s) ⁻¹)
241.8	313.0	879.5	8.2x10 ⁻⁵
	328.0	806.2	6.9x10 ⁻⁵
	343.0	730.0	5.7x10 ⁻⁵
173.7	313.0	814.6	7.0x10 ⁻⁵
	328.0	712.5	5.4x10 ⁻⁵
	343.0	599.1	4.1x10 ⁻⁵
106.6	313.0	676.1	4.7 x10 ⁻⁵
	328.0	379.4	2.7 x10 ⁻⁵
	343.0	283.6	2.4 x10 ⁻⁵

SC-CO₂' in en önemli dezavantajı polar bir çözücü olmayışıdır. Bu nedenle, düşük molekül ağırlıklı hidrokarbonlar ve lipofilik organik bileşikler kolaylıkla

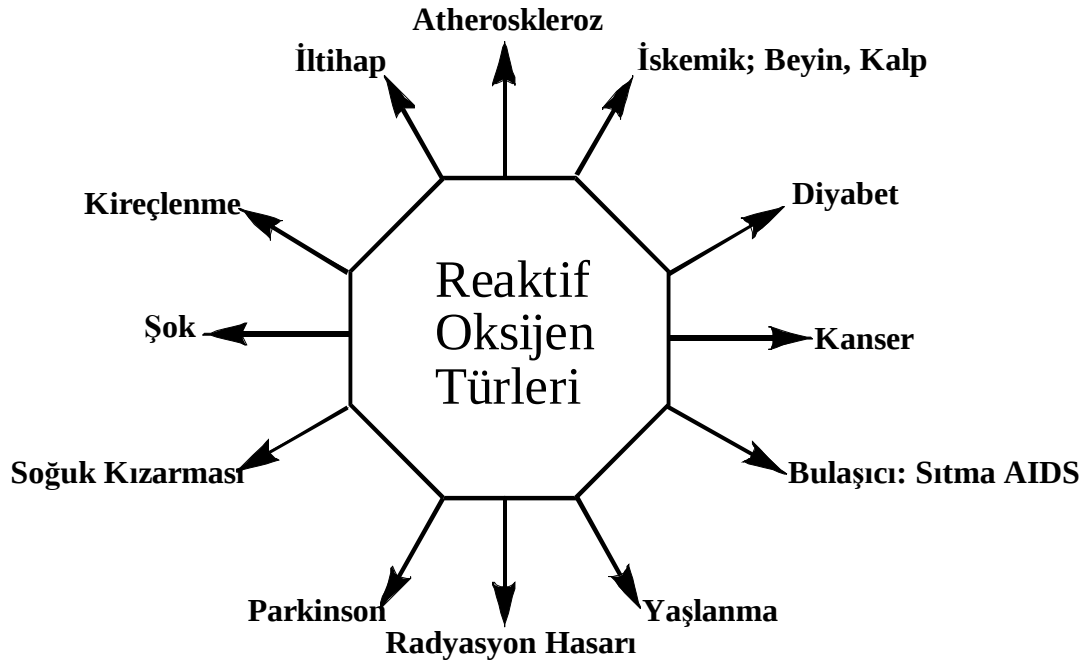
çözünebilirlerken; yüksek molekül ağırlıklı hidrokarbonlar, hidrokarbon polimerleri ve polar organik bileşikleri ekstrakte edemez (Akgerman ve Madras, 1994).

Çizelge 2.3. Doğal maddelerin SC-CO₂ 'de çözünürlükleri (Mukhopadhyay, 2000)

Çok Çözünenler	Zayıf Çözünenler	En az Çözünenler
MA< 250 olan Apolar ve zayıf polar organik maddeler (mono ve seskiterpenler; tioller, parazinler, asetik asit, benzaldehit, hekzanol, gliserol, asetatlar)	250<MA<400 olan organik maddeler (su, oleik asit, dekanol, C ₁₂ 'nin üzerindeki doymuş yağlar)	MA>400 olan organik maddeler (şeker, proteinler, tanenler, vakslar, inorganik tuzlar, klorofiller, karotenoidler, sitrikasit, malik asit, amino asitler, nitratlar, pestisitler)

2.5. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar

İnsan sağlığı açısından büyük risk oluşturan başta kanser olmak üzere kalp ve damar hastalıkları gibi pek çok hastalığın ortaya çıkma riskini azaltan veya olumlu etkiler gösteren antioksidanlar, günümüzde oldukça ilgi çeken ve üzerinde pek çok araştırmalar yapılan bir konudur (Nichenametla ve ark., 2006; Cardenas ve ark., 2006; Sroka, 2005). Vücutta çeşitli metabolik reaksiyonlar sonucu oluşan ve bir veya daha fazla eşleşmemiş elektronu olması sebebiyle oldukça reaktif olan serbest radikallerin aşırı miktarları (reaktif oksijen türleri üretiminin, tüketiminden fazla olması 'oksidatif stres' olarak adlandırılır) birçok doku, organ ve sistemlerde hasarlara neden olur. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) çeşitli doku, organlarda neden olduğu hastalıklar ve hasarlar Şekil 2.24'de görülmektedir (Aruoma, 1994; Burr, 1994; Hennig ve Toborek, 1993).



Şekil 2.24. Reaktif oksijen türlerinin çeşitli doku, organlarda neden olduğu hastalıklar ve hasarlar

ROS düzeylerini ve bunların meydana getirdiği hasarı sınırlandırmak için vücutta birçok savunma mekanizması geliştirilmiştir. Süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimlerin serbest radikallere karşı savunmada önemli rolleri vardır. C vitamini, E vitamini, selenyum, β -karoten, likopen, lutein ve diğer karotenoidler de yardımcı antioksidanlar olarak kullanılmaktadır. Bunların haricinde flavonoidler gibi ikincil bitki metabolitleri ve terpenoidler de antioksidanlar arasında sayılabilir (Surveswaran ve ark., 2007; Park ve Pezzutto, 2002). Bu da antioksidan bileşikler içeren meyve ve sebzelerin yanı sıra geleneksel olarak tıbbi amaçla kullanılan ve tıbbi bitkiler olarak bilinen bitki türlerinin insan sağlığı açısından önemini ortaya koymaktadır.

Bu bitkiler, günümüzde tıbbın tamamlayıcısı olarak ya da alternatif tıpta oldukça geniş kullanım alanı bulmaktadır. En önemli üstünlükleri, ucuz olmaları, kolaylıkla elde edilebilmeleri ve ham olarak ya da basit preparatları halinde kullanılabilmesidir. Tıbbi bitkilerin değişik kısımları (kökleri, yaprakları, dalları/gövdeleri, kabukları, çiçekleri ve meyveleri) genellikle fenolik bileşikler (flavonoidler, fenolik asitler, stilbenler, tanninler, kumarinler, lignanlar ve ligninler)

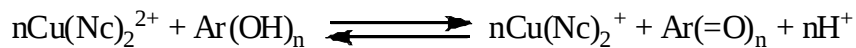
bakımından zengindir. Bunlar antioksidan aktivite de dâhil olmak üzere pek çok biyolojik etkiye sahiptir (Kähkönen ve ark., 1999) .

İnsan sağlığı açısından önemli olan bu antioksidan bileşiklerin biyolojik sıvı, gıda ve saf bileşiklerde antioksidan kapasitelerini ölçmek amacıyla birçok yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemlerden bazıları aşağıda özetlenmiştir

2.6. Toplam Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemleri

2.6.1. CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity; Cu(II) İyonu İndirgen Antioksidan Kapasitesi) Yöntemi

Apak ve arkadaşlarının(2004) geliştirdiği bu yöntemde, 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin (Neocuproin-Nc)'in Cu(II) ile oluşturduğu bakır(II)-neocuproin kompleksinin (Cu(II)-Nc), 450 nm' de maksimum absorbans veren bakır(I)-neocuproin [Cu(I)-Nc] kelatına indirgenme yeteneğinden yararlanarak antioksidan kapasitesi hesaplanmaktadır. Bu özellikten yola çıkarak geliştirilen antioksidan kapasite yöntemine 'bakır(II) iyonu indirgeme antioksidan kapasite yöntemi' denilmiştir ve kısaca CUPRAC metodu olarak adlandırılmıştır.

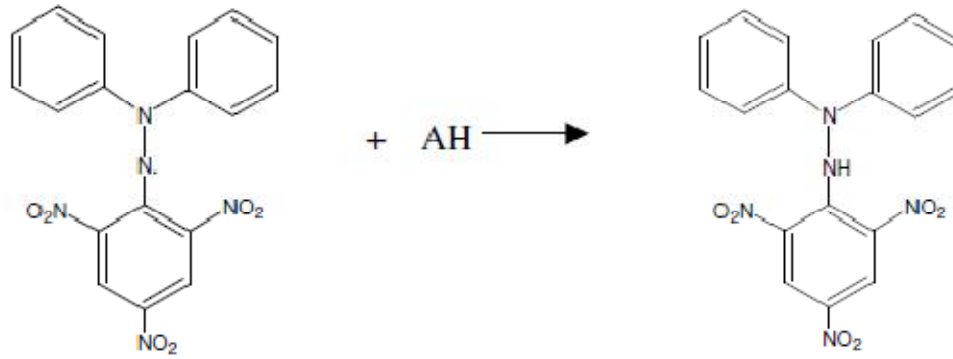


2.6.2. Folin Ciocalteu Yöntemi

Bu yöntem Singleton ve Rossi (1965) ile Singleton ve arkadaşları (1999) tarafından antioksidanların toplam fenol içeriğini ölçmek için geliştirilmiştir. Yöntemde kullanılan CuSO₄ (bakır(II) sülfat) alkali ortamda protein veya antioksidanla kompleks yapar. Folin fenol reaktifi (fosfomolibdik-fosfotungstik asit) eklendiğinde, folin reaktifi proteine bağlanır. Protein veya antioksidanla Cu(II)'nin reaksiyonundan açığa çıkan Cu(I), molibdatotungstat reaktifini heteropoli mavisine indirger ve rengi sarıdan maviye dönüşür. Reaksiyon tamamlanınca 750 nm'de örnek absorbansları ölçülür.

2.6.3. DPPH Yöntemi

Bu yöntem; antioksidanların kararlı bir organik azot radikali olan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikalini giderici etkilerini ölçmeye dayalı bir yöntemdir. Bu radikal hidrojen donörlerle etkileştiğinde hidrazine indirgenir. Kırmızı renkli DPPH radikali 515 nm’de maksimum absorpsiyon verir. DPPH çözeltisine antioksidanın ilave edilmesiyle absorbansta düşüş meydana gelir ve antioksidanların varlığıyla radikalın rengi kırmızıdan sarıya döner. Bu yöntem antioksidanların radikal giderici kabiliyetlerini değerlendiren kolay ve geçerli bir yöntem olarak bilinmektedir [Sanchez ve ark., 1998].



2.7. Dereotu Ekstraksiyonu ile İlgili Çalışmalar

Dereotu yapraklarında % 0,35, tohumlarında % 2-4 arasında farklı yapılarda uçucu yağ bulunduğu, tohum uçucu yağında % 40-60 arasında karvon ve % 40 oranında limonen, taze yaprakların uçucu yağında ise % 30-40 karvon ve % 30- 40 arasında limonen, bulunduğu belirtilmektedir (Özdemir, 2005).

Bonnländer ve ark., (2000), Dereotu bitkisinin (*Anethum graveolens*) metanol ekstraktlarını hazırlamışlar ve ekstrakta ait bileşenleri MLCCC(multilayer coil countercurrent chromatography) sıvı kromatografik yöntemi ile ayırmışlardır. Bu yöntemle 9-hidroksipiperiton, *p*-menth-2-en-1,6-diol ve 8-hidroksigeraniol’ün β-D-glukopiranositlerini içeren dokuz bileşiği saf halde elde etmişlerdir. Yapı

aydınlatması bir ve iki boyutlu NMR ile beraber ESI-MS/MS'e dayanılarak yapmışlardır.

Jirovetz ve ark., (2003), Bulgaristan' dan temin edilmiş ve uzun süre depolanmış dereotu (*Anethum graveolens* L.) tohumlarının uçucu yağlarını fizikokimyasal yöntemler, GC, GC-MS (akiral ve kiral kolonlar) ve olfaktometri ile analiz etmişler ve antimikrobiyal aktifliğini farklı mikroorganizmalar kullanılarak test etmişlerdir. Aromayı etkileyen bileşikler olarak D-karvon (%50,1) ve D-limoneni (%44,1) belirlemişlerdir. Antimikrobiyal testler uçucu *A. graveolens* yağının *Aspergillus niger* küfüne ve *Saccharomyces cerevisiae* ve *Candida albicans* mayalarına karşı yüksek aktifliğe sahip olduğunu göstermişlerdir.

Kosar ve ark. (2005), *Anethum graveolens* L.' nin (dereotu tohumu) ve *Coriandrum sativum* L.' nin (kişniş tohumu) tüm ve öğütülmüş meyvelerinin uçucu bileşenlerinin analizi için mikro dalga destekli hidrodestilasyon (MWHHD) ve hidrodestilasyon (HD) yöntemlerini uygulamışlardır. Meyveleri Clevenger aparatı takılabilmesi için modifiye edilmiş bir mikro dalga fırın kullanılarak destile etmişlerdir. Mikro dalga enerjisinin uçucu yağ verimi ve bileşimi üzerine olan etkisini klasik hidrodestilasyona karşı incelemişlerdir. Tüm örneklerin uçucu yağları GC-FID ve GC-MS ile analiz etmişlerdir. Mikrodalga enerjisi ile tüm dereotu tohumu yağında limonen (%17,7 den 4,7 ye), miristisin (%8,7 den 5,7 ye) ve dill apiol (%14,1 den 6,1 e) miktarlarının azalış gösterdiğini *cis*-isodihidrokarvon (%7,5 den 10,9 a) ve karvon (%45,7 den 69,3 e) miktarlarının ise artış gösterdiğini saptamışlardır. Malzemelerin öğütülmesinin miristisin ve dill apiol dışındaki ana ürünlerin miktarlarını artırdığını belirlemişlerdir. Öğütülmüş meyvelerin mikro dalga destekli hidrodestilasyonunda kişniş yağının linalool içeriğinde bir düşüş gözlemişlerdir (%80,0 dan 75,5 e). Mikro dalga destekli hidrodestilasyonun tetradekanoik asit ve hekzadekanoik asit gibi yağ asitlerinin miktarlarını artırdığını bildirmişlerdir (sırasıyla, %2,8 den 8,8 e ; %1,9 dan 6,0'a)

Shyu ve Ark., (2009), dereotu çiçeğinin etanolik ekstraktı ve çeşitli fraksiyonlarının antioksidan aktivitesini, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikal temizleme, eşdeğer Trolox antioksidan kapasite, indirgeme gücü, kelatlama gücü ve β -karoten ağartma metotları ile değerlendirmişlerdir. Çiçek ekstraktını, sıvı sıvı

ekstraksiyonla, n-hekzan, etil asetat ve etanol de çözünür fraksiyonlarına başarılı bir şekilde ayırmışlardır. Karşılaştırmak için dereotu yaprakları ve tohumları kullanmışlardır. Tüm metotlarda çiçek ekstraktının, yaprak ve tohum ekstraktlarından daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir. Antioksidan aktivite için bir dizi çiçek ekstraktının çeşitli fraksiyonlarını göz önüne alındığında etkinlik sırası; etil asetat fraksiyonu> etanol fraksiyonu> orijinal çiçek ekstraktı> n-hekzan fraksiyonu şeklinde değişmiştir. Flavonoid ve proantosiyanidinleri içeren çiçek ekstraktının antioksidan etkisine neden olduğunu ifade etmişlerdir.

2.8. Çörekotu Ekstraksiyonu ile İlgili Çalışmalar

Çörekotunda % 0,18-0,50 arasında farklı yapılarda uçucu yağ bulunduğu, uçucu yağında temel bileşenler olarak timokinon, timol, karvakrol ve p-simen'nin bulunduğu belirtilmektedir (Benkaci-Ali, 2006).

Ramadan ve ark., (2003), çörekotu (*Nigella sativa* L.), kişniş (*Coriandum sativa* L.) ve niger (*Guizotia abyssinica* Cass.) ham tohum yağlarını n-hekzan ile ekstrakte etmişler ve yağlar, nötral lipidler (NL), glikolipitler (GL) ve fosfolipitler (PL) olarak ayırtmıştır. Ham yağlar ve fraksiyonları radikal temizleme aktiviteleri (RSA) için kararlı galvinoksil radikale karşı elektron spin rezonans (ESR) ile ve 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikale karşı spektrofotometrik yöntemle test etmişlerdir. Kişniş tohumu yağı ve fraksiyonlarının, çörekotu ve niger tohumu yağlarına kıyasla en güçlü RSA'yı gösterdiğini belirlemişlerdir.

Benkaci-Ali ve ark., (2007), Sahra Çölünün iki ayrı noktasından-Timimoun (T) ve Adrar (A) bölgelerinde-toplanan *Nigella sativa* tohumlarının esansiyel yağlarının ekstraksiyonunu, hidrodestilasyon (HD) ve mikro dalga destilasyon yöntemi (MD) ile incelemişlerdir. Uçucu yağın bileşimi kapiler gaz kromatografisi ve gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) ile belirlemişlerdir. Hidrodestilasyon kullanıldığında p-cymene (%8,9-7,2; sırayla T ve A da), 4-terpineol (%0,6-8,9), timohidrokinon (%6,1-12,2), timokinon (%1,6-21,8), karvakrol (%12,9-12,9), karvon (%4,4-0,3) ve timol (%1,5-0,7) gibi aktif bileşenlerin

bu yağların %36 (T) ve %64 (A) ünden fazlasına karşılık geldiğini saptamışlardır. Mikrodalga destilasyonu için *p*-cymene (%28,1-32; sırayla T ve A' da), 4-terpineol (%3,4-2,0), timohidrokinon (%0,7-1,1), timokinon (10,8-24,6), karvakrol (%3,0-6,0) ve timol (0,3-0,3) sırayla T ve A'dan elde edilen yağların %46,1 ve %66,0 ını oluşturduğunu rapor etmişlerdir.

Cheikh-Rouhou ve ark., (2007), Tunus ve İran kökenli iki farklı çörekotu tohumunun fizikokimyasal özelliklerini belirlemişlerdir. Soğuk çözücü yöntemi ile tohumlardan ekstrakte edilen ham yağların fiziksel ve kimyasal analizlerini de ayrıca gerçekleştirmişlerdir. Tunus ve İran türleri için(kuru ağırlık bazında) sırayla protein %26,7 ve 22,6; yağ %28,48 ve 40,35; kül %4,86 ve 4,41; toplam karbonhidratı %40,0 ve 32,7 olarak saptanmıştır. Ana doymuş yağ asidini palmitik asit olarak (%17,2 ve 18,4) ana doymamış yağ asitlerini linoleik asit (%50,3 ve 49,2) arkasından oleik asit (%25,0 ve 23,7) olarak belirlemişlerdir. Ayrıca miristik, miristoleik, palmitoleik, margarik, margaroleik, stearik, linoleik, araşidik, eikosenoik, behenik ve lignoserik asitleri de belirlemişlerdir. Tunus ve İran tohum yağlarının fizikokimyasal özellikleri sırayla şu şekilde rapor edilmiştir: sabunlaşma numarası 211 ve 217, peroksit değeri 5,65 ve 4,35, iyot indeksi 120 ve 101 ve asitlik %22,7 ve 18,6. Çörekotu tohum yağlarının endüstri, kozmetik ve eczacılık için daha ileri potansiyel ve yeni çok-amaçlı ürün olarak değerlendirilme potansiyeline sahip olduğunu önermişlerdir.

Erkan ve ark., (2008), İki bitki ekstraktı: biberiye ekstraktı ve çörekotu uçucu yağı ile birlikte üç saf bileşiğin: karnosik asit, rosmarinik asit ve sesamolün antioksidan etkinliklerini DPPH ve ABTS radikal temizleme metodları ve ferrik tiyosiyanat testini uygulayarak incelemişlerdir. Üç test yöntemi ile de biberiye ekstraktının çörekotu uçucu yağından daha yüksek antioksidan etkinliğe sahip olduğunu belirlemişlerdir. Saf bileşiklerin antioksidan etkinlik sıralaması farklı testler için farklılıklar gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu sonucu söz konusu bileşiklerin yapısal farklılıklarına bağlamışlardır. Çörekotu uçucu yağının ve biberiye ekstraktının fenolik içeriklerini ayrıca belirlemişlerdir. Biberiye ekstraktının çörekotu uçucu yağından daha yüksek bir fenolik içeriğe sahip olduğunu bulmuşlardır.

Biberiye ekstraktının daha yüksek antioksidan etkinliğe sahip olmasını bu durumla açıklamışlardır.

Mariod ve ark., (2009), çörekotu tohumlarının ham metanol ekstraktının (CME) ve bu ekstraktın etilasetat (EAF), hekzan (HF) ve su (WF) fraksiyonlarının antioksidan etkinliklerini incelemişlerdir. Antioksidan kapasitelerini değerlendirmek için DPPH radikal temizleme etkinliği, β -karoten-linoleat ağartma(bleaching) ve mısır yağı oksidasyonu inhibisyon yöntemlerini kullanmışlardır. Toplam fenolik miktarı EAF, CME, WF ve HF içinde sırası ile 78,8, 27,8, 32,1 ve 12,1 mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g olarak bulmuşlardır. CME ve EAF en yüksek DPPH'ı sergilemiştir ve bunu WF ve HF'nin izlediğini belirtmişlerdir.

2.9. Kişniş Ekstraksiyonu ile İlgili Çalışmalar

Kişnişte % 1'e kadar uçucu yağ içeren ve uçucu yağında temel bileşen olarak % 60-70 oranında linalool'un bulunduğu belirtilmektedir (Eikani ve ark., 2007; Bhuiyan ve ark., 2009).

Cantore ve ark., (2004), *Coriandrum sativum* L. ve *Foeniculum vulgare* Miller var. *vulgare* (Miller) dan uçucu yağları ekstrakte etmiş ve sıklıkla antibakteriyel methodlarda karşılaştırma için kullanılan *Escherichia coli* ve *Bacillus magetarium* bakterilerine ve 27 fitopatojenik bakteri türüne ve kültür mantarı hastalıklarından sorumlu iki mikopatojenik bakteri türüne karşı in vitro koşullarda antibakteriyel aktifliklerini test etmişlerdir. *C. sativum* uçucu yağı önemli bir antimikrobiyal aktivite gösterirken, *F. vulgare* var. *vulgare* uçucu yağlarının daha düşük bir etki gösterdiğini belirlemişlerdir.

Msaada ve ark., (2007), Kişniş meyvesinin (*Coriandrum sativum* L.) üç olgunlaşma aşamasında hidrodestilasyon ile elde edilen uçucu yağ bileşimini GC-FID ve GC-MS ile analiz etmişlerdir ve 41 bileşiği tanımlamışlardır. Geranil asetat (%46,27), linalool (%10,96), nerol (%1,53) ve neral (%1,42) olgunlaşmanın ilk aşamasında ana bileşenler olarak bulmuşlardır. Olgunlaşmanın orta aşamada linalool (%76,33), *cis*-dihidrokarvon (%3,21) ve geranil asetat (%2,85) ana bileşenler olarak rapor etmişlerdir. Olgunlaşmanın son aşamasında (olgun meyveler) uçucu yağların

başlıca linalool (%87,54) ve *cis*-dihidrokarvondan (%2,36) oluştuğunu bildirmişlerdir. Ek olarak kişniş tohumlarının olgunlaşma süreci esnasında monoterpen alkollerin ve ketonların toplandığını gözlemişlerdir.

Eikani ve ark., (2007), Kişniş tohumundan (*Coriandrum sativum* L.) uçucu yağ ekstraksiyonu için subkritik su ekstraksiyonu (SCWE), hidrodestilasyon ve Sokslet ekstraksiyonunu karşılaştırmışlardır. Farklı sıcaklıkların (100, 125, 150 ve 175 °C), ana parçacık boyutlarının (0.25, 0.50 ve 1 mm) ve su akış hızlarının (1, 2 ve 4 ml/dk.) ekstraksiyon etkinliklerini araştırmışlardır. Bileşenlerin ayrılma ve tanımlanmaları GC-FID ve GC-MS ile gerçekleştirmişlerdir. En iyi sıcaklık, parçacık boyutu ve akış hızını 125 °C, 0.5 mm ve 2 ml/dak. olarak belirlemişlerdir. SCWE, her iki geleneksel yöntemle etkinlik ve uçucu yağ bileşimi konusunda karşılaştırılmıştır. Hidrodestilasyon ve Soxhlet ekstraksiyonun daha yüksek ekstraksiyon etkinliği gösterdiğini, ancak SCWE ile elde edilen uçucu yağın faydalı oksijenli bileşikler açısından daha yoğun olduğunu belirtmişlerdir.

Grosso ve ark., (2008), İtalyan kişniş tohumlarının uçucu yağının SCCO₂ ile süper kritik akışkan ekstraksiyonu, değişken sıcaklık koşullarının uçucu yağ verimi ve bileşimi üzerine olan etkisini değerlendirmek üzere farklı sıcaklık (40 ve 50 °C), basınç (90, 100 ve 150 bar), ana parçacık boyutu (0,4, 0,6 ve 0,8 mm) ve CO₂ akış hızı (0,79, 1,10 ve 1,56 kg/sa.) gibi farklı koşullar altında gerçekleştirmişlerdir. Ayrıca aynı parçacık boyutları ile hidrodestilasyon da gerçekleştirmişler ve karşılaştırma yöntemi olarak kullanmışlardır. En iyi süperkritik akışkan ekstraksiyon yöntemi koşulları 90 bar, 40 °C, 1,10 kg/sa. ve 0,6 mm olarak belirlemişlerdir. Her bir süperkritik akışkan örneğinin kimyasal bileşimini GC ve GC-MS ile analiz edilmiş ve bileşimleri hidrodestilasyon ile elde edilen değerlerle karşılaştırmıştır. Ana bileşenleri linalool (%65-79), γ -terpinen (%4-7), kamfor (%3), geraniol asetat (%2-4), α -pinen (%1-3), geraniol (%1-3) ve limonen (%1-2) olarak belirlenmiştir. Her bir ekstraksiyon esnasında süperkritik akışkan ekstraksiyonu örneklerini harcanan CO₂ in belirli aralıklarında toplamışlar ve her bir örnekten ana uçucu bileşenin genel uçucu bileşime katkısını değerlendirmişlerdir.

2.10. Yıllık Pelinotu Ekstraksiyonu ile İlgili Çalışmalar

Yıllık pelinotunda % 1,4-4,0 arasında farklı yapılarda uçucu yağ bulunduğu, uçucu yağında temel bileşenler olarak kamfor, artemisia keton, germakren d ve 1,8-sineol'ün bulunduğu belirtilmektedir (Mohammadreza, 2008).

Juteau ve ark., (2002), *Artemisia annua* nın uçucu kısımlarının kamfor (%44), germakren D (%16), *trans*-pinokarveol (%11), β -selinen (%9), β -karyofilen (%9) ve artemisia keton (%3) dan oluşan uçucu yağın antimikrobiyal aktifliğini incelemişlerdir. Uçucu yağın, test edilen Gram-pozitif bakteri *Enterococcus hirae* nin ve tüm test mantarının gelişimini belirgin bir şekilde engellediğini tespit etmişlerdir. Bu uçucu yağ referans bileşiği %18 lik α -tocopherole eşdeğer bir antioksidan aktifliği gösterdiğini belirlemişlerdir.

Wang ve ark., (2005), Seçilmiş iyon görüntülemeli (SIM) bir sıvı kromatografi-kütle spektrometrisi (LC-MS) yöntemini *Artemisia annua* L. içindeki artemisininin analizi ve standartlaştırılması için kullanmışlardır. Bu yöntem basit ve hassas olduğu ve antimalaryal aktifliğine sahip bir seskiterpen lakton olan artemisininin doğrudan nitel ve nicel analizi için her örnek başına sadece 11 dakikalık bir süre gerektirdiğini bildirmişlerdir. Artemisinini kesin olarak analiz etmek üzere m/z 265,3 te $[M-18+H]^+$ iyon pikinin bolluğunu kayıt etmek için m/z 250 ve 270 tarama aralığında SIM kullanmışlardır.

Tzenkova ve ark., (2010), Bulgaristan'da yabani olarak yetişen *Artemisia annua*'nın uçucu yağı hidrodestilasyon ile elde etmişler ve GC/MS ile analiz etmişlerdir. Ana bileşenleri *a*-karyofillene (%24,73), *a*-kuveben (%13,53), *a*-kopaen (%7,42), *a*-selinene (%8,21), *artemisia keton* (%8,45) ve *kamfor* (%3,61) olarak belirlemişlerdir. Uçucu yağ bileşenlerinin diğer coğrafi bölgelerde yetişenlerden farklı olduğunu gözlemişlerdir.

2.11. Taşnanesi Ekstraksiyonu ile İlgili Çalışmalar

Taşnanesinde kurutulmuş yapraklarda % 3 oranında farklı yapılarda uçucu yağ bulunduğu, uçucu yağında bulunan temel bileşenler % 60 pulegon ve % 20 menton olduğu belirtilmektedir (Baytop, 1999).

Dudai ve ark., (2001), İsrail ve Doğu Akdeniz' e özgü (endemik) bodur ve hep yeşil bir çalı olan *Micromeria fruticosa* (L.)'nın genç üst yapraklarından uçucu yağlarını ekstrakte etmişler ve uçucu yağın ana bileşeninin %70'e varan oranlarda (+)pulegone olduğunu belirlemişlerdir. Olgunlaşma döneminde bu bileşenin oranının düzenli bir şekilde düştüğü ve bu düşüş hızının yaşlı yapraklarda daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Buna karşın izomentol seviyesinin genç yapraklarda % 0, yaşlı yapraklarda ise % 60 tan fazla olacak şekilde artış gösterdiğini belirlemişlerdir. Ayrıca daha yaşlı yapraklarda Neoizo-izopulegol, izopulegol, neoizomentol ve pulegol seviyelerinde artış olduğunu ancak limonen, izopulegon, piperitenon oksit, germakren D ve bisiklogermakren seviyelerinde ise önemli düşüşler olduğunu belirlemişlerdir. Yapılan çalışmada *M. fruticosanın* kimyasal bileşiminde yaprak olgunlaşmasından dolayı güçlü dönemsel değişikliklerin gözlemlendiğini bildirmişlerdir.

Güllüce ve ark. (2004), *Micromeria fruticosa* ssp *serpyllifolia* uçucu yağının bileşimi ile birlikte uçucu yağın ve metanol ekstraktının in-vitro antimikrobiyal ve antioksidan etkinliklerini çalışmışlardır. Metanolik ekstraktının herhangi bir etkinlik göstermediğini ancak uçucu yağın on dört bakteri, üç mantar ve bir mayaya karşı 31,25 den 125 µl ml⁻¹ aralığında değişen en düşük inhibitör derişimde etkinlik sergilediğini rapor etmişlerdir. Antioksidan etkinliğini serbest radikal DPPH ın temizlenmesi ve linoleik asidin yükseltgenmesinin engellenmesi olmak üzere iki yöntemle ölçmüşlerdir. Uçucu yağın sadece yüksek derişimlerde etkinlik gösterdiği ancak metanol ekstraktının her iki yöntemde önemli antioksidan etkinlik sergilediğini bildirmişlerdir Hidrodestilasyon ile elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşimini GC/MS ile analiz etmişler ve yirmi dokuz bileşeni tanımlamışlardır. Bunların en büyük miktartlı olanlarının piperitenon (% 50,61) ve pulegone (%29,19) olduğunu belirlemişlerdir.

2.12. Süper Kritik/ Sub Kritik Akışkanlarla Diğer Bitkilerin Ekstraksiyonu ile İlgili Çalışmalar

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

Kubátová ve ark., (2001), Kava kökünden (*Piper methysticum*) laktonları subkritik su, su ile sokslet ekstraksiyonu, suda kaynatma ve ultrasonik banyoda aseton ile ekstraksiyon yöntemlerini kullanarak ekstrakte etmişlerdir ve yöntemleri kıyaslamışlardır. Öğütülmüş kava için (250-500 µm) 175 °C de 20 dak. subkritik su ekstraksiyonunun yeterli olduğunu tam ekstraksiyon için 100 °C de 2 sa. subkritik su ekstraksiyonu yapılması gerektiğini bildirmişlerdir. Öğütülmemiş (parçalanmış) kavanın tam ekstraksiyonu için ekstraksiyon süresinin 175 °C de 40 dak. ya çıkartmışlardır. Suyun atmosferik basınçta kullanıldığı 2 sa. kaynatma ve 6 sa. sokslet aparatı ile ekstraksiyonu, subkritik su ekstraksiyonundan elde edilenden %40-60 daha düşük verim ile sonuçlandığını bildirmişlerdir. Öğütülmemiş kava ile 40 dak. subkritik su ekstraksiyonu, 18 sa. aseton, metilen klorür veya metanol ile sonikleme ile neredeyse aynı geri kazanımlar ile sonuçlandığını belirlemişlerdir.

Özel ve ark., (2003), *Thymbra spicata* L. yapraklarından uçucu yağlar subkritik su kullanılarak ekstrakte etmişlerdir. Farklı sıcaklıkların (100, 125, 150 ve 175 °C), basınçların (20, 60 ve 90 bar) ve akış hızlarının (1, 2 ve 3 mL/dak.) ekstraksiyon verimliliği üzerine etkinliklerini incelemişlerdir. *Thymbra spicata* nın uçucu bileşenleri sulu fazdan C18 katı faz ekstraksiyonu ile ekstrakte etmişlerdir. Bileşenlerin tanımlanması iki boyutlu gaz kromatografisi (TOF-MS) kullanılarak gerçekleştirmişlerdir. Uçucu yağ verimleri 100, 125, 150 ve 175 °C sıcaklıkları için sırasıyla % 2,5, 2,7, 3,7 ve 3,5 olarak bulmuşlardır. *Thymbra spicata* dan uçucu

yağların subkritik su ile ekstraksiyonu en yüksek ekstraksiyon etkinliğini 150 °C de, 2 mL/dak. akış hızında ve 60 barda 30 dakikalık ekstraksiyonda gösterdiğini bildirmişlerdir. *Thymbra spicata* yapraklarının tam bir ekstraksiyonu için en düşük sürenin 150 °C de ve 2 mL/dak. akış hızında 20 dakika olduğunu belirlemişlerdir.

Ghorab ve ark., (2004), Mercanköşk bitkisinin (*Majorana hortensis* Moench) yapraklarının hidrodestilasyon (HD) ve süperkritik akışkan ekstraksiyonu (SFE) ile elde edilen uçucu ekstraktlarının bileşimleri gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS) ile analiz ederek, 26 bileşeni tanımlamışlardır. Her iki ekstrakttaki - sırasıyla HD ve SFE - ana bileşenler terpinen-4-ol (% 20,39 ve % 10,96), γ -terpinen (% 14,13 ve % 8,14), *trans*-sabinen hidrat (% 5,25 ve % 20,54), linalool (% 3,72 ve % 4,06), *trans*-sabinene hidrat asetat (% 0 ve % 13,01), tujanol (% 4,00 ve % 4,12), terpinolen (% 4,57 ve % 3,70) ve timol (% 0,33 ve % 1,18) olarak belirlemişlerdir. Toplam monoterpen hidrokarbonları HD yağında (% 42,57) SFE yağındakinden (% 22,80) daha fazla olarak bulmuşlardır. Bununla birlikte SFE ekstraktının yağa güzel bir aroma veren hafif oksijenlenmiş bileşik yoğunluğunda daha yüksek bir değere sahip olduğunu belirlemişlerdir. Her iki ekstraktında linoleik asidin peroksit oluşumunu etkin olarak engellediğini bildirmişlerdir. SFE ekstraktının antioksidan özelliğinin bütillenmiş hidroksianisol (BHA) ve HD ekstraktından belirgin derecede daha fazla olduğunu belirlemişlerdir. Daha yüksek derişimlerde her iki ekstraktın da BHA ya kıyasla daha yüksek antioksidan aktifliği gösterdiğini bildirmişlerdir. Çalışılan doğal ekstraktların aktifliklerini arttırmak ve yapay antioksidanların uygulamalarını azaltmak üzere her iki ekstrakta da BHA ekleyerek birbirine bağlı (synergistic) etkisini incelemişler ve her iki ekstraktın karışımı ve BHA'nın, bunların tek başlarına sahip oldukları aktifliklerine kıyasla antioksidant kapasitelerinde ek bir etki (artış) ile sonuçlandığını bildirmişlerdir.

Proestos ve ark. (2005), Fenolik bileşenlerin potansiyel kaynağı olarak Yunanistan kökenli aromatik bitki ekstraktlarını incelemişlerdir. Metanol ekstraktlarında mevcut fenolik antioksidanların miktarı ve tanımlanması için UV detektörlü RP-HPLC kullanmışlardır. Miktarı en fazla bulunan fenolik asitlerin ferulik asit (1,1-280 mg/100 g kuru örnek) ve kafeik asit(1,2-60 mg/100 g kuru

örnek) olduğunu; (+)-kateşin ve kuersetinin ise en fazla bulunan flavonoidler olduğunu saptamışlardır. Apigenin ve luteolin'i sırasıyla *Menta pulegium* ve *Thymus vulgaris* ekstraktlarında yüksek miktarda belirlemişlerdir. Antioksidan kapasiteyi, kuru öğütülmüş bitkilerde ve onların metanol ekstraktlarında, substrat olarak ayçiçeği yağı kullanarak Rancimat testi ile belirlemişlerdir. Hem toz halindeki bitkinin, hem de metanol ekstraktının antioksidan kapasite gösterdiğini ifade etmişlerdir. Ekstraktlardaki toplam fenol içeriği, spektrofotometrik olarak Folin-Ciocalteu yöntemine göre belirlemişler ve sonuçların 1-21 mg gallik asit/100 g kuru örnek aralığında değiştiğini tespit etmişlerdir. Ekstraktların antimikrobiyal aktivitesinin de seçilen mikroorganizmalara karşı çalışıldığını rapor etmişlerdir.

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

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

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

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan Bitkiler ve Kimyasallar

Bitkiler: Denemelerde kullanılan *Anethum graveolens* L. (dereotu), *Nigella sativa* L. (çörekotu), *Coriandrium sativum* L. (kişniş), ve *Artemisia annua* L. (yıllık pelin otu) bitkileri Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri araştırma alanında yetiştirilmiştir. *Micromeria fruticosa* L.(taşnanesi) bitkisi ise yöremiz Kadirli bölgesinin yaylalarından temin edilmiş olup, tanımlanması Ç.Ü. Fen-Edb-Fak. Biyoloji Bölümü Öğretim Üyelerinden Doç. Dr. Necattin Türkmen tarafından yapılmıştır. Bu bitkilerden yıllık pelinotu ve taşnanesinde bitkinin toprak üstü kısımları, diğer bitkilerin ise tohumları kullanılmıştır.

Kimyasallar: Hekzan, etanol, metanol, diklorometan, C18 kartuş, DPPH, neokuprin, ter-butil metileter, aseton, CO₂(s)(Linde %99,9999), sodyum hidroksit, BF₃-metanol(%10-15 w/v), sodyum klorür, sodyum sülfat, Bakır(II)klorür, Amonyum asetat, Folin-Ciocalteu reaktifi, troloks, gallik asit

3.1.2. Kullanılan Cihaz, Araç ve Gereçler

Perkin Elmer Lambda25 UV Spektrofotometre: Çeşitli yöntemlerle elde edilen bitki ekstraktlarının antioksidan aktivitelerinin tayininde kullanılmıştır.

Thermo-Finnigan Trace GC-MS: Tüm bitki ekstraktlarının kimyasal kompozisyonun tanımlanmasında kullanılmıştır.

Jouan MR 23i Ultra Santrifüj: USE ve GSK yöntemleri ile elde edilen ekstraktların süspansiyon veya emülsiyon oluşturan kısımlardan tam olarak ayırmak için kullanılmıştır.

Lab-Line Ultrasonik Banyo: Ürettiği ses dalgalarından yararlanarak çözücülerin gazının giderilmesinde ve ultrasonik banyo ekstraksiyonun gerçekleştirilmesinde kullanılmıştır.

3.2. Metod

3.2.1. skCO₂E Yöntemiyle Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması

Ekstraksiyonlar Kimya Bölümü Organik Kimya Araştırma Laboratuarında oluşturulan sistemin kullanılmasıyla gerçekleştirilmiştir (şekil 3.1.). Çalışmada kullanılan parametreler izelge 3.1. de verilmiştir. Ekstraksiyon hücre si 2.0 g örnekle doldurulduktan sonra fırın içine yerleştirilmiştir. Bir ISCO pompası yardımıyla istenilen basınçta süper kritik CO₂ hücre ye gönderilmiştir. 20 dk süreyle statik ekstraksiyonun ardından 30 dk dinamik ekstraksiyonla örnekler 2ml/dak akış hızında içinde diklorometan bulunan bir tüpte toplanmıştır.

3.2.2. sbkH₂OE Yöntemiyle Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması

Ekstraksiyon hücre si 2.0g örnekle doldurulduktan sonra fırın içine yerleştirilmiştir. Bir HPLC pompası yardımıyla istenilen basınçta gazı giderilmiş deiyonize su, 2 ml/dk akış hızında hücre ye gönderilmiştir. 30 dk süreyle statik ekstraksiyon ve ardından 20 dk dinamik ekstraksiyonla örnek toplanmıştır. Uçucu yağlar bir kez 5 ml diklorometan ile sıvı-sıvı ekstraksiyon yapılarak alınmıştır. Çalışma koşulları izelge 3.1.’de verilmiştir.

3.2.3. sbkEtOHE Yöntemiyle Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması

Ekstraksiyon hücre si 2.0g örnekle doldurulduktan sonra fırın içine yerleştirilmiştir. Çizelge 3.1.’de verilen çalışma koşullarında, bir HPLC pompası yardımıyla, istenilen basınçta gazı giderilmiş etanol 2 ml/dk akış hızında hücre ye gönderilmiştir. 30 dk süreyle statik ekstraksiyon ve ardından 20 dk dinamik ekstraksiyonla örnek toplanmıştır. Uçucu yağlar bir kez 5 ml diklorometan ile bir sıvı-sıvı ekstraksiyon yapılarak alınmıştır.



Şekil 3.1. sub ve süperkritik akışkan ekstraksiyon sistemi (a: ISCO pompa; b: HPLC pompası; c: Fırın; d: Ekstraksiyon hücresi)

3.2.4. Su Buharı Destilasyonu ile Bitki Ekstraksiyonu(SBD)

Her bitkiye ait örnekler bitkinin kullanıldığı kısmına göre 50g kurutulmuş örnek Neo-clevenger aparatında su buharı destilasyon yöntemi ile 3 saat süreyle ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon sonunda sulu fazdan uçucu yağların kuru olarak alınması katı faz ekstraksiyon sistemiyle yapılmıştır.

3.2.5. Ultrasonik Banyoda Organik Çözücülerle Bitki Ekstraksiyonu(USE)

2 g bitki örneği 30 mL ter-butil metil eter ile oda sıcaklığında ultrasonik banyoda 2 saat süreyle ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon sonunda ekstrakt ve artık 10000 rpm de 30dk santrifüj edildikten sonra ekstrakt süzülerek alınmıştır.

3.2.6. Organik Çözücülerle Geri Soğutucu Altında Kaynatma ile Bitki Ekstraksiyonu(GSK)

2 g bitki örneği 30 ml(1:1 v/v) diklorometan:aseton çözücü karışımı ile karışımın kaynama sıcaklığında 3 saat süreyle geri soğutucu altında kaynatılarak

ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon sonunda ekstrakt ve artık 10000 rpm de 30dk santrifüj edildikten sonra ekstrakt süzülerek alınmıştır.

3.3.1. Metilleme İşlemi

Elde edilen ekstraktlarda mevcut sabit yağ içeriğine metilleme işlemi için, Irmak ve ark. (2006) tarafından önerilen yöntem kullanılmıştır. Elde edilen ekstrakta 100µL 1N NaOH(metil alkolde çözülmüş)’den eklendikten sonra, 1ml BF₃-metanol(%10-15’ik çözelti) eklendi ve 30 dakika oda sıcaklığında beklendi. Metillenen çözeltiye 3 ml doymuş NaCl ve 2 ml hekzan eklenerek iyice çalkalandı. Hekzan fazı Na₂SO₄’te kurutularak ayrıldı. Ayrılan faz viyale alınarak GC-MS’te analizi gerçekleştirildi.

3.3.2. Katı Faz Ekstraksiyonu(KFE)

Katı faz ekstraksiyonu (KFE) teknikleri sulu örneklerdeki organik analitleri tayin etmek için kullanılan birçok geleneksel sıvı-sıvı ekstraksiyonunun yerine geliştirilmiş bir yöntemdir. SBD ile ekstraksiyon sonunda sulu fazdan uçucu yağların kuru olarak alınması katı faz ekstraksiyon sistemiyle yapılmıştır.



Şekil 3.2. Katı Faz Ekstraksiyon Düzenneği

Bu çalışmada C18 kartuş kullanılmıştır. Kolon yıkama ve şartlama işleminde metanol-su (1:1) karışımı kullanılmıştır. Örnek toplama işleminde çözücü olarak hekzan kullanılmıştır (Beney ve ark., 1996).

3.3.3. Kromatografik Ayırma ve Tanımlama

Tüm deneylerden elde edilen ekstraktların GC-MS analizleri Thermo-Finnigan Trace marka kütle spektrometresinde elektron impakt (70 eV) ile yapılmıştır. Kromatografik ayırma TR-MS-5 (60m x 0,25 mm x 0,25 µm, %5 fenil polisiloksan) kolonda gerçekleştirilmiştir. Sıcaklık programı 50 °C de 1 dakika bekletilir, 3 °C/dk ısıtma hızıyla 160 °C ye çıkarılır, burada 3 dakika bekletildikten sonra 5 °C/dk ısıtma hızıyla 250 °C ye çıkarılır ve burada 10 dakika bekletilir. Enjeksiyon sıcaklığı 240 °C ve split10 modunda çalışılmıştır. Her bir bileşen, kütle spektrumlarının Wiley07 ve NIST(2005) kütüphanesinden yararlanılarak karşılaştırma ve C₉-C₂₀ n-alkanlar kullanılarak Kovat İndislerin de hesaplanmasıyla tanımlanmıştır.

3.3.4. Kovat İndislerinin Hesaplanması

İsotermal olmayan Kovats İndisi (sıcaklık programı için Van den Dool ve Kratz'ın eşitliği kullanılarak) (<http://webbook.nist.gov/chemistry/gc-ri/>) hesaplanmıştır.

$$I_x = 100n + 100(t_x - t_n) / (t_{n+1} - t_n)$$

3.4.1. DPPH Yöntemi

Miliauskas ve ark.(2004) tarafından bildirilen DPPH metodunda laboratuvarımızda çok az değişiklik yapılarak kullanılmıştır. Değişik konsantrasyonlarda (2,5mg ekstrakt/ml metil alkol; 1:5; 1:10 oranında seyreltilmiş) 100 mikrolitre ekstrakta, 3,9 ml metanolde çözülmüş 0,06mM DPPH çözeltisi eklendi. Örnekler çalkalandıktan sonra oda koşullarında karanlıkta 20 dakika bekletildi ve 517 nm'de absorbans ölçlmştir. % DPPH radikal temizleme aktivitesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(\text{Kontrol Absorbans} - \text{Örnek Absorbans}) / \text{Kontrol Absorbans}] \times 100$$

%50 radikal temizleme aktivitesine karşılık gelen derişim (%50 inhibisyon) I_{50} olarak ifade edilmiştir.

3.4.2. CUPRAC(Cupric Reducing Antioxidant Capacity; Cu(II) iyonu İndirgen Antioksidan Kapasitesi) Yöntemi ile Toplam Antioksidan Aktivite Ölçülmesi

Çözeltilerin Hazırlanması: 10^{-2} M Bakır(II)klorür çözeltisi, 0.4262g $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 250ml suda çözülerek hazırlanmıştır. pH 7.0 Amonyum asetat tampon çözeltisi, 19,27g NH_4Ac 250ml suda çözülerek hazırlanmıştır. 7.5×10^{-3} M Neokuprin çözeltisi, 0.039g Neokuprin 25 ml %96'lık etil alkolde çözülerek hazırlanmıştır.

CUPRAC Yöntemi: Test tüpüne Bakır(II) Klorür zeltisi, Neokuprin zeltisi ve NH₄AC tampon çözeltisinden 1'er ml eklendi. Antioksidan rnek çözeltisinden(2,5mg/ml) (veya standart çözeltiden) 0.1ml eklendikten sonra 1ml H₂O eklenerek toplam hacim 4,1 ml'ye tamamlandı. 1 saat sonra 450 nm de köre karşı absorbans ölçümleri kaydedilmiştir. Standart(troloks) kalibrasyon eğrisi konsantrasyona karşı absorbans olarak çizilmiştir ve sonuçlar eşdeğer troloks olarak ifade edilmiştir (Apak ve ark., 2004).

3.4.3. Folin Cicalteu Yöntemi ile Toplam Fenol İçerik Tayini(FOLIN)

1ml 1:10 seyreltilmiş Folin-Ciocalteu reaktifi üzerine 100 mikrolitre (2,5mg/ml) ekstrakt eklendi. 4 dakika sonra 800 mikrolitre sodyum karbonat çözeltisi(75g/L) eklendi. 2 saat oda koşullarında bekletildikten sonra 765 nm de absorbansları llmştir. Standart kalibrasyon eğrisi gallik asit(0-500mg/L) kullanılarak çizilmiştir. Sonuçlar eşdeğer gallik asit olarak ifade edilmiştir(Wong ve ark., 2006).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada tıbbi aromatik bitkiler olan dereotu (*Anethum graveolens* L.), çörekotu (*Nigella sativa* L.), kişniş (*Coriandrium sativum* L.), yıllık pelinotu (*Artemisia annua* L.) ve taşnanesi (*Micromeria fruticosa* L.)'nin kimyasal kompozisyonları ve antioksidan aktiviteleri üzerine ekstraksiyon metodlarının etkisi incelenmiştir.

Uygulanan ekstraksiyon metodları, sub-kritik su ekstraksiyonu (sbkH₂O), sub-kritik etil alkol ekstraksiyonu (sbkEtOHE), süper kritik karbondioksit ekstraksiyonu (skCO₂E) su buharı destilasyonu (SBD), geri soğutucu altında çözücü ile kaynatma (GSK), ve ultrasonik banyoda ekstraksiyondur (USE). Kullanılan antioksidan aktivite belirleme de ise, serbest radikal temizleme yöntemi (DPPH), toplam antioksidan aktivite (CUPRAC) ve toplam fenolik madde içeriği (FOLIN) yöntemleri kullanılmıştır.

4.1. Bitkilerin Ekstraksiyon Verimleri ve Kimyasal Kompozisyonları

Sub ve süperkritik akışkan ekstraksiyonunda kullanılan koşullar, temel bileşenlerin yüksek göreceli bolluğuna göre belirlenmiş olup, Çizelge 4.1'de özetlenmiştir. SBD ve sbkH₂O yöntemleri ile hazırlanan uçucu yağlar ile GSK, USE, skCO₂E ve sbkEtOHE yöntemleri ile hazırlanan ekstraktların ekstraksiyon verimleri Çizelge 4.2. de verilmiştir. Yukarıda anılan yöntemlerle elde edilen ekstraktların organik bileşenleri Çizelge 4.3-7. de verilmiştir. Çizelgelerde de göreceli miktarı %0,1 den az olan bileşenlere yer verilmemiştir. Ekstraktlara ait GC-MS kromatogramları ise Şekil 4.1-5.'de verilmiştir.

Ekstraksiyon metoduna göre ekstraksiyon verimleri değerlendirildiğinde; sbkH₂O ve GSK yöntemiyle hazırlanan ekstraktların yüksek ekstrakt verimine sahip olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.2.).

Çizelge 4.1. sub ve süperkritik akışkanlarla ekstraksiyon için çalışma koşulları

Çözücü/Bitki	T (°C)	P(atm)	Akış Hızı (ml/dak)	Zaman(dak)
skCO ₂	40	300	2	20 (statik), 30 (dinamik)
H ₂ O/Dereotu	100	60	2	30(statik), 20 (dinamik)
H ₂ O/Çörekotu	125	80	2	30(statik), 20 (dinamik)
H ₂ O/Kişniş	125	60	2	30(statik), 20 (dinamik)
H ₂ O/Yıllık Pelinotu	125	80	2	30(statik), 20 (dinamik)
H ₂ O/Taşnanesi	100	60	2	30(statik), 20 (dinamik)
EtOH/ Dereotu	125	80	2	30(statik), 20 (dinamik)
EtOH/Çörekotu	150	80	2	30(statik), 20 (dinamik)
EtOH/Kişniş	100	80	2	30(statik), 20 (dinamik)
EtOH/Yıllık Pelinotu	125	60	2	30(statik), 20 (dinamik)
EtOH/Taşnanesi	125	80	2	30(statik), 20 (dinamik)

Ekstraksiyon verimleri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

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

Çizelge 4.2. Ekstraksiyon metoduna göre hazırlanan ekstraktların ekstraksiyon verimleri

	Dereotu	Çörekotu	Kişniş	Yıllık Pelinotu	Taşnanesi
Yöntem	% Verim(w/w)				
sbkH ₂ OE	1,5	3,2	1,0	1,2	0,9
skCO ₂ E	2,2	5,1	1,3	6,5	3,3
sbkEtOHE	5,3	7,7	3,8	18,1	29,8
SBD	1,8	0,5	0,5	2,5	2,2
GSK	5,0	9,6	3,6	7,1	23,5
USE	1,3	5,7	2,3	6,9	3,9

4.1.1 Dereotu ile Yapılan Ekstraksiyonlar

Dereotundan farklı ekstraksiyon metodları kullanılarak elde edilen ekstraktlarda uçucu yağın kimyasal kompozisyonu Çizelge 4.3.'de verilmiştir.

Çizelge 4.3. incelendiğinde limonen, karvon, apiol ve *trans*-dihidrokarvon bileşiklerinin tüm ekstraksiyon yöntemler ile en fazla ekstrakte edilen bileşenler olduğu görülecektir. Bununla beraber her bir yöntemle elde edilen organik bileşenlerin kompozisyonlarının kullanılan ekstraksiyon yöntemine göre farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir.

sbkH₂OE ile ekstraksiyon sırasında en etkin çalışma koşullarının 100 °C sıcaklık, 60 atm basınç ve dakikada 2 mL akış hızı olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1.). Bu koşullarda elde edilen uçucu yağın verimi %1,5 w/w dir (Çizelge 4.2.). Çizelge 4.3. den de görüleceği gibi GC-MS kromatogramında 77 sinyal tespit edilmiştir. Oksijenli monosiklik monoterpen olan **karvon** bu yöntemle hazırlanan ekstraktta en fazla bulunan bileşen olarak tespit edilmiştir (%94,3). Fenil propanoid sınıfında olan **apiol** ve oksijenli monosiklik monoterpen olan **dihidrokarvon** ise sırasıyla %2,1 ve %1,2 olarak belirlenmiştir. Buna göre sbkH₂OE yöntemiyle hazırlanan uçucu yağın %96,3'ünü oksijenli monoterpen bileşikleri, %2,1'ini ise apiol'un oluşturduğu belirlenmiştir.

Dereotunun skCO₂ ile ekstraksiyonunda en uygun çalışma koşullarının 40°C sıcaklık ve 300 atm basınç olduğu belirlenmiştir. Bu koşullarda elde edilen ekstraktının verimi % 2,2 w/w dir ve GC-MS analizinde ise 180 sinyal tespit edilmiştir (sırasıyla, Çizelge 4.2. ve 4.3). skCO₂E ile hazırlanan uçucu yağda temel bileşenler sırasıyla **apiol** (%37,2), **karvon** (%34,7) ve monosiklik monoterpen olan **limonen** (%16,0)'dir. Bu üç temel bileşen dışında dihidrokarvon (%4,2) en fazla bulunan bileşen olarak saptanmıştır. skCO₂ yöntemiyle hazırlanan uçucu yağın %39,7'sini oksijenli monoterpen bileşikleri, %37,2'ünü apiol ve %17,5' ini de monoterpen bileşiklerinin oluşturduğu belirlenmiştir.

Dereotunun sbkEtOHE ile elde edilen ekstraktının verimi %5,3 w/w dir ve bu verim 125°C sıcaklık ve 80 atm basınç uygulandığında gözlenmiştir. GC-MS analiz sonuçlarına göre 22 sinyal tespit edilmiştir. **Limonen** (%49,2) ve **karvon**

(%45,3) sbkEtOHE ile hazırlanan uçucu yağda belirlenen temel bileşenlerdir. Bunların dışında dihidrokarvon (%1,6) göreceli olarak fazla bulunan bileşen olarak saptanmıştır. sbkEtOHE yöntemiyle hazırlanan uçucu yağın %49,2' ini monoterpen bileşikleri ve % 47,0'sini de oksijenli monoterpen bileşiklerinin oluşturduğu belirlenmiştir.

SBD ile dereotundan elde edilen uçucu yağın verimi %1,8 w/w'dir ve GC-MS kromatogramında 29 sinyal tespit edilmiştir (Çizelge 4.2. ve 4.3). SBD ile hazırlanan uçucu yağda temel bileşenler sırasıyla **karvon** (%46,6), **limonen** (%24,9) ve **apiol** (%24,9) (1-alil-2,5-dimetoksi-3,4-metilendioksibenzen)'dur. Bu üç temel bileşen dışında dihidrokarvon %1,7 miktarı ile dikkat çekmektedir. Literatürde yer alan bir çalışmada da dereotunun hidrodestilasyon ile ekstraksiyonu ile karvon(%73,6) en fazla bulunan bileşen olarak belirlenirken limonenin de (%14,7) ikinci en fazla bulunan bileşen olduğu görülmüştür (Yili ve ark. 2009). Bir başka çalışmada ise öğütülmüş ve öğütülmemiş dereotunun hidrodestilasyon ve mikrodalga destekli hidrodestilasyonu ile ekstraksiyonunu çalışmışlardır. Her iki yöntemde de en fazla ekstrakte edilen bileşenin karvon olduğu belirtilmiştir(Koşar ve ark, 2005). Literatürde yer alan bir diğer çalışmada ise uzun süre soğukta bekletilen dereotunun hidrodestilasyon ile ekstraksiyonu ile %50,1 karvon, %44,1 limonen %1,9 dihidrokarvon ekstrakte edilmiştir(Jirovetz ve ark, 2003).

SBD yöntemiyle hazırlanan uçucu yağın %48,4'sini oksijenli monoterpen bileşikleri, %25,9'ni monoterpen bileşikleri ve %24,9'sini bir fenoliketer olan apiol'un(1-alil-2,5-dimetoksi-3,4-metilendioksibenzen) oluşturduğu belirlenmiştir.

GSK ile dereotundan elde edilen ekstraktın verimi % 5,0 w/w ve GC-MS kromatogramında ise 23 sinyal belirlenmiştir. GSK ile elde edilen ekstraktta temel bileşenler sırasıyla **limonen** (%37,6), **karvon** (%33,8) ve **apiol** (%21,5) olarak bulunmuştur. Bu iki temel bileşen dışında dihidrokarvon (%2,5) göreceli bolluğu yüksek olarak saptanmıştır. GSK yöntemiyle hazırlanan uçucu yağın %40,0'ı monoterpen bileşikleri, %36,4'ü oksijenli monoterpen bileşikleri ve %21,5'i ise apiol'den oluşmaktadır.

Dereotundan USE ile elde edilen ekstraktının verimi %1,3 w/w ve GC-MS analizinde ise 17 sinyal tespit edilmiştir. USE ile hazırlanan ekstraktın temel

bileşenleri sırasıyla **limonen** (%38,7), **karvon** (%34,8) ve **apiol** (%17,8)dür. Bu üç temel bileşen dışında dihidrokarvon (%1,9) göreceli bolluğu yüksek bileşen olarak saptanmıştır. USE yöntemiyle hazırlanan uçucu yağın %40,2 sini monoterpen bileşikleri, %36,7 sini oksijenli monoterpen bileşikleri ve %17,9'unu ise apiol oluşturmaktadır.

sbkH₂OE, sbkEtOHE ve skCO₂E ile elde edilen bileşenlerin oksijenli monoterpenlerce zengin olduğu bunun yanı sıra SBD, USE ve GSK ile daha çok monoterpenlerin ekstrakte edildiği gözlenmiştir.

Çizelge 4.3. *Anethum graveolens* L(Dereotu)’nun ekstraksiyon metoduna göre kimyasal kompozisyonu

KI	Bileşen	sbkH ₂ O/E	skCO ₂ E	sbkEtO/E	SBD	GSK	USE
982	α-pinen	---	---	---	0,1	0,1	0,3
989	Belirlenemedi	---	---	---	---	0,6	--
996	Belirlenemedi	---	---	---	---	0,1	---
1023	β-mirsen	---	0,1	---	---	0,1	0,1
1029	Belirlenemedi	---	---	---	---	0,2	---
1035	Belirlenemedi	---	---	---	---	0,2	---
1042	α-fellandren	---	0,5	---	0,5	0,7	0,5
1057	o-simen	---	0,7	---	0,3	0,5	0,5
1060	Limonen	---	16,0	49,2	24,9	37,6	38,7
1062	β-fellandren	---	---	---	0,2	---	---
1063	Sabinen	---	0,2	---	---	---	---
1159	cis-limonen oksit	---	0,1	---	---	0,1	---
1216	Belirlenemedi	---	---	---	---	0,4	---
1225	β-fençil alkol	0,1	---	---	---	---	---
1230	3-nonin	---	---	---	0,2	0,1	---
1231	cis-dihidrokarvon	0,4	0,2	---	---	---	---
1240	trans-dihidrokarvon	1,2	4,2	1,6	1,7	2,5	1,9
1251	dihidrokarveol	---	0,1	---	---	---	---
1267	isodihidrokarveol	0,1	---	---	---	---	---
1288	karvon	94,3	34,7	45,3	46,6	33,8	34,8
1381	limonen diol	0,1	---	---	---	---	---
1557	Miristsin	---	0,4	---	0,1	0,1	---
1577	apiol	2,1	37,2	---	24,9	21,5	17,9
1661	Belirlenemedi Geranil	0,1	---	---	---	---	---
1707	isovalerate	---	0,1	---	---	---	--
1764	Belirlenemedi	---	---	---	---	0,2	---
1822	Belirlenemedi	---	---	---	---	0,2	---
1848	graveolen	0,1	0,4	---	---	0,1	---
1860	2,6,10-trimetiltetradekan	---	0,1	---	--	---	---
1899	Heptakosan	---	1,2	---	---	---	0,3
	Geri kazanılan miktar	98,5	96,2	96,1	99,5	99,1	95,0

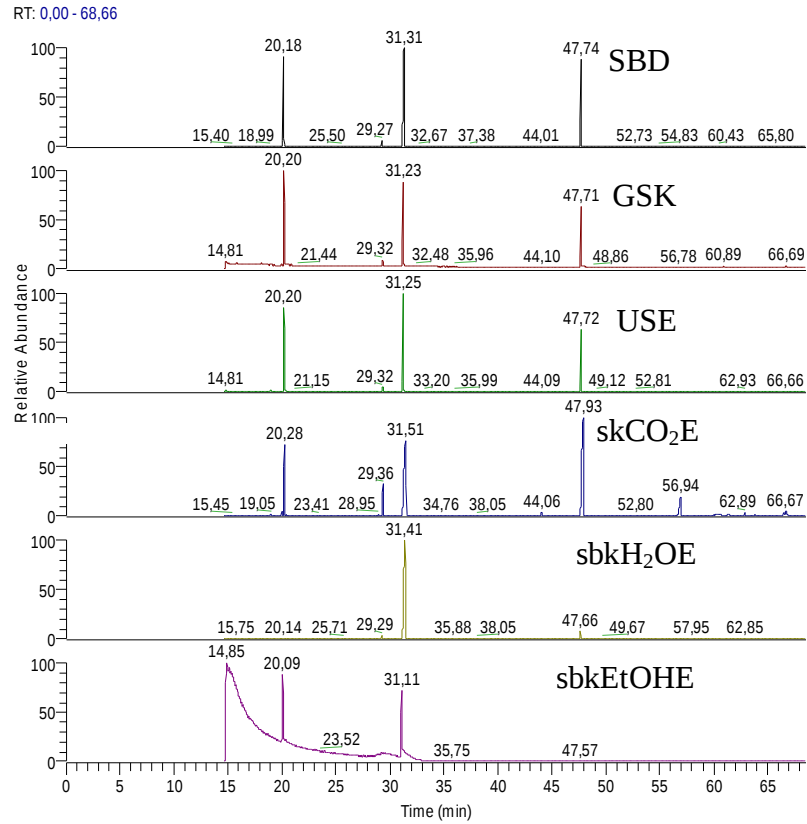
Çizelge 4.3.'den de görüldüğü gibi dereotundan elde edilen ekstraktlarda belirlenen bileşenlerin göreceli dağılımı seçilen ekstraksiyon metoduna göre farklılık göstermektedir.

Genel olarak limonen, karvon apiol ve *trans*-dihidrokarvon tüm yöntemlerle hazırlanan ekstraktlarda belirlenmiştir. Ancak, limonen, göreceli olarak en fazla %49,2 ile sbkEtOHE yöntemiyle elde edilirken, karvon göreceli olarak en fazla (%94,3) sbkH₂OE yöntemi, apiol ise en fazla (%37,2) skCO₂E yöntemiyle hazırlanan ekstraktta belirlenmiştir.

Uçucu yağın güzel kokusuna katkısı açısından oksijenli bileşenler, monoterpen hidrokarbonlardan daha değerlidir (Lucchesi ve ark., 2004). Bu nedenle uçucu yağda bulunan oksijenli maddeler, hidrokarbonlara göre ekonomik olarak daha önemlidir (Smith, 2002). Buna göre, sbkH₂OE yönteminin, dereotu tohumlarından uçucu yağ ekstraksiyonu işleminde, uçucu yağ kalitesi açısından çok daha iyi olduğunu söylemek mümkündür. Benzer sonuçlar mercanköşk, rezene ve kekik ile (Jimenez-Carmona ve ark., 1999; Özel ve ark., 2003) yapılan çalışmalarda da belirtilmiştir. Ayrıca bu sonuçlar laboratuvarımızda *Lavandula stoechas* bitkisi ile yapılan çalışma sonuçları ile de uyumludur (Giray ve ark., 2008).

sbkH₂OE yöntemi ile elde edilen ekstraktın uçucu yağ kalitesinin diğer yöntemlerle elde edilen yağlardan daha iyi olması, ekstraksiyonun hızlı bir şekilde tamamlanması, göreceli olarak düşük sıcaklıklarda çalışarak, sıcaklıkla bozulan bileşenlerin kaybının önlenmesi, göreceli olarak düşük maliyetli olması, basit olması ve çevresel açıdan elverişli olması gibi özellikleri ile diğer yöntemlere güçlü alternatif bir yöntem olmaktadır (Özel ve ark., 2003; Giray ve ark., 2008).

Bununla beraber bileşen konsantrasyonları ekstraksiyon metoduna göre değişiklik göstermesi nedeniyle; ekstraktın kullanım amacına uygun (gıda, kozmetik, ilaç...) bir ekstraksiyon metodunun seçilebilmesi mümkündür.



Şekil 4.1. Dereotunun SBD, GSK, USE, skCO₂E, sbkH₂OE ve sbkEtOHE yöntemleriyle, elde edilen uçucu yağların kromatogramları.

4.1.2. Çörekotu ile Yapılan Ekstraksiyonlar

Çörekotundan farklı ekstraksiyon metodları kullanılarak elde edilen ekstraktlarda uçucu yağın kimyasal kompozisyonu Çizelge 4.4.'de verilmiştir.

GSK, USE, skCO₂E, ve sbkEtOHE teknikleri ile elde edilen çörekotu ekstraktlarının verimi sırasıyla %9,6, %5,7, %5,1, ve %7,7 w/w'dir. SBD ile elde edilen uçucu yağın verimi ise %0,5 olarak bulunurken, sbkH₂OE ile elde edilen uçucu yağların verimi %3,2 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2.). GC-MS kromatogramlarında SBD ve sbkH₂OE ile hazırlanan uçucu yağlarda sırasıyla 145 ve 120 sinyal belirlenirken, GSK, USE, skCO₂E ve sbkEtOHE ekstraktlarında sırasıyla, 103, 152, 107, 53 sinyal tespit edilmiştir (Çizelge 4.4.).

sbkH₂OE ile ekstraksiyon sırasında en etkin çalışma koşullarının 125 °C sıcaklık, 60 atm basınç ve dakikada 2ml akış hızı olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1.). Aromatik monoterpeneoid sınıfında olan **1,4-dimetoksi-2,3-dimetilbenzen**

(%37,6), keton sınıfında monosiklik monoterpen olan **timokinon** (%23,2), oksijenli monosiklik monoterpen olan **karvon** (%8,5), bisiklik monoterpen olan **α -thujen** (%4,9), monosiklik monoterpen olan **limonen** (%4,2) ve aromatik monosiklik monoterpen olan **simol** (%2,1), sbkH₂O ile hazırlanan uçucu yağda saptanan temel bileşenlerdir. sbkH₂O yöntemiyle hazırlanan uçucu yağın % 37,6'sını 1,4-dimetoksi-2,3-dimetilbenzen bileşiği, %23,2'sini timokinon oluştururken, %13,8'ini monoterpen bileşikleri ve %10,8'ini de oksijenli monoterpen bileşiklerinin oluşturduğu belirlenmiştir.

Çörekotunun skCO₂E ile ekstraksiyonunda en uygun çalışma koşullarının 40°C sıcaklık ve 300 atm basınç olduğu belirlenmiştir. Diğer yöntemlerden farklı olarak skCO₂E ile hazırlanan ekstraktın büyük çoğunluğu sabit yağdan oluşmaktadır. Sabit yağın içeriği metilleme işleminden sonra belirlenmiştir (Irmak ve ark., 2006). skCO₂E ile hazırlanan ekstraktın sabit yağ bileşenleri sırasıyla **linoleik asit** (%44,1), **elaidik asit** (%20,3), **palmitik asit** (%11,3), ve uçucu yağ bileşenleri sırasıyla **timokinon** (%6,8), **simol** (%3,7)'dur. skCO₂E yöntemiyle hazırlanan ekstraktın %78,8'ini yağ asitleri, %6,8'ini timokinon, %4,5'ini de monoterpen bileşikleri oluşturmuştur.

sbkEtOHE ile çörekotunun ekstraksiyonu sırasında en etkin çalışma koşullarının 150 °C sıcaklık, 80 atm basınç ve dakikada 2ml akış hızı olduğu belirlenmiştir. sbkEtOHE ile elde edilen ekstraktın büyük çoğunluğunu uçucu yağlar oluşturmaktadır. sbkEtOHE yöntemiyle yağ asitleri direk etillenerek elde edilmiştir.. Ayrıca etilleme veya metilleme işlemi yapılmamıştır. Etilleme reaksiyonu ekstraksiyon işlemi esnasında gerçekleşmiştir. sbkEtOHE ile hazırlanan ekstraktta temel bileşenler sırasıyla **simol** (%20,1), **1,4-dimetoksi-2,3-dimetilbenzen** (%16,5), bisiklik monoterpen olan **α -thujen** (%11,1), **timokinon** (%10,1), **linoleik asit** (%8,6), **oleik asit** (%4,3), mono siklik monoterpen olan **p-menth-6-en-2-il-metileter** (%3,4), bisiklik seskiterpen olan **ledol** (%3,4), bisiklik monoterpen olan **5-karanol** (%3,2), bisiklik seskiterpen olan **junipen** (%2,6), bisiklik monoterpen olan **α -pinen** (%2,6), bisiklik monoterpen olan **β -pinen** (%2,3), aromatik monoterpen olan **karvakrol** (%2,2), **palmitik asit** (%2,1)'dir. sbkEtOHE yöntemiyle hazırlanan uçucu yağın %39,9'unu monoterpen bileşikleri, %16,5'ini 1,4-dimetoksi-2,3-dimetilbenzen

bileşiği, %15,4'ünü yağ asitleri %10,1'unu timokinon, %5,8'ini oksijenli monoterpen bileşikleri, %3,4'sini oksijenli seskiterpenleri ve %2,6'sını da seskiterpenlerin, oluşturduğu belirlenmiştir.

SBD ile hazırlanan uçucu yağın GC-MS analiz sonucuna göre temel bileşenler sırasıyla **simol** (%39,4), **β -pinen** (%17,8), **α -thujen** (%13,3), **5-karanol** (%10,5), **junipen** (%7,1), **α -pinen** (%4,5), **karvakrol** (%4,3) ve **dl-limonen** (2,1)'dir. SBD yöntemiyle hazırlanan uçucu yağın %68,7'sini monoterpen bileşikleri, %18,6'sını oksijenli monoterpen bileşikleri ve %7,1'ini de seskiterpenlerin oluşturduğu belirlenmiştir.

GSK ile çörekotundan elde edilen ekstraktın GC-MS analizine göre temel bileşenler sırasıyla **timokinon** (%33,7), **simol** (%18,6), **α -thujen** (%8,4), **ledol** (%4,7), **p-menth-6-en-2-il-metileter** (%4,4), **junipen** (%3,3), **karvakrol** (%3,0) ve **β -pinen** (%2,2) olarak bulunmuştur. Ekstraktın %38,3'ünü monoterpen bileşikleri, %33,7'sini bir benzokinon olan timokinon oluştururken %9,5'ini oksijenli monoterpen bileşikleri, %4,7'sini oksijenli seskiterpen bileşikleri ve %4,5'ini de seskiterpenlerin oluşturduğu belirlenmiştir.

USE ile çörekotundan hazırlanan ekstraktın GC-MS analizine göre temel bileşenler sırasıyla **timokinon**(%32,5), **simol**(%18,3), **α -thujen**(%9,1), **ledol**(%7,7), **p-menth-6-en-2-il-metileter**(%3,4), **α -pinen**(%2,6), **β -pinen**(%2,65), ve **junipen**(%2,6)' dir. USE yöntemiyle hazırlanan uçucu yağın % 36,6'sını monoterpen bileşikleri, %32,5'ini timokinon oluştururken, %7,7'sini oksijenli seskiterpen bileşikleri, %6,1'ini oksijenli monoterpen bileşikleri ve %2,6'sını da seskiterpenlerinin oluşturduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.4. *Nigella sativa* L(çörekotu)'nun ekstraksiyon metoduna göre kimyasal kompozisyonu

KI	Bileşen	Göreceli Dağılım(%)					
		sbkH ₂ O/E	skCO ₂ E	sbkEtO/E	SBD	GSK	USE
934	α-Thujen	4,9	---	11,1	13,3	8,4	9,1
942	α-pinen	---	---	2,6	4,5	1,9	2,6
947	3-etil-1-okten	1,6	---	---	---	---	---
973	sabinen	---	---	1,0	2,1	1,1	1,3
980	β-pinen	---	---	2,3	4,9	2,2	2,7
1017	α-terpinen	---	0,3	0,4	1,0	---	---
1030	simol	2,1	3,7	20,1	39,4	18,6	18,3
1034	dl limonen	4,2	---	1,3	2,1	1,6	1,7
1073	γ-terpinen	---	0,5	0,6	0,8	0,5	0,4
1117	L-β-pinen	0,6	---	0,6	0,7	0,9	0,6
1142	p-menth-6en-2-il-metileter	---	---	---	---	4,4	3,4
1143	5-karanol	---	---	3,2	10,5	---	---
1181	kamfor	0,4	---	---	---	---	---
1189	trans-2-karen-4-ol	---	---	---	0,3	0,4	---
1211	4-terpineol	1,4	---	0,5	3,0	0,6	0,4
1218	4-hidroksi-4-metil-2-pentanon	---	---	---	---	0,5	---
1230	α-siklositral	---	---	0,6	1,0	1,0	0,7
1240	cis-dihidrokarvon	0,6	---	---	---	---	---
1284	karvon	8,5	---	---	0,6	---	0,5
1290	timokinon	23,2	6,8	10,1	0,5	33,7	32,5
1318	piretron	---	---	---	---	0,4	---
1333	karvakrol	1,2	0,9	2,2	4,3	3,0	1,8
1384	α-Longipinen	---	---	0,6	0,8	1,2	0,7
1411	dodekan	0,9	---	---	---	---	---
1439	5-isopropil-3-metoksi-2-metilbenzo-1,4-kinon	---	1,7	---	---	---	---
1442	junipen	---	1,0	2,6	7,1	3,3	2,6
1593	1,4-dimetoksi-2,3-dimetilbenzen	37,6	---	16,5	---	2,0	1,1
1616	dillapiol	1,5	---	---	---	---	---
1632	apiol	3,0	---	---	---	---	---
1682	τ-gurjnenepoksit	---	---	---	---	---	0,5
1737	nonadecane	0,6	---	---	---	---	---
1760	cis-7-tetradeken-1-ol	---	---	---	---	0,6	1,0
1764	(2Z)-3,7,11-trimetil-2,10dodekadien-1-ol	---	---	---	---	---	0,4
1766	Tetradakil-2-metilpropanoat	---	---	---	---	---	0,4
1768	palmitik asit etil esteri	---	---	2,1	---	---	---
1777	palmitik asit metil esteri	---	11,3	---	---	---	---
1802	Ledol	---	---	3,4	0,4	4,7	7,7
1815	α-levantenolide	---	---	0,5	---	2,8	1,4
1817	korakseniolid-B	---	---	---	---	1,6	4,8
1818	linoleik asit etil esteri	---	---	8,6	---	---	---

Çizelge 4.4.'ün devamı

		sbkH ₂ O	skCO ₂ E	sbkEtOHE	SBD	GSK	USE
1819	oleik asit etil esteri	---	---	4,3	---	---	---
1826	etil stearat	---	---	0,4	---	---	---
1853	nerolidil asetat	---	---	---	---	---	0,4
1865	linoleik asit metil esteri	---	44,1	---	---	---	---
1867	elaidik asit metil esteri	---	20,3	---	---	---	---
1878	stearik asit metil esteri	---	1,8	---	---	---	---
1966	araşidik asit metil esteri	---	1,4	---	---	---	---
	TOPLAM GERİ KAZANIM	92,3	93,8	95,6	97,3	95,4	97,0

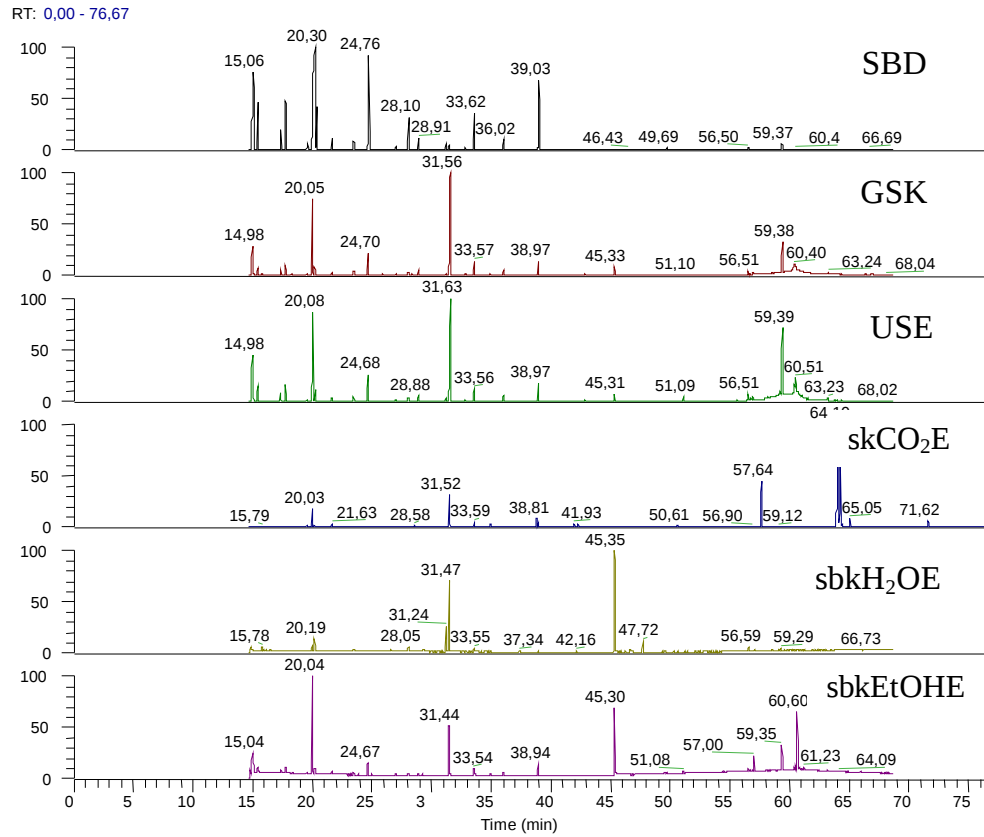
Çörekotundan elde edilen ekstraktlardaki bileşenlerden bir bisiklik monoterpen olan α -thujen göreceli olarak en fazla %13,3 ile SBD ekstraksiyonunda gözlenirken en düşük göreceli miktarı % 0,1 değerinin altında, skCO₂E yönteminde gözlenmiştir. Simol ise göreceli olarak en fazla (%39,4) SBD ekstraksiyonunda gözlenirken, en düşük göreceli miktar %2,1 ile sbkH₂O yönteminde gözlenmiştir. Timokinon bileşeni için en yüksek göreceli miktar %33,7 ile GSK ekstraksiyonunda gözlenirken, en düşük göreceli miktar %0,47 ile SBD ekstraksiyonunda gözlenmiştir.

Sabit yağ içeriği incelendiğinde, yağ asitleri için en yüksek göreceli miktar %78,8 ile skCO₂E yöntemi ile gözlenirken, SBD, GSK, USE ve sbkH₂O yöntemleri ile elde edilen ekstraktlarda yağ asitleri saptanmamıştır. sbkEtOHE ile hazırlanan ekstraktta ise yağ asitleri için göreceli miktar %15,4 oranında saptanmıştır. skCO₂E yöntemi ile elde edilen sabit yağ metilleme işleminden sonra analiz edilirken, sbkEtOHE yönteminde ise mevcut sabit yağ ekstraksiyon işlemi esnasında etillendiği için olduğu gibi analiz edilmiştir.

Sonuç olarak bileşenler ve konsantrasyonlarındaki farklılık ekstraksiyon metoduna göre değişiklik göstermektedir. Bu farklılıktan yararlanarak ekstraktın kullanım amacına göre ekstraksiyon metodu seçilebilir.

Konsantrasyon ve bileşen(yağ asitleri gibi) farklılıklarından yararlanarak, ekstraktın kullanım amacına göre ekstraksiyon yöntemi seçilebilir. Ekonomik olarak önemli olan oksijenli bileşenler sub-kritik su ekstraksiyonu ile elde edilirken, süper kritik akışkan ekstraksiyonu ile yağ asitleri daha fazla elde edilmiştir. Sub- ve süperkritik akışkanlarla yapılan ekstraksiyonlar, geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine göre daha kısa sürede (50 dakikada) tamamlanmıştır.

Literatürde yer alan bir çalışmada çörekotunun(*N. Sativa*) sokslet aparatı kullanarak hekzan ile ekstraksiyonu sonucunda yağ asidi içeriğini incelemişlerdir. Ekstraksiyon sonucunda, temel bileşenleri linoleik asit (%50,3), oleik asit (%25,0), palmitik asit (17,2) ve stearik asit (%2,8) olarak elde etmişlerdir (Cheikh-Rouhou ve ark., 2007). Bir diğer çalışmada ise iki farklı bölgeden [sahra çölünde Timimoun (T) ve Adrar(A)] topladıkları çörekotunun hidrodestilasyon ve mikrodalga destilasyon ekstraksiyonu sonucunda uçucu yağ bileşenlerini belirlemişlerdir. Hidrodestilasyon ekstraksiyonu sonucunda temel bileşenler T ve A bölgeleri için *p*-simen (%8,90 ve %7,20), 4-terpineol (%0,60-%8,90), timohidrokinon (%6,10-%12,20), timokinon (%1,60-%21,80), karvakrol (%12,90-%12,90), karvon (%4,40-%0,30) ve timol (%1,50-%0,70)'dür. Mikrodalga destilasyonu ekstraksiyonu için temel bileşenler T ve A bölgeleri için *p*-simen (%28,10 ve %32,00), 4-terpineol (%3,40-%2,00), timohidrokinon (%0,70-%1,10), timokinon (%10,80-%24,60), karvakrol (%3.0-%6.0) ve timol (%0.3-0.3)'dür (Benkaci-Ali ve ark., 2007). Benkaci-Ali ve ark.'larının farklı kökenli çörekotundan elde ettiği sonuçlar bizim sonuçlarla benzerlik göstermemektedir.



Şekil 4.2. Çörekotunun SBD, GSK, USE, skCO₂E, sbkH₂OE ve sbkEtOHE yöntemleriyle, elde edilen uçucu yağların kromatogramları.

4.1.3. Kışniş ile Yapılan Ekstraksiyonlar

Kışnişden GSK, USE, skCO₂E, ve sbkEtOHE yöntemleri ile elde edilen ekstraktlar ve SBD ve sbkH₂OE ile hazırlanan uçucu yağın GC-MS analiz sonuçları Çizelge 4.5.'de ve GC-MS kromatogramları ise Şekil 4.3. de verilmiştir.

sbkH₂OE ile en etkin ekstraksiyon koşullarının 125 °C sıcaklık, 60 atm basınç ve dakikada 2 ml akış hızı olduğu belirlenmiştir(Çizelge 4.1.). Bu koşullarda elde edilen uçucu yağın verimi %1,0 w/w'dir(Çizelge 4.2.). Çizelge 4.5'den de görüleceği gibi GC-MS kromatogramında 89 sinyal tespit edilmiştir. sbkH₂OE ile hazırlanan uçucu yağda bir asiklik monoterpen olan **linalool** (%88,6) en yüksek göreceli bolluğa sahiptir. Bunu takiben bisiklik monoterpen olan **alcanfor** (%1,3), oksijenli monosiklik monoterpen olan **pulegon** (%1,1), aromatik monosiklik monoterpen olan **simol** (%1,8), ve asiklik monoterpen olan **nerol** (%1,0)'dur.

sbkH₂OE yöntemiyle hazırlanan uçucu yağın %1,1'ünü monoterpen bileşikleri, %94,9'sını oksijenli monoterpen bileşiklerinin oluşturduğu belirlenmiştir.

Kişnişin skCO₂E ile ekstraksiyonunda en uygun çalışma koşullarının 40 °C sıcaklık 300 atm basınç olduğu belirlenmiştir. Bu koşullarda elde edilen ekstraktın verimi % 1,3 w/w'dir ve GC-MS kromatogramında 107 sinyal tespit edilmiştir(Çizelge 4.2 ve 4.5.). skCO₂E ile hazırlanan uçucu yağda temel bileşenler sırasıyla **linalool** (%79,9), monosiklik monoterpen olan **γ-terpinen** (%3,4), asiklik monoterpen asetatı olan **nerolasetat** (%3,1), **simol** (%1,8), ve **nerol** (%1,0)'dur. skCO₂E yöntemiyle hazırlanan uçucu yağın %7,4'ünü monoterpen bileşikleri, %3,1'ini aldehit bileşikleri ve %86,4'ünü oksijenli monoterpen bileşiklerinin oluşturduğu belirlenmiştir.

sbkEtOHE ile kişnişden elde edilen ekstraktın verimi %3,8 w/w'dir ve GC-MS kromatogramında 35 sinyal tespit edilmiştir (Çizelge 4.2 ve 4.5.). Bu verim 100 °C sıcaklık 80 atm basınç uygulandığında gözlenmiştir. sbkEtOHE ile elde edilen ekstraktın büyük çoğunluğunu uçucu yağlar oluşturmaktadır. Ayrıca, sbkEtOHE yöntemi sırasında yağ asitlerinin ekstrakte olduğu ve ekstraksiyon koşullarında etillenerek yağasiti esterlerinin olduğu gözlenmiştir. sbkEtOHE ile hazırlanan ekstraktta temel bileşenler sırasıyla **linalool** (%60,1), **pulegon** (%1,2), **palmitik asit** (%1,3) **linoleik asit** (%7,6) ve **oleik asit** (%23,0)'dur. sbkEtOHE yöntemiyle hazırlanan uçucu yağın %62,8'ini oksijenli monoterpen bileşikleri, %31,8'ini ise yağ asiti bileşiklerinin oluşturduğu belirlenmiştir.

SBD ile kişnişden elde edilen uçucu yağın verimi %0,5 w/w'dir ve GC-MS kromatogramında 145 sinyal tespit edilmiştir (Çizelge 4.2. ve 4.5.). SBD ile hazırlanan uçucu yağda temel bileşenler sırasıyla **linalool** (%67,6), **γ-terpinen** (%9,8), bisiklik monoterpen olan **3-karen** (%6,6), **simol** (%3,3) ve **nerolasetat** (%2,3) olarak saptanmıştır. SBD yöntemiyle hazırlanan uçucu yağın %23,5'ini monoterpen bileşikleri, %72,5'ini oksijenli monoterpen bileşiklerinin oluşturduğu belirlenmiştir.

GSK ile kişnişden elde edilen ekstraktın verimi %3,6 w/w'dir ve GC-MS kromatogramında 39 sinyal belirlenmiştir(Çizelge 4.2 ve 4.4.). GSK ile kişnişden elde edilen uçucu yağda temel bileşenler sırasıyla **linalool** (%66,7), **3-karen**

(%16,4), **γ -terpinen** (%7,0) ve **simol** (%2,0) olarak bulunmuştur. GSK yöntemiyle hazırlanan ekstraktta %28,4'ünü monoterpen bileşikleri, %68,7'sini oksijenli monoterpen bileşiklerinin, oluşturduğu belirlenmiştir.

USE ile kişnişden elde edilen ekstraktın verimi %2,3 w/w dir ve GC-MS analizinde 72 sinyal tespit edilmiştir(Çizelge 4.2 ve 4.5.). USE ile hazırlanan uçucu yağda bileşenler sırasıyla **linalool** (%66,2), **3-karen** (%9,9), **γ -terpinen**(%6,4), **sabinen** (%4,5), **simol** (%2,0), asiklik monoterpen olan **β -mirsen** (%1,5) ve **nerolasetat** (%1,1)'dir. USE yöntemiyle hazırlanan uçucu yağın % 26,4'ünü monoterpen bileşikleri, %68,4'ünü oksijenli monoterpen bileşiklerinin oluşturduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.5. *Coriandrium sativum* L(kişniş)'nin ekstraksiyon metoduna göre kimyasal kompozisyonu

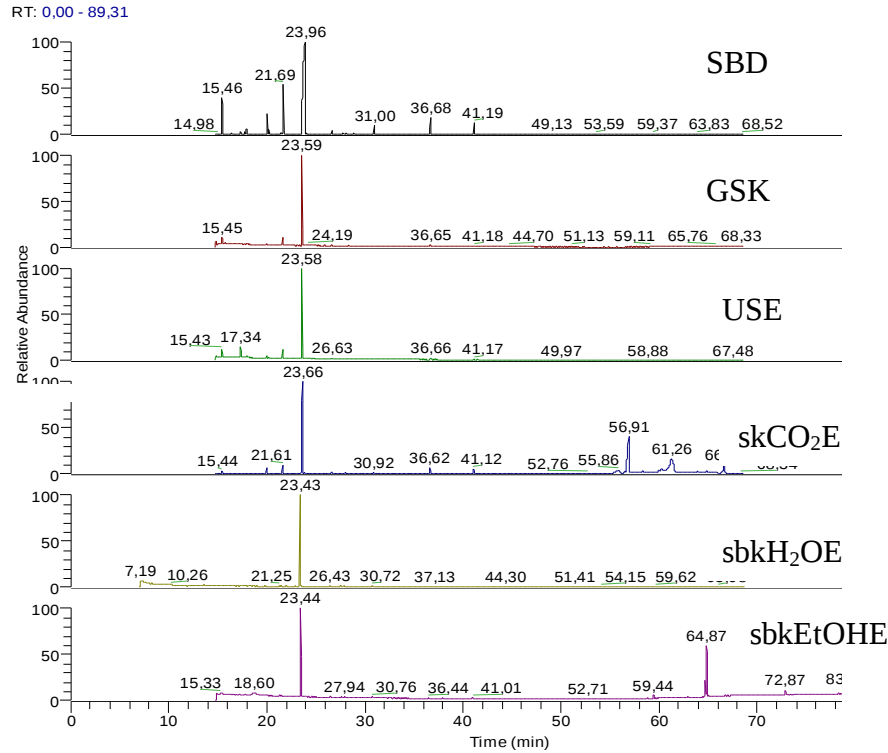
KI	BİLEŞEN	Göreceli Dağılım (%)					
		sbkH ₂ O/E	skCO ₂ E	sbkEtOHE	SBD	GSK	USE
934	α - Thujen	---	0,6	---	0,2	---	---
942	3-Karen	0,4	0,8	---	6,6	16,4	9,9
950	1-metil-2-propilsikloheksan	0,4	---	---	---	---	---
957	kamfen	---	---	---	0,3	0,2	0,4
973	Sabinen	---	---	---	0,4	0,5	4,5
980	β -pinen	---	0,1	---	0,5	0,5	0,6
983	β -mirsen	---	0,2	---	0,8	1,0	1,5
1016	α -humulen	---	...	---	0,1	---	0,1
1029	simol	0,3	1,8	---	3,3	2,0	2,0
1034	<i>d</i> l-limonen	---	0,2	---	0,9	0,6	0,5
1039	β -fellandren	---	---	---	0,1	---	---
1051	β -osimen	---	---	---	0,1	---	0,2
1068	artemisya keton	0,8	0,2	0,9	0,2	0,2	0,2
1074	γ-terpinen	0,4	3,4	0,6	9,8	7,0	6,4
1086	1-feniletanol	0,5	---	---	---	---	---
1089	linalool oksit	0,6	0,1	---	---	---	---
1108	α -terpinolen	0,5	0,2	---	0,2	0,2	0,2
1120	linalool	88,6	79,9	60,1	67,6	66,7	66,2
1125	n-nonanal	---	0,2	---	---	---	---
1128	<i>cis</i> -sabinene hidrat asetat	---	0,1	---	---	---	---
1182	alkanfor	1,3	0,7	0,6	0,6	0,4	0,4
1205	borneol	0,5	0,4	0,3	0,3	0,1	0,4
1211	4-terpineol	0,8	0,5	0,4	0,2	0,2	0,3
1226	<i>p</i> -menth-1-en-8-ol	0,2	0,2	---	---	---	---
1230	dekanal	---	0,2	---	0,2	0,1	---
1251	β -sitronellol	---	0,2	---	0,2	---	---
1276	pulegon	1,1	---	1,2	---	---	---
1278	nerol	---	1,0	---	1,5	0,1	---
1398	nerol asetat	0,1	3,1	0,2	2,3	0,9	1,1
1410	2,5,9-trimetildekan	0,2	---	---	---	---	---
1427	dodekanal	---	0,2	---	---	---	---
1433	vanilin	0,2	---	---	---	---	---
1485	2-dodekenal	---	2,7	0,2	1,8	0,4	0,5
1802	palmitik asit	---	---	1,3	---	---	---
1873	linoleik asit	---	---	7,6	---	---	---
1875	oleik asit	---	---	23,0	---	---	---
	TOPLAM GERİ KAZANIM	96,9	97,0	96,4	98,2	97,5	95,4

Kişnişden elde edilen ekstraktlarda en fazla rastlanan bileşen bir asiklik monoterpen olan linalool göreceli olarak en yüksek %88,6 ile sbkH₂OE yönteminde, en düşük göreceli miktarı % 60,1 ile sbkEtOHE yönteminde gözlenmiştir. γ -terpinen ise göreceli olarak en fazla %9,8 ile SBD ekstraksiyonunda gözlenirken, en düşük göreceli miktarı %0,4 ile sbkH₂OE yönteminde gözlenmiştir. 3-karen göreceli olarak en fazla %16,4 ile GSK ekstraksiyonunda gözlenirken, en düşük göreceli miktarı %0,1 değerinin altında sbkEtOHE yönteminde gözlenmiştir. Simol göreceli olarak en fazla % 3,3 ile SBD ekstraksiyonunda gözlenirken, en düşük göreceli miktarı % 0,1 değerinin altında sbkEtOHE yönteminde gözlenmiştir.

Diğer yöntemlerden farklı olarak sbkEtOHE yönteminde uçucu yağlar ve çözülmüş yağ asitleri etil esteri olarak elde edilmiştir. Oksijenli monoterpen bileşikleri ise göreceli olarak en fazla sbkH₂OE yönteminde elde edilmiştir.

Literatürde yer alan bir çalışmada, İtalya’da yetiştirilmiş kişniş tohumlarının süperkritik karbondioksit ekstraksiyonunu ve hidrodestilasyon ekstraksiyonunu çalışmışlar. Ekstraksiyon sonucunda temel bileşenleri linalool (%65-79), γ -terpinen (%4-7), kamfor (%3), geranil asetat (%2-4), α -pinen (%1-3), geraniol (%1-3) ve limonen (%1-2) olarak belirlemişlerdir (Grosso ve ark., 2008).

Literatürde yer alan bir diğer çalışmada, kişnişin sub-kritik su, hidrodestilasyon ve sokslet ekstraksiyonunun karşılaştırmasını çalışmışlar. Farklı sıcaklık (100, 125, 150 ve 175 °C), ortalama partükül boyutu (0.25,0.50 ve 1mm) ve su akış hızının (1,2 ve 4 ml/min) ekstraksiyon verimliliği üzerine etkisini incelemişler. Optimum sıcaklık, ortalama partükül boyutu ve akış hızının 125 °C, 0.5 mm ve 2 ml/min olduğunu göstermişler. Sub-kritik su ekstraksiyonu ile geleneksel ekstraksiyon metotları karşılaştırılmıştır. Hidrodestilasyon ve Soxhlet ekstraksiyonlarında yüksek ekstraksiyon etkinliği göstermiştir fakat sub-kritik su ekstraksiyonunda uçucu yağların değerli oksijenli bileşenlerinin daha konsantre olduğunu gözlemişlerdir (Eikani ve ark., 2007). Bitkilerin yetiştirildiği coğrafik ve iklim koşullarının bitkiden elde edilecek uçucu yağın bileşenleri üzerine etkisi çok iyi bilinmektedir (Giray ve ark., 2008). Bu çalışmada gözlemlendiği gibi Eikani ve ark. da kişnişte en fazla bulunan uçucu yağ bileşeninin linalool ve γ -terpinen olduğunu belirtmişlerdir. Ancak, göreceli miktarları farklıdır ve bu da doğaldır.



Şekil 4.3. Kıyışın SBD, GSK, USE, skCO₂E, sbkH₂OE ve sbkEtOHE ekstraksiyon yöntemleriyle, elde edilen uçucu yağların kromatogramları.

4.1.4. Yıllık Pelinotu ile Yapılan Ekstraksiyonlar

Yıllık Pelinotundan GSK, USE, skCO₂E, ve sbkEtOHE yöntemleri ile elde edilen ekstraktlar ve SBD, sbkH₂OE ile hazırlanan uçucu yağın GC-MS analiz sonuçları Çizelge 4.6.'da ve GC-MS kromatogramları ise Şekil 4.4.'de verilmiştir.

sbkH₂OE ile ekstraksiyon sırasında en etkin çalışma koşullarının 125 °C sıcaklık, 80 atm basınç ve dakikada 2 ml akış hızı olduğu belirlenmiştir(Çizelge 4.1.). Yıllık pelinotudan sbkH₂OE ile elde edilen uçucu yağın verimi %1,2 w/w'dir ve GC-MS analizinde ise 133 sinyal tespit edilmiştir(Çizelge 4.2 ve 4.6.). sbkH₂OE ile hazırlanan uçucu yağda temel bileşenler sırasıyla bisiklik seskiterpen olan **arteannuin b** (%25,5), bisiklik monoterpen olan **kamfor** (%20,1), düzensiz bir monoterpen olan **artemisya keton** (%17,2), bir bisiklik monoterpen eter olan **1,8-sineol** (%5,5) ve bir seskiterpen lakton olan **qinghaosu (artemisinin)** (%2,1)'dur. sbkH₂OE yöntemiyle hazırlanan uçucu yağın %0,2'sini monoterpen bileşikleri,

%45,3'ünü oksijenli monoterpen bileşikleri ve %36,5'ini oksijenli seskiterpen bileşiklerinin oluşturduğu belirlenmiştir.

Yıllık pelinotunun skCO₂E ile ekstraksiyonunda en uygun çalışma koşullarının 40 °C sıcaklık ve 300 atm basınç olduğu belirlenmiştir. Bu koşullarda elde edilen ekstraktın verimi %6,5'dir ve GC-MS analizinde ise 262 sinyal tespit edilmiştir (Çizelge 4.2 ve 4.6.). skCO₂E ile hazırlanan uçucu yağda temel bileşenler sırasıyla **artemisya keton** (%11,7), **arteannuin b** (%11,6), **kamfor** (%11,0), **1,8-sineol** (%8,5), bisiklik seskiterpen olan **β -selinen** (%7,6), çok yönlü seskiterpen olan **karyofillen** (%1,6) ve bisiklik monoterpen olan **kamfen** (%1,6)'dir. skCO₂E yöntemiyle hazırlanan uçucu yağın %4,7'sini monoterpen bileşikleri, %37,7'sini oksijenli monoterpen bileşikleri %13,2'sini seskiterpen bileşikleri ve %17,4'sini oksijenli seskiterpen bileşiklerinin oluşturduğu belirlenmiştir.

sbkEtOHE ile yıllık pelinotundan elde edilen ekstraktın verimi %18,1 w/w'dir ve bu verim 125 °C sıcaklık ve 80 atm basınç uygulandığında gözlenmiştir. GC-MS analiz sonuçlarına göre 79 sinyal tespit edilmiştir (Çizelge 4.2 ve 4.6.). sbkEtOHE ile hazırlanan ekstraktta temel bileşenler sırasıyla **artemisya keton** (%28,5), **arteannuin b** (%8,2), **1,8-sineol** (%7,6), **kamfor** (%7,5), 31 karbonlu düz zincirli alkan olan **hentriakontan** (%7,9), 30 karbonlu dallanmış alkan olan **squalen** (%6,4), 30 karbonlu düz zincirli alkan olan **triakontan** (%6,1) ve **β -selinen** (%3,3)'dir. sbkEtOHE yöntemiyle hazırlanan uçucu yağın %0,4'ünü monoterpen bileşikleri, %45,3'ünü oksijenli monoterpen bileşikleri %6,0'ını seskiterpen bileşikleri, %13,8'ini oksijenli seskiterpen bileşikleri ve %20,4'ünü uzun zincirli hidrokarbon bileşiklerinin oluşturduğu belirlenmiştir.

SBD ile yıllık pelinotundan elde edilen uçucu yağın verimi %2,5 w/w'dir ve GC-MS kromatogramında 234 sinyal tespit edilmiştir (Çizelge 4.2 ve 4.6). SBD ile hazırlanan uçucu yağda temel bileşenler sırasıyla **kamfor** (%13,2), **artemisya keton** (%11,4), **1,8-sineol** (%10,2), **β -selinen** (%9,4), **karyofillen** (%3,3) ve **karyofillen oksit** (3,8) olarak saptanmıştır. SBD yöntemiyle hazırlanan uçucu yağın %8,6'sını monoterpen bileşikleri, %47,3'ünü oksijenli monoterpen bileşikleri, %21,1'ini seskiterpen bileşikleri ve %12,7'sini oksijenli seskiterpen bileşiklerinin oluşturduğu belirlenmiştir.

GSK ile yıllık pelinotundan elde edilen ekstraktın verimi %7,1 w/w'dir ve GC-MS kromatogramında 62 sinyal belirlenmiştir(Çizelge 4.2 ve 4.6.). GSK yöntemiyle hazırlanan uçucu yağda temel bileşenler sırasıyla **artemisya keton** (%43,7), **kamfor** (%9,9), **1,8-sineol** (%7,1), **arteannuin b** (%5,6), **β -selinen** (%4,3), **kamfen** (%1,9) ve **karyofillen** (%1,3) olarak bulunmuştur. GSK yöntemiyle hazırlanan uçucu yağın %5,1'ini monoterpen bileşikleri, %63,6'sını oksijenli monoterpen bileşikleri, %7,6'sını seskiterpen bileşikleri ve %9,3'ünü oksijenli seskiterpen bileşiklerinin oluşturduğu belirlenmiştir.

USE ile yıllık pelinotundan elde edilen ekstraktın verimi %6,9 w/w'dir ve GC-MS analizinde ise 75 sinyal tespit edilmiştir(Çizelge 4.2 ve 4.6.). USE ile hazırlanan uçucu yağda temel bileşenler sırasıyla **artemisya keton** (%42,6), **kamfor** (%12,2), **1,8-sineol** (%9,0), **arteannuin b** (%6,8), **β -selinen** (%5,2) **kamfen** (%2,5) ve **karyofillen** (%1,2)'dir. USE yöntemiyle hazırlanan uçucu yağın % 7,2'sini monoterpen bileşikleri, %67,6'sını oksijenli monoterpen bileşikleri %8,3'ünü seskiterpen bileşikleri ve %10,9'unu oksijenli seskiterpen bileşiklerinin oluşturduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.6. *Artemissia annua* L(yıllık pelinotu)'nun ekstraksiyon metoduna göre kimyasal kompozisyonu

KI	Bileşen	Göreceli Dağılım (%)					
		sbkH ₂ O/E	skCO ₂ E	sbkEtO/E	SBD	GSK	USE
934	α-thujen	---	0,5	---	0,3	---	---
941	α-pinen	---	0,6	---	1,8	1,0	1,3
957	kamfen	---	1,6	---	2,9	2,0	2,5
973	Sabinen	---	0,3	---	0,5	0,7	0,8
980	β-pinen	---	0,7	---	1,3	0,7	1,1
983	β-mirsen	---	0,2	---	0,3	0,2	0,3
986	yomogi alkol	1,6	0,7	---	2,0	0,6	0,8
1016	α-humulen	...	0,1	---	0,3	---	0,2
1029	p-simen	0,2	0,6	0,4	1,1	0,3	0,5
1034	dl-limonen	---	---	---	0,1	---	0,1
1042	1,8-sineol	5,5	8,5	7,6	10,2	7,1	9,0
1072	artemisia keton	17,2	11,7	28,5	11,4	43,7	42,6
1073	γ-terpinen	---	0,2	---	---	0,2	0,4
1082	hotrienol	---	---	---	0,1	---	---
1093	trans-sabinene hidrat	---	0,4	0,2	0,2	0,4	0,3
1098	3,3,6-trimetil-1,5-heptadien-4-ol	0,9	2,0	1,1	2,3	1,6	1,8
1108	α-terpinolen	---	---	---	0,1	---	---
1119	E-farnesen epoksit	0,2	0,2	---	0,4	---	0,2
1126	nonanal	---	---	---	0,2	---	---
1128	5-isopropyl-2-metilbisiklo[3.1.0]hexan-2-ol	---	0,6	0,2	0,3	0,3	0,4
1138	3,7-dimetil-1-okten	---	0,1	---	---	---	---
1146	2-metil-3-penten-1-ol	0,1	0,2	---	---	---	---
1152	p-menth-2-en-1-ol	---	...	---	0,1	---	---
1155	α-kamfolenal	---	0,1	---	0,4	---	---
1162	2-metil-6metilen-1,7-oktadien-3-on	---	0,1	---	0,2	---	---
1169	geranik asit	---	0,1	---	...	---	---
1173	pinokarveol	0,3	0,4	---	0,9	---	0,2
1178	2,6-dimetil-1,5,7-oktatrien-3-ol	---	0,1	---	0,3	---	---
1183	kamphor	20,1	11,0	7,5	13,2	9,9	12,2
1185	2-isopropenil-5-metil-4-hekzen-1-ol	---	0,1	---	---	---	---
1189	cis-verbenol	---	0,2	---	0,5	---	---
1195	2(10)-pinen-3-on	0,2	0,3	---	0,7	0,2	0,3
1200	p-menth-1-en-8-ol	0,1	0,2	---	0,3	---	---
1205	borneol	---	0,13	---	0,6	---	---
1211	p-menth-1-en-4-ol	0,5	0,2	---	1,5	---	0,1

Çizelge 4.6.'in devamı

		sbkH ₂ O	skCO ₂ E	sbkEtOHE	SBD	GSK	USE
1217	tanımlanamadı	---	0,1	---	---	0,5	---
1221	mirtenol	---	---	---	0,1	---	---
1227	linalil propionat	0,2	0,5	---	1,0	---	0,2
1232	mirtenal	0,2	0,2	---	0,3	---	0,2
1252	C ₁₀ H ₁₆ O	---	0,1	---	0,1	---	---
1256	hekzil-2-metil butirat	---	---	---	0,1	---	---
1268	cis-karveol	---	0,2	---	0,2	---	---
1276	pulegon	---	---	---	0,4	---	---
1283	p-Mentha-6,8-dien-2-on	---	---	---	0,1	---	---
1289	C ₁₀ H ₁₆ O	0,1	0,4	---	---	---	---
1313	1-tetradeken	---	---	---	0,1	---	---
1330	C ₁₀ H ₁₆ O	---	0,1	---	---	---	---
1342	6,7-dimetil-1,2,3,5,8,8a-hekza hidro naftalin	---	---	---	0,6	---	---
1355	C ₁₀ H ₂₀ O	---	0,1	0,2	---	---	---
1365	C ₁₀ H ₁₆ O	---	0,2	---	---	---	---
1375	α-kubeben	---	0,1	---	---	---	---
1386	eugenol	0,1	---	---	0,3	---	---
1389	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	---	0,1	---	---	---	---
1405	α-kopaen	---	1,2	0,5	2,1	0,9	0,9
1413	benzil 2-metilbutanoat	---	0,4	0,2	1,1	0,3	0,4
1422	cis-jasmon	---	---	---	0,1	---	---
1432	β-kopaen-4α-ol	0,1	---	---	0,2	---	---
1433	tetrahidro-2,2,6-trimetil-6-vinil-2H-piran-3-ol	---	0,2	---	---	---	---
1444	C ₁₅ H ₂₄	---	---	0,7	0,1	---	---
1447	karyofillen	---	1,6	---	3,3	1,3	1,2
1455	C ₁₅ H ₂₄	---	---	---	0,1	---	---
1461	tanımlanamadı	---	0,2	---	---	---	---
1463	β-farnesen	---	0,8	0,5	1,3	0,4	0,5
1471	C ₁₁ H ₁₈ O ₂	---	0,2	---	---	---	---
1480	β-şamigren	---	0,1	---	0,3	---	---
1482	α-karyofillene	---	0,1	---	0,2	---	---
1496	α-himakalen	---	0,3	0,3	0,6	---	---
1508	germakren-d	---	0,4	0,7	2,4	0,7	0,6
1512	aromadendren	---	---	---	0,2	---	---
1523	β-selinene	---	7,6	3,3	9,4	4,3	5,2
1527	bicyclogermakren	---	---	---	0,2	---	---
1548	δ-kadinen	---	0,4	---	0,2	---	---
1555	C ₁₅ H ₂₄ O	---	0,1	---	0,1	---	---
1564	C ₁₄ H ₂₂ O	---	0,1	0,1	0,1	---	---

Çizelge 4.6.'in devamı

		sbkH ₂ O	skCO ₂ E	sbkEtOHE	SBD	GSK	USE
1604	C ₁₅ H ₂₄	---	0,1	---	0,3	---	---
1611	tanımlanamadı	---	0,7	---	2,0	0,2	0,2
1612	C ₁₅ H ₂₄ O	---	0,6	0,2	---	---	0,2
1614	spatulenol	---	---	---	0,7	---	---
1618	karyofillen oksit	---	0,9	---	3,8	0,7	0,6
1621	C ₁₅ H ₂₄ O	---	---	---	0,2	---	---
1623	C ₁₅ H ₂₄ O	---	---	---	0,2	---	---
1634	cis-Z- α -bisabolen epoxide	---	0,2	---	0,6	---	---
1639	sedr-8-en-13-ol	---	---	---	0,3	---	---
1645	kubenol	---	0,6	0,8	1,9	---	0,2
1649	C ₁₅ H ₂₄ O	---	---	---	0,2	---	---
1651	tanımlanamadı	---	---	---	0,2	---	---
1656	cis-lanseol	---	0,2	---	...	---	---
1660	C ₁₅ H ₂₂ O	---	0,3	---	0,6	---	---
1664	C ₁₅ H ₂₄ O	---	0,2	---	...	---	---
1666	C ₁₅ H ₂₄	---	0,1	---	0,4	---	---
1667	C ₁₅ H ₂₄	---	0,1	---	0,4	---	---
1672	C ₁₅ H ₂₄ O	0,1	0,5	0,9	1,0	0,1	0,2
1675	C ₁₅ H ₂₄ O	---	0,3	---	---	---	---
1678	isoaromadendren epoksit	0,1	0,2	1,0	0,4	---	---
1682	C ₁₅ H ₂₄ O	---	---	---	0,1	---	---
1684	tanımlanamadı	---	0,1	---	---	---	---
1686	C ₁₅ H ₂₂ O	---	---	0,3	0,8	---	---
1691	tanımlanamadı	0,1	0,3	---	---	---	---
1696	C ₁₅ H ₂₄ O	---	0,2	---	0,2	---	---
1702	C ₁₅ H ₂₂ O	---	0,1	0,1	---	---	---
1704	C ₁₅ H ₂₄ O	---	0,1	---	0,2	---	---
1710	tanımlanamadı	0,2	0,2	---	---	---	---
1718	C ₁₅ H ₂₂ O	---	0,6	---	0,3	0,6	0,2
1721	C ₁₅ H ₂₄ O	---	0,1	0,5	---	---	---
1724	C ₁₄ H ₂₂ O	1,3	0,3	---	0,1	---	0,2
1726	C ₁₄ H ₂₂ O	0,7	0,2	---	---	---	---
1732	C ₁₄ H ₂₂ O	1,2	1,2	---	0,2	0,8	0,8
1738	hekzahidrofarnesil aseton	0,3	0,4	1,1	0,2	0,2	0,1
1751	arteannuik asit	0,1	1,2	---	---	---	---
1754	C ₁₅ H ₂₆ O ₂	0,1	0,2	---	---	---	---
1756	tanımlanamadı	---	0,2	---	---	---	---
1760	C ₁₅ H ₂₄ O	0,2	0,2	---	---	---	---
1763	tanımlanamadı	0,1	0,1	0,5	---	---	---
1766	tanımlanamadı	1,6	0,7	0,1	---	0,3	0,3

Çizelge 4.6.'in devamı

		sbkH ₂ O	skCO ₂ E	sbkEtOHE	SBD	GSK	USE
1772	C ₁₅ H ₂₄ O	0,3	0,2	---	---	---	---
1778	tanımlanamadı	0,2	2,6	0,2	---	0,8	0,7
1783	C ₁₅ H ₂₄ O	---	0,2	---	---	---	---
1791	tanımlanamadı	---	0,3	---	---	---	---
1797	sedran-8-13-diol	0,2	0,9	0,2	---	0,3	0,3
1800	C ₁₅ H ₂₄ O	---	0,4	---	---	0,3	0,3
1827	tanımlanamadı	0,7	0,3	0,2	---	---	---
1830	platambin-1,6-dion	---	0,2	---	---	---	---
1838	C ₁₅ H ₂₀ O ₂	0,3	0,5	0,5	---	0,2	0,2
1843	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	0,3	0,5	---	---	---	---
1850	iso-velleral	0,6	1,0	0,6	---	0,3	0,3
1857	tanımlanamadı	3,2	0,7	---	---	---	---
1863	heneikosan	0,2	0,3	0,8	---	0,3	0,2
1867	deoksinghaosu	3,4	0,8	---	---	0,3	0,3
1876	3,7,11,15-tetrametil-2-hekzadeken-1-ol	---	---	---	0,1	---	---
1877	arteannuin b	25,5	11,6	8,2	---	5,6	6,8
1885	tetrakosan	0,7	0,1	---	---	4,5	---
1887	C ₁₅ H ₂₀ O ₃	---	0,5	---	---	---	---
1945	Qinghaosu	2,1	---	---	---	---	---
1952	C ₁₄ H ₂₂ O ₂	---	1,1	---	---	0,4	0,4
1953	2-butil-2-etil-5-metil-3,4-hekzadienal	---	---	1,6	---	---	---
1961	heptakosan	---	0,8	---	0,1	1,1	0,6
2015	nonakosan	---	0,3	---	---	2,6	---
2102	squalen	---	---	6,4	---	---	---
2127	triakontan	---	---	6,1	---	---	---
2131	tanımlanamadı	---	---	1,2	---	---	---
2193	hentriacontan	---	---	7,7	---	---	---
TOPLAM GERİ KAZANIM		91,4	92,63	91,2	95,3	96,9	97,4

Çizelge 4.5.'den de görüldüğü gibi yıllık pelinotundan elde edilen uçucu yağlarda belirlenen bileşenlerin göreceli dağılımı (%) seçilen ekstraksiyon metoduna göre farklılık göstermektedir.

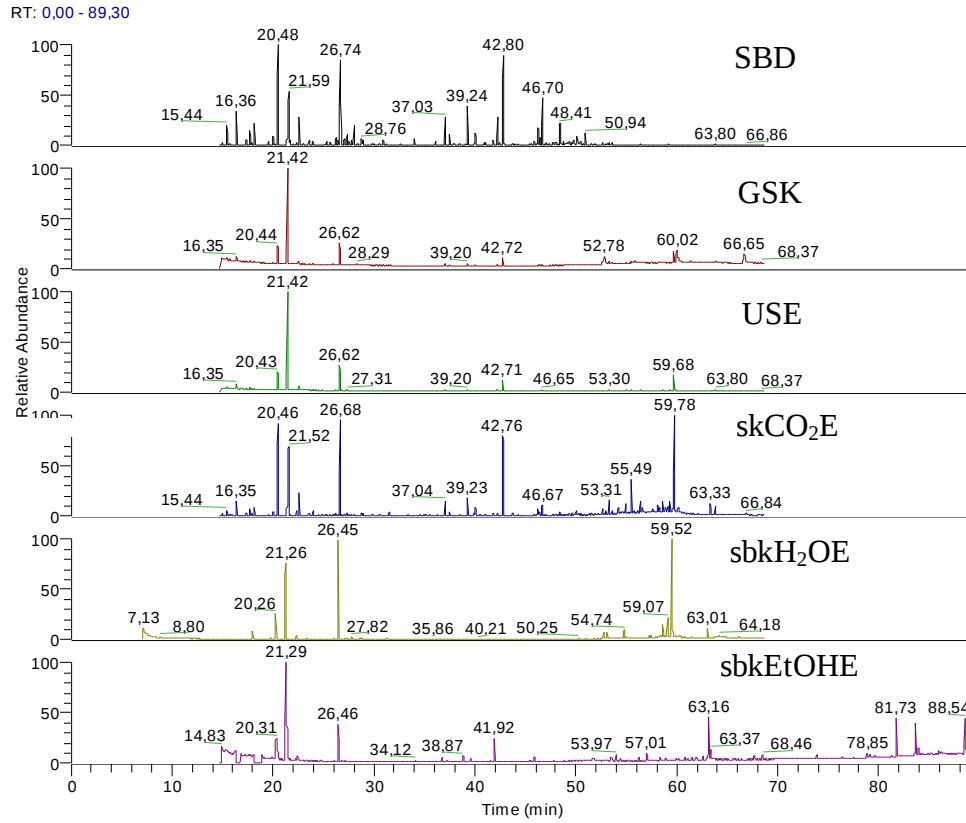
Genel olarak *a*-tujen, *a*-pinen, kamfen, sabinen, *b*-pinen ve *b*-mirsen gibi monoterpen bileşiklerine sbkH₂O ve sbkEtOHE ekstraktlarında hiç rastlanmamıştır. Artemisya keton, kamfor, 1,8 sineol, *β*-selinen ve arteannuin b bileşikleri tüm

yöntemlerde hazırlanan uçucu yağlarda belirlenmiştir. Ancak, artemisya keton göreceli olarak en fazla %43,7 ile GSK yönteminde gözlenirken, kamfor göreceli olarak en fazla (%20,1) sbkH₂OE yönteminde, 1,8-sineol göreceli olarak en fazla (%10,2) SBD yönteminde, β -selinen göreceli olarak en fazla (%9,4) SBD yönteminde ve arteannuin b göreceli olarak en fazla (%25,5) sbkH₂OE yönteminde gözlenmiştir.

Altı farklı ekstraksiyon ile yıllık pelinotundan elde edilen ekstraktlarda oksijenli monoterpen bileşikleri göreceli olarak en fazla USE ekstraksiyonunda elde edilirken, seskiterpen bileşikleri göreceli olarak en fazla SBD ekstraksiyonunda elde edilmiştir. Oksijenli seskiterpen bileşikleri ise göreceli olarak en fazla sbkH₂OE yönteminde elde edilmiştir. Diğer yöntemlerden farklı olarak sbkEtOHE yönteminde uçucu yağların yanısıra uzun zincirli hidrokarbonlar da elde edilmiştir.

Literatürde yer alan bir çalışmada yıllık pelinotunu hidrodestilasyon ekstraksiyonu ile ekstrakte etmişler. Ekstraksiyon sonucunda temel bileşenleri kamfor (%44,0), germakren (%16,0), *trans*-pinokarveol (%11,0), β -selinen (%9,0), β -karyofillen (%9,0) ve artemisya keton (%3,0) olarak belirlemişlerdir (Juteau ve ark., 2002). Literatürde yer alan bir diğer çalışmada Bulgaristan'da yetiştirilen yıllık pelinotunu hidrodestilasyon ekstraksiyonu ile ekstrakte etmişler. Ekstraksiyon sonucunda GC-MS analiz sonuçlarına göre temel bileşenleri α -karyofillen (%24,7), α -kuveben (13,5), α -kopaen (%7,4), α -selinen (%8,2), artemisya keton (%8,5) ve kamfor (%3,6) olarak belirlemişlerdir (Tzenkova ve ark., 2010). Literatürde yer alan bir diğer çalışmada ise yıllık pelinotunu hidrodestilasyon ekstraksiyonu ile ekstrakte etmişler. Elde edilen uçucu yağın analizini GCxGC-TOF MS ile gerçekleştirmişlerdir. Analiz sonucunda temel bileşenleri borneol (%15,9), β -farnesen (%12,9), germakren d (%10,9) ve β -cis-karyofillen (%6,0) olarak belirlemişlerdir (Ma ve ark., 2007).

Literatürde yer alan çalışmalarda ve bizim çalışmamızdan elde edilen uçucu yağ bileşenleri aynı olmakla beraber göreceli dağılımları farklıdır. Bu da bitkilerin farklı coğrafyalardan yetiştirilmiş olmasından kaynaklanmaktadır.



Şekil 4.4. Yıllık pelinotunun SBD, GSK, USE, skCO₂E, sbkH₂OE ve sbkEtOHE ekstraksiyon yöntemleriyle, elde edilen uçucu yağların kromatogramları.

4.1.5. Taşnanesi ile Yapılan Ekstraksiyonlar

Taşnanesinden GSK, USE, skCO₂E, ve sbkEtOHE yöntemleri ile elde edilen ekstraktlar ve SBD ve sbkH₂OE ile hazırlanan uçucu yağın GC-MS analiz sonuçları Çizelge 4.7.'de ve GC-MS kromatogramları Şekil 4.5.'de verilmiştir.

sbkH₂OE ile en etkin çalışma koşullarının 100 °C sıcaklık, 60 atm basınç ve dakikada 2 ml akış hızı olduğu belirlemiştir (Çizelge 4.1.) Bu koşullarda elde edilen uçucu yağın verimi %0,9 w/w'dir (Çizelge 4.2.). Çizelge 4.7.'den de görüleceği gibi GC-MS analizinde 122 sinyal tespit edilmiştir. sbkH₂OE ile hazırlanan uçucu yağda temel bileşenler sırasıyla oksijenli monosiklik monoterpen olan **pulegon** (%69,2), oksijenli monosiklik monoterpen olan **isomenton** (%11,8), oksijenli monosiklik monoterpen olan **piperitenon** (%4,5) **p-menton** (%2,8) ve **piperitenon oksit** (%1,8)'dur. sbkH₂OE yöntemiyle hazırlanan uçucu yağın %94,6'ünü oksijenli monoterpen bileşiklerinin oluşturduğu belirlenmiştir.

Taşnanesinin skCO₂E ile ekstraksiyonunda en uygun çalışma koşullarının 40 °C sıcaklık 300 atm basınç olduğu belirlenmiştir. Bu koşullarda elde edilen ekstraktın verimi %3,3 w/w'dir ve GC-MS analizinde 230 sinyal tespit edilmiştir (Çizelge 4.2. ve 4.7.). skCO₂E ile hazırlanan uçucu yağda temel bileşenler sırasıyla **pulegon** (%46,3), **isomenton** (%16,4), **p-menton** (%10,6), **limonen** (%2,5), **piperitenon** (%2,0) ve oksijenli monosiklik monoterpen olan **trans-1,3,trans-1,4-mentol** (%1,2)'dur. skCO₂E yöntemiyle hazırlanan uçucu yağın % 6,6'sını monoterpen bileşikleri, %77,0'ını oksijenli monoterpen bileşikleri ve %3,4'ünü seskiterpen bileşiklerinin oluşturduğu belirlenmiştir.

sbkEtOHE ile taşnanesinden elde edilen ekstraktın verimi 29,8 w/w'dir ve GC-MS analizinde 68 sinyal tespit edilmiştir (Çizelge 4.2. ve 4.7.). Bu verim 125 °C sıcaklık 80 atm basınç uygulandığında gözlenmiştir. sbkEtOHE ile hazırlanan uçucu yağda temel bileşenler sırasıyla **pulegon** (%56,2), **isomenton** (%22,5) ve **p-menton** (%11,3)'dur. sbkEtOHE yöntemiyle hazırlanan uçucu yağın % 1,7'ini monoterpen bileşikleri, %91,5'ünü oksijenli monoterpen bileşikleri ve %4,1'sini uzun zincirli hidrokarbon bileşiklerinin oluşturduğu belirlenmiştir.

SBD ile taşnanesinden elde edilen uçucu yağ ekstraktın verimi % 2,2 w/w'dir ve GC-MS kromatogramında 112 sinyal tespit edilmiştir (Çizelge 4.2. ve 4.7.). SBD ile hazırlanan uçucu yağda temel bileşenler sırasıyla **pulegon** (%55,7), **isomenton** (%15,0), **p-menton** (%11,9), **limonen** (%2,6) ve **trans-1,3,trans-1,4-mentol** (%2,2)'dür. SBD yöntemiyle hazırlanan uçucu yağın %7,1'ini monoterpen bileşikleri, % 88,3'ünü oksijenli monoterpen bileşikleri ve %2,2'sini seksiterpen bileşiklerinin oluşturduğu belirlenmiştir.

GSK ile hazırlanan ekstraktın verimi %23,5 w/w'dir ve GC-MS kromatogramında 50 sinyal belirlenmiştir (Çizelge 4.2 ve 4.7.). GSK ile hazırlanan uçucu yağda temel bileşenler sırasıyla **pulegon** (%70,8), **isomenton** (%9,4), **p-menton** (%5,9), **limonen** (%1,6), **piperitenon** (%1,4) ve **trans-1,3,trans-1,4-mentol** (%1,3)'dür. GSK yöntemiyle hazırlanan uçucu yağın %5,0'ını monoterpen bileşikleri, %91,2'ini oksijenli monoterpen bileşikleri ve %1,6'ünü seskiterpen bileşiklerinin oluşturduğu belirlenmiştir.

USE ile taşnanesinden elde edilen uçucu yağın verimi %3,9 w/w'dır ve GC-MS analizinde 62 sinyal tespit edilmiştir (Çizelge 4.2 ve 4.7.). USE ile hazırlanan uçucu yağda temel bileşenler sırasıyla **pulegon** (%63,6), **isomenton** (%12,6), **p-menton** (%7,5), **limonen** (%1,9), **trans-1,3,trans-1,4-mentol** (%1,7) ve **piperitenon** (%1,2)'dur. USE yöntemiyle hazırlanan uçucu yağın % 7,7 sini monoterpen bileşikleri, %89,1'ini oksijenli monoterpen bileşikleri ve %1,4'ünü seskiterpen bileşiklerinin oluşturduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.7. *Micromeria fruticosa* (taşnanesi)'nin ekstraksiyon yöntemine göre kimyasal kompozisyonu

KI	Bileşen	Göreceli Dağılım (%)					
		sbkH ₂ O/E	skCO ₂ E	sbkEtO/E	SBD	GSK	USE
941	α -pinen	---	0,9	---	1,2	1,0	2,9
973	sabinen	---	0,5	---	0,5	0,4	0,5
976	1-okten-3-ol	---	0,9	---	0,3	0,3	0,3
979	β -pinen	---	1,4	---	1,5	1,1	1,4
983	β -mirsen	---	1,1	1,7	1,0	0,8	0,9
990	3-oktanol	0,2	0,3	---	---	---	0,2
1033	<i>d</i> <i>l</i> -limonen	---	2,5	---	2,6	1,6	1,9
1040	1,8-sineol	0,1	0,2	---	0,2	0,1	0,2
1050	β -osimen	---	0,3	---	0,2	0,1	0,2
1166	C ₁₀ H ₁₆ O	0,1	---	---	---	---	---
1186	<i>p</i> -menton	2,8	10,6	11,3	11,9	5,9	7,5
1195	isomenton	11,8	16,4	22,5	15,0	9,4	12,6
1198	<i>trans</i> -1,3, <i>trans</i> -1,4-mentol	---	1,2	---	2,2	1,3	1,7
1206	isopulegon	1,3	---	0,7	1,1	0,6	0,7
1222	<i>d</i> -isomentol	---	0,6	0,3	0,8	0,6	0,6
1224	mentol	1,0	0,9	---	---	---	---
1227	<i>p</i> -menth-1-en-8-ol	0,2	---	0,1	0,1	0,1	0,1
1250	2-isopropil-2,5-dimetilsikloheksanon	1,4	---	0,2	---	---	---
1254	4-metil-2(2-propenil)-fenol	---	0,3	---	0,2	0,1	0,1
1280	pulegon	69,2	46,3	56,1	55,7	70,8	63,6
1282	<i>cis</i> -4,8-epoksi- <i>p</i> -mentan-3-on	1,4	---	0,2	---	---	---
1289	piperiton oksit	0,1	---	0,1	0,2	0,1	0,1
1295	piperiton	0,3	---	---	0,2	0,1	0,2
1360	η -elemen	---	---	---	0,2	0,2	0,1
1375	2-pinen-4-on	---	---	0,3	---	---	---
1378	piperitenon	4,5	2,0	---	0,8	1,4	1,2

Çizelge 4.7.'nin devamı

	sbkH ₂ O/E	skCO ₂ E	sbkEtOHE	SBD	GSK	USE
1397 piperitenon oksit	1,8	1,0	---	0,5	0,8	0,6
1413 β -bourbonen	---	---	---	0,1	0,1	0,1
1426 1-isopropenil-2-metoksibenzen	0,2	---	---	---	---	---
1447 <i>trans</i> -karyofillen	---	0,8	0,2	0,6	0,5	0,5
1463 β -farnesen	---	0,3	---	0,1	...	...
1507 germakren-d	---	1,1	---	0,7	0,5	0,4
1518 leden	---	0,2	---	---	---	---
1519 3,9-epoksi-p-menta-3,8-dien	0,2	---	---	---	---	---
1526 bisiklogermakren	---	0,5	---	0,4	0,3	0,2
1547 δ -cadinen	---	0,3	---	0,1	---	---
1611 γ -muurolen	---	0,3	---	---	---	0,1
1613 dehidroaromadendren	---	0,2	---	---	---	---
2074 heptakosan	---	---	1,3	---	---	---
2102 skualen	---	---	0,4	---	---	---
2127 oktakosan	---	---	0,6	---	---	---
2179 nonakosan	---	---	0,3	---	---	---
2193 triakontan	---	---	1,7	---	---	---
TOPLAM GERİ KAZANIM	96,6	91,1	98,0	98,4	98,2	98,9

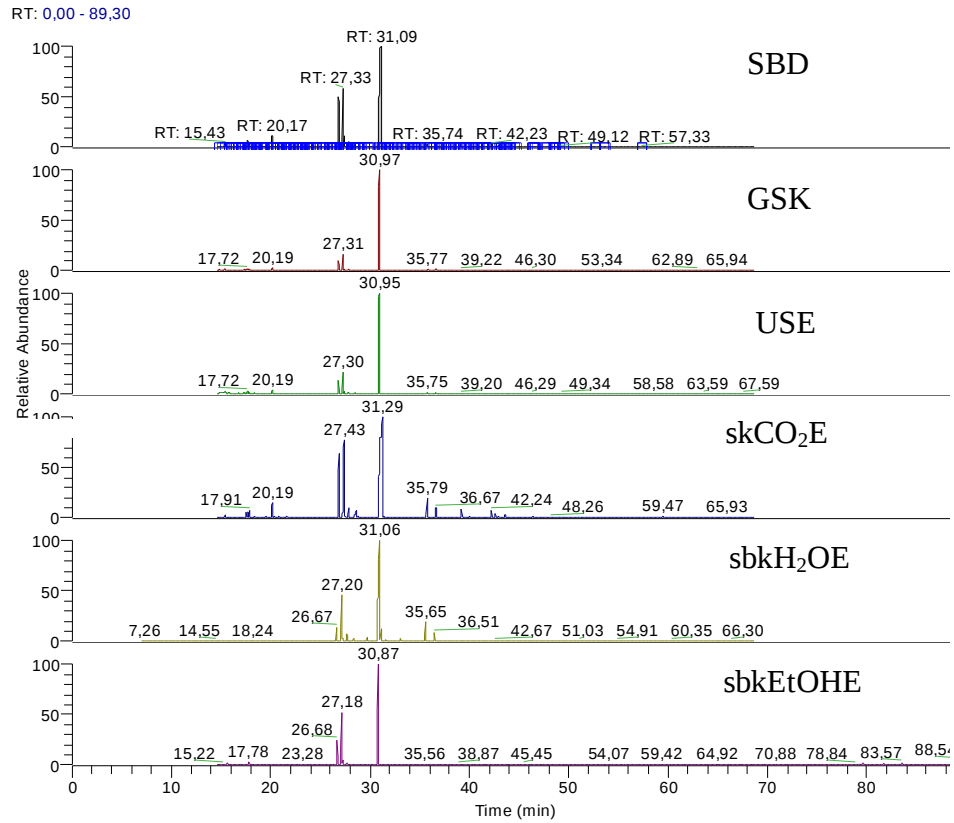
Elde edilen bulgulara göre bileşenlerin göreceli dağılımı (%) seçilen ekstraksiyon metoduna göre farklılık göstermektedir.

Genel olarak pulegon, isomenton ve *p*-menton tüm yöntemlerle hazırlanan uçucu yağlarda belirlenmiştir. Ancak, pulegon, göreceli olarak en fazla %70,8 ile GSK yönteminde gözlenirken, isomenton ise göreceli olarak en fazla (%22,5) sbkEtOHE yönteminde, *p*-menton ise en yüksek göreceli miktarı (%11,9) SBD yönteminde gözlenmiştir.

(Güllüce ve ark., 2004) taşnanesini hidrodestilasyon yöntemi ile ekstrakte etmişler ve ekstraksiyon sonucunda temel bileşenler sırasıyla %50,6 piperitenon, %29,2 pulegon, %3,9 isomenton ve %3,1 piperiton olarak bulmuşlardır. Güllüce ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada elde ettiği sonuçlar, bizim sonuçlarımızla nitelik açısından benzerlik göstermektedir.

Literatürde yer alan bir diğer çalışmada ise taşnanesinin *serpyllifolia* ve *brachycalyx* türlerinin hidrodestilasyon ekstraksiyonu ile ekstraktını elde etmişler.

Ekstraksiyon sonucunda elde ettikleri temel bileşenler, *serpyllifolia* türü için %30,3 linalool, %16,7 pulegon ve %10,3 *p*-menton olarak belirlerken *brachycalyx* türü için %39,9 linalool ve %31,9 piperitenon olarak belirlemişlerdir (Telci ve Ceylan, 2007). Elde ettikleri sonuçlar bizim sonuçlarla linalool bileşeni dışındaki bileşenler nitelik bakımından benzerlik göstermektedir.



Şekil 4.5. Taşnanesinin SBD, GSK, USE, skCO₂E, sbkH₂OE ve sbkEtOHE yöntemleriyle, elde edilen uçucu yağların kromatogramları.

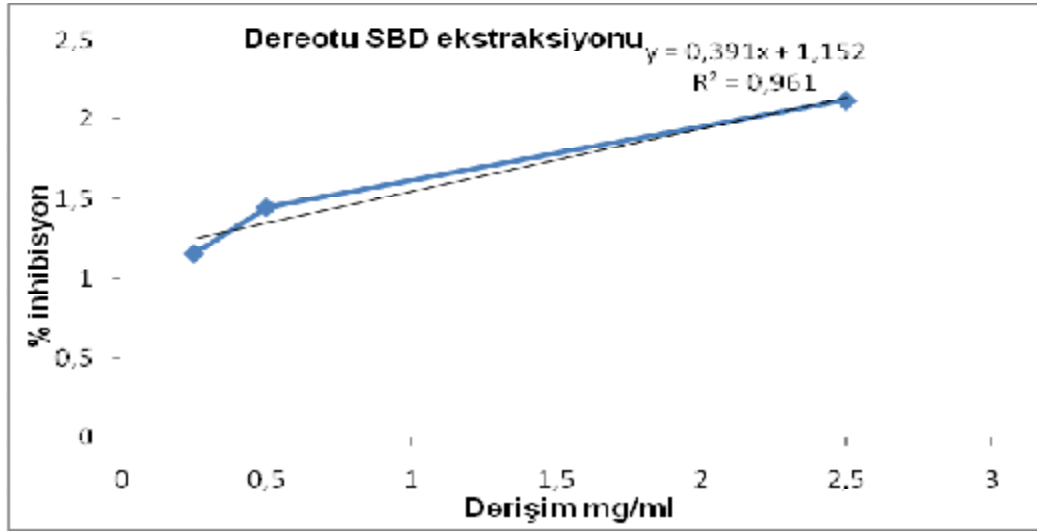
4.2. Bitkilerin Antioksidan Kapasiteleri

Dereotu, çörekotu, kişniş, yıllık pelinotu ve taşnanesinin GSK, USE skCO₂E, skEtOHE ile elde edilen ekstraktları ve SBD ve sbkH₂OE ile elde edilen uçucu yağların antioksidan aktiviteleri DPPH, CUPRAC ve FOLIN yöntemleri kullanılarak incelenmiştir.

4.2.1. Dereotundan Elde Edilen Uçucu Yağ ve Ekstraktların Antioksidan Aktiviteleri

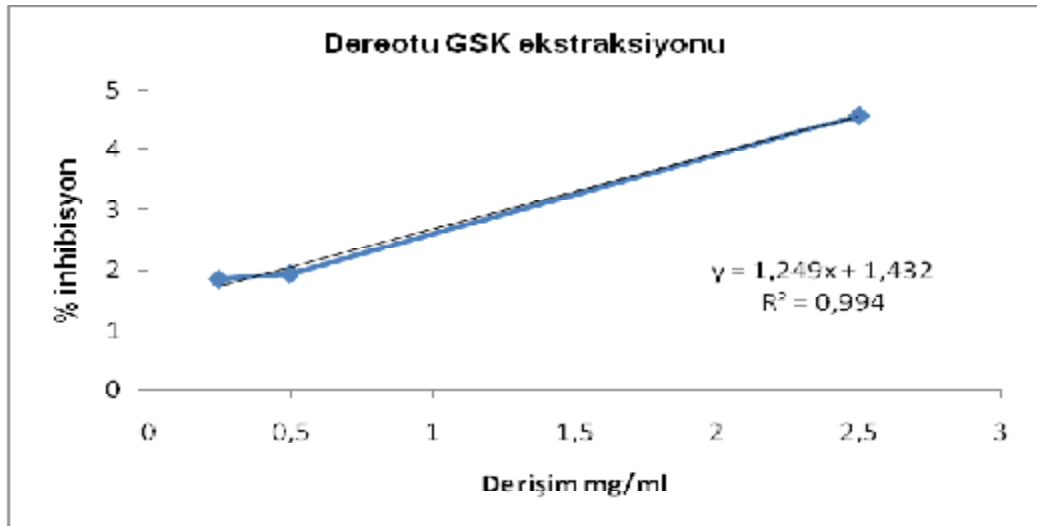
4.2.1.1. DPPH Yöntemi

Dereotunun altı farklı ekstraktının DPPH yöntemi ile radikal temizleme aktiviteleri belirlenmiştir. Sonuçlar DPPH çözeltisinin %50 sini inhibe eden (I₅₀) derişim olarak verilmiştir. Derişim ne kadar düşük ise radikal temizleme aktivitesi o kadar yüksek demektir. Buna göre SBD ekstraksiyonu ile elde edilen uçucu yağın, I₅₀ değeri 6940,6 mg bitki/ml olarak bulunmuştur (Şekil 4.6.). Sentetik antioksidan olan BHT ile karşılaştırıldığında BHT'nin I₅₀ değeri 1,55 mg BHT/ml'dir. Diğer yöntemlerle elde edilen dereotu ekstraktlarının radikal temizleme aktivitesi SBD ile hazırlanan uçucu yağın radikal temizleme aktivitesinden yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 4.8.).



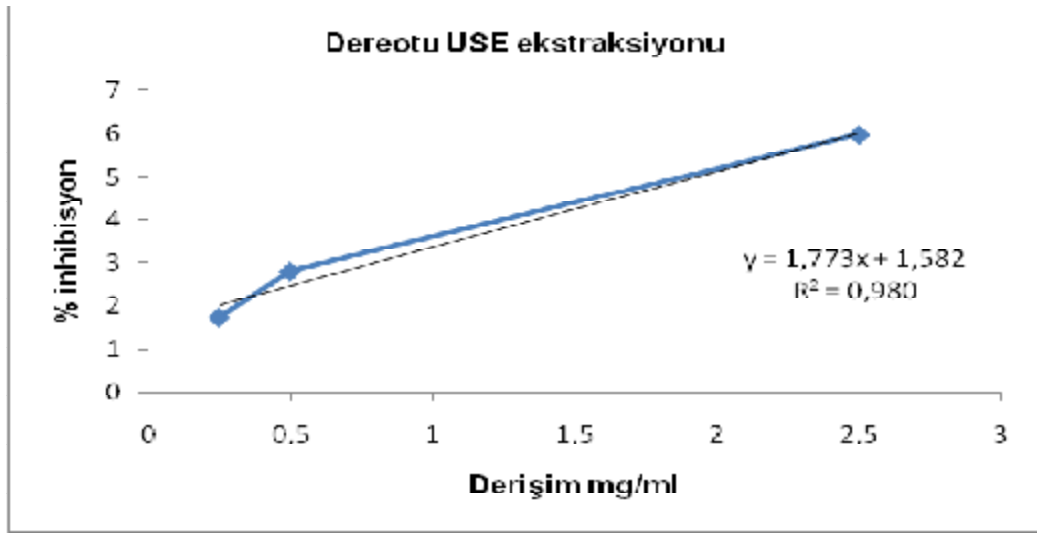
Şekil 4.6. Dereotunun SBD ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim-%inhibisyon grafiği

Dereotunun geri soğutucu altında çözücü ile kaynatma (GSK) sonucu elde edilen uçucu yağın DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesi ölçüldüğünde I_{50} değeri 777,8 mg bitki/ml olarak bulunmuştur (Şekil 4.7.). GSK ile elde edilen ekstrakt SBD ile elde edilenlerden I_{50} açısından daha yüksek antioksidan aktivite göstermektedir (Çizelge 4.8.).



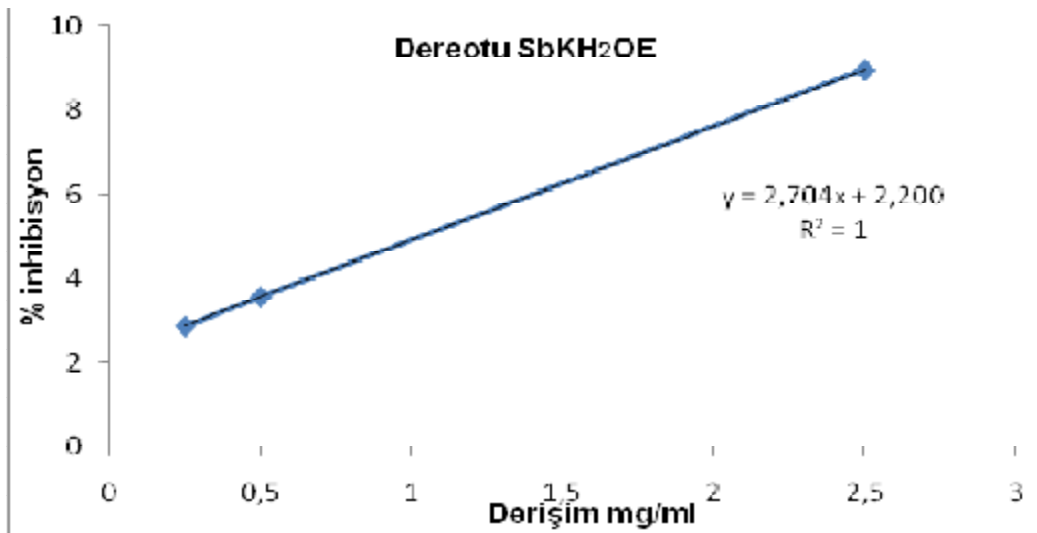
Şekil 4.7. Dereotunun GSK ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim-%inhibisyon grafiği

Ultrasonik banyoda ekstraksiyonu (USE) ile elde edilen dereotu ekstraktından DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesi ölçüldüğünde (Şekil 4.8.) I_{50} değeri 2100,8 mg bitki/ml olarak bulunmuştur (Çizelge 4.8.).



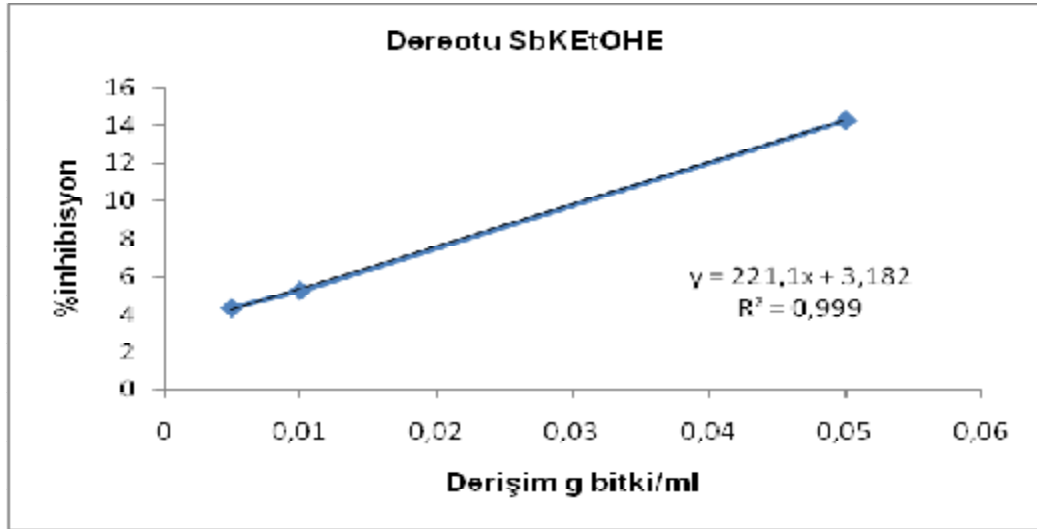
Şekil 4.8. Dereotunun USE ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim-%inhibisyon grafiği

Sub kritik su ekstraksiyonu (sbkH₂OE) sonucu elde edilen dereotu ekstraktının I_{50} değeri 1178,7 mg bitki/ml olarak bulunmuştur (Şekil 4.9.).



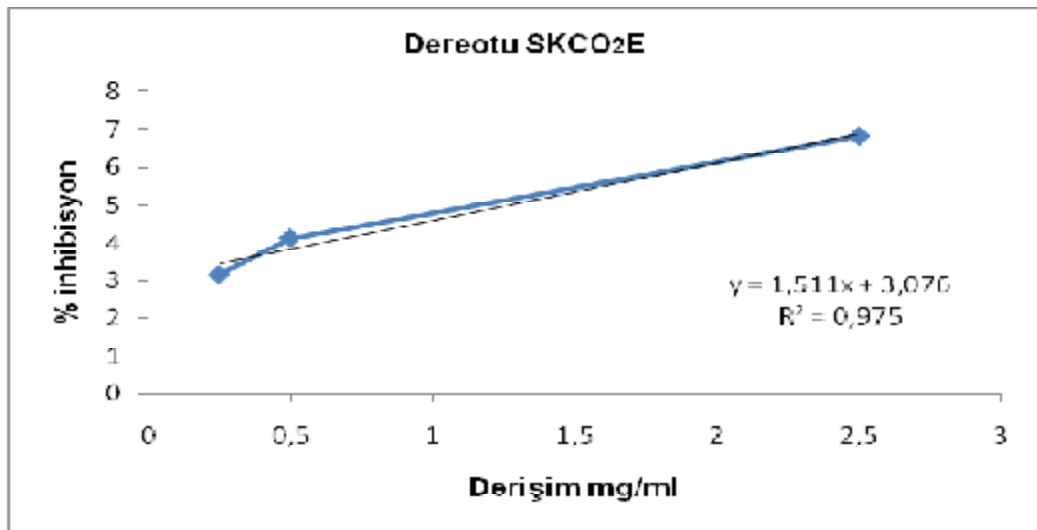
Şekil 4.9. Dereotunun sbkH₂OE yöntemi ile elde edilen ekstraktın Derişim-%inhibisyon grafiği

Dereotunun sub kritik etil alkol ekstraksiyonu (sbkEtOHE) sonucu elde edilen ekstraktın DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesi şekil 4.10.'da verilen grafikten 212 mg bitki/ml olarak bulunmuştur.



Şekil 4.10. Dereotunun sbkEtOHE ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim-%inhibisyon grafiği

Dereotunun süper kritik CO₂ ekstraksiyonu (skCO₂E) sonucu elde edilen ekstraktın I₅₀ değeri 1411,4 mg bitki/ml'dir (Şekil 4.11.).



Şekil 4.11. Dereotunun skCO₂E ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim-%inhibisyon grafiği

Çizelge 4.8. Dereotunun altı farklı yöntemle elde edilen ekstraktlarının ve sentetik antioksidan BHT'nin DPPH yöntemi ile I₅₀ değerleri

Yöntem	I ₅₀ mg bitki/ml
sbkH ₂ O	1178,7
skCO ₂ E	1411,4
sbkEtOHE	212,0
SBD	6940,6
GSK	777,8
USE	2100,8
BHT	1,55mg /ml

Dereotundan çeşitli yöntemlerle elde edilen ekstraktların radikal temizleme aktivitesine göre etkinliklerine bakıldığında DPPH yöntemine göre en iyi yöntemin sbkEtOHE en az etkin yöntemin ise SBD olduğu Çizelge 4.7.'den anlaşılmaktadır. Buna göre yöntemlerin etkinliklerinin sırası sbkEtOHE> GSK> sbkH₂O> skCO₂E> USE>SBD şeklinde değişmektedir.

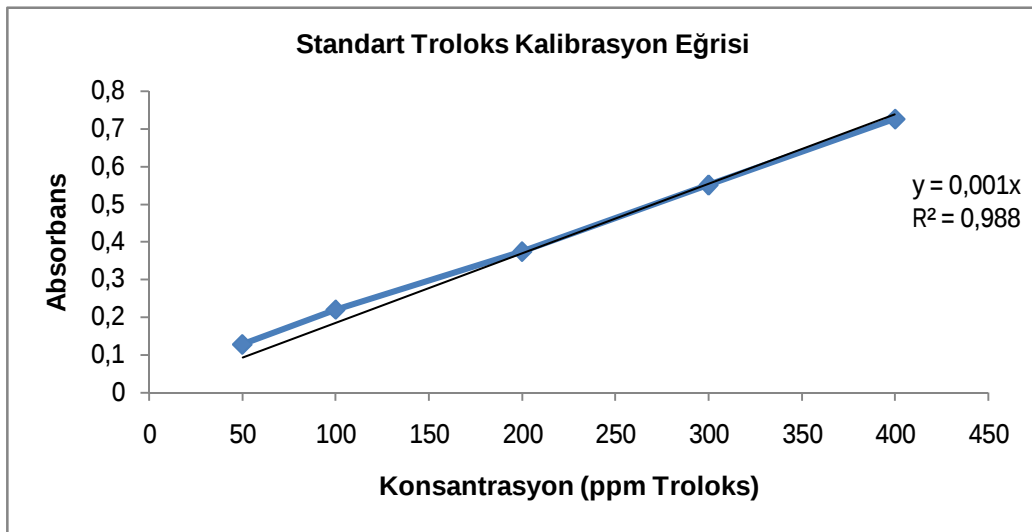
4.2.1.2. CUPRAC Yöntemi

Dereotunun altı farklı ekstraktının CUPRAC yöntemi ile toplam antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Sonuçlar Şekil 4.12. de verilen kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak hesaplanmıştır. Ekstraktların antioksidan kapasitesi troloks eşdeğeri cinsinden belirlenmiştir. Dereotu için CUPRAC yöntemine göre antioksidan aktiviteleri Çizelge 4.9.'de verilmiştir. Dereotu ekstraktlarının CUPRAC yöntemine göre antioksidan aktivitelerini yöntemlere göre sıralayacak olursak, sbkEtOHE>GSK>skCO₂E≥USE>sbkH₂O>SBD'dir. CUPRAC yöntemi ile belirlenen toplam antioksidan kapasitelerine göre sbkEtOHE yöntemi ile elde edilen ekstraktın diğer ekstraktlardan daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Antioksidan aktivite ölçümleri için kullanılan iki yöntem (DPPH ve CUPRAC), elde edilen ekstraktlar arasında sadece sbkH₂O için benzer sonuçlar vermezken diğer ekstraktlar için uyum gözlenmiştir.

Çizelge 4.9. Dereotu ekstraktlarının CUPRAC yöntemi ile toplam antioksidan aktiviteleri

Yöntem	mg troloks/g bitki
sbkH ₂ OE	1,0
skCO ₂ E	1,4
sbkEtOHE	6,5
SBD	0,4
GSK	2,7
USE	1,4
BHT	1270,40 mg TR/g BHT

Yıldız (2007), dereotunun CUPRAC yöntemiyle antioksidan aktivitesini belirlemiştir. %70 metanollü ekstratın toplam antioksidan kapasite değerini 25,78mg troloks/g bitki bulmuştur(Yıldız 2007). Bizim sonuçlarla karşılaştırdığımızda elde ettiğimiz tüm ekstraktların antioksidan aktivite değerinden daha yüksek olduğu gözlenmiştir.



Şekil 4.12. Dereotu ekstraktlarının CUPRAC yöntemiyle toplam antioksidan aktivitesinin belirlenmesi için standart troloks kalibrasyon eğrisi

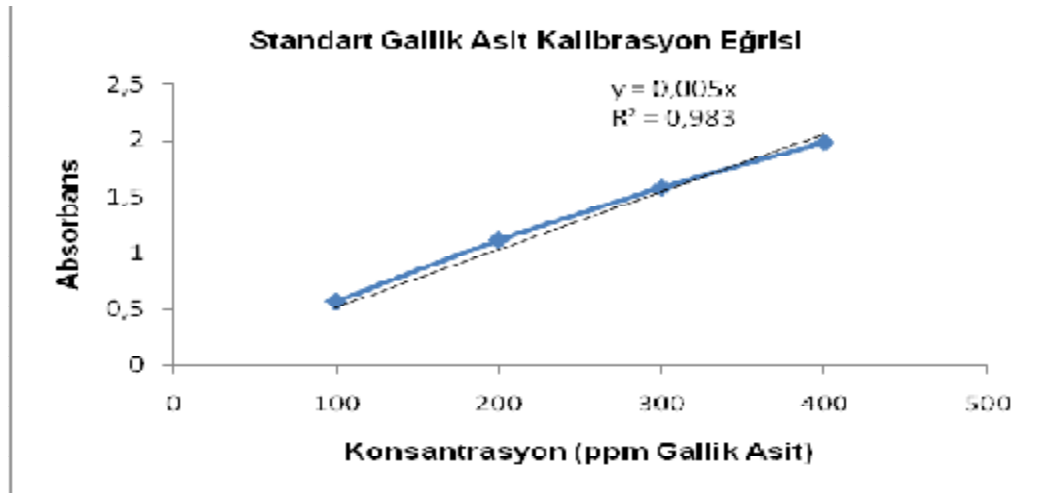
4.2.1.3. Folin Cicalteu Yöntemi (FOLIN)

Folin Cicalteu yöntemi ile dereotu ekstraktlarının toplam fenol içerikleri belirlenmiştir. Sonuçlar Şekil 4.13.'de verilen kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak hesaplanmıştır. Toplam fenol içerikleri gallik asit eşdeğeri olarak ifade edilmiştir.

Elde edilen ekstraktların fenol içerikleri Çizelge 4.10. da gösterilmiştir. Toplam fenol miktarları gram bitkide 0,1 mg GA ile 1,7 mg GA arasında değişmektedir. Çizelge 4.9. dan da görüleceği gibi sbkEtOHE yöntemi ile elde edilen ekstraktdaki fenolik içeriğin diğer yöntemlerden daha yüksek olduğu görülmektedir. Sonuçlar, CUPRAC yöntemi ve DPPH yöntemiyle elde edilen sonuçlarla yaklaşık olarak benzerdir.

Çizelge 4.10. Dereotu ekstraktlarının Folin Cicalteu yöntemi ile toplam fenol içeriklerinin belirlenmesi

Yöntem	mg GA/g bitki
sbkH ₂ OE	0,2
skCO ₂ E	0,2
sbkEtOHE	1,7
SBD	0,1
GSK	0,4
USE	0,3



Şekil 4.13. Dereotu ekstraktlarının toplam fenol içeriklerinin belirlenmesi için standart gallik asit kalibrasyon eğrisi

Literatürdeki bir çalışmada dereotunun metanol ekstraktının toplam fenol içeriği 12,5 mg gallik asit/g kuru örnek olarak belirlemişlerdir (Proestos ve ark., 2005). Bu sonucun, bizim çalışmamızdaki ekstraktların fenol içeriğinden yüksek bir değerde olduğu görülmektedir (Çizelge 4.10).

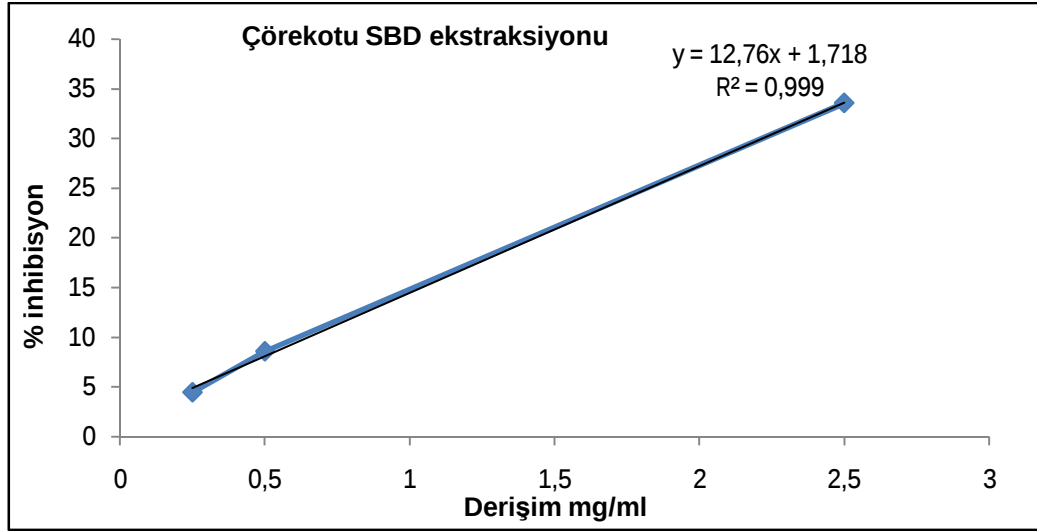
Sonuç olarak dereotundan elde edilen ekstraktların DPPH, CUPRAC ve FOLIN yöntemleri ile toplam antioksidan kapasiteleri incelenmiştir. Yapılan analiz sonuçlarında, sbkEtOHE, yöntemi ile elde edilen ekstraktın yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu belirlenmiştir. Antioksidan aktivite değerleri DPPH, CUPRAC ve FOLIN yöntemlerinde benzer şekilde değişmekteyken, yöntemler arasında çok az bir sapmanın olduğu gözlenmiştir. Bu sapma DPPH bileşiğinin sterik etkisi nedeniyle olabileceği gibi (Apak ve ark., 2007) düşünülebilir.

Dereotundan uçucu yağların alınmasına sub-kritik akışkan olarak toksik olmayan etil alkolün kullanılması, ekstraksiyon süresinin 50 dakika gibi kısa bir süre olması ve ekstraktın yüksek antioksidan kapasiteye sahip olması nedeniyle sbkEtOHE yönteminin kullanılmasının uygun olduğu görülmüştür. Genel olarak dereotunun antioksidan kapasitesinin sentetik BHT'ye göre oldukça düşük olduğu, belirlenmiştir.

4.2.2. Çörekotundan Elde Edilen Uçucu Yağ ve Ekstraktların Antioksidan Aktiviteleri

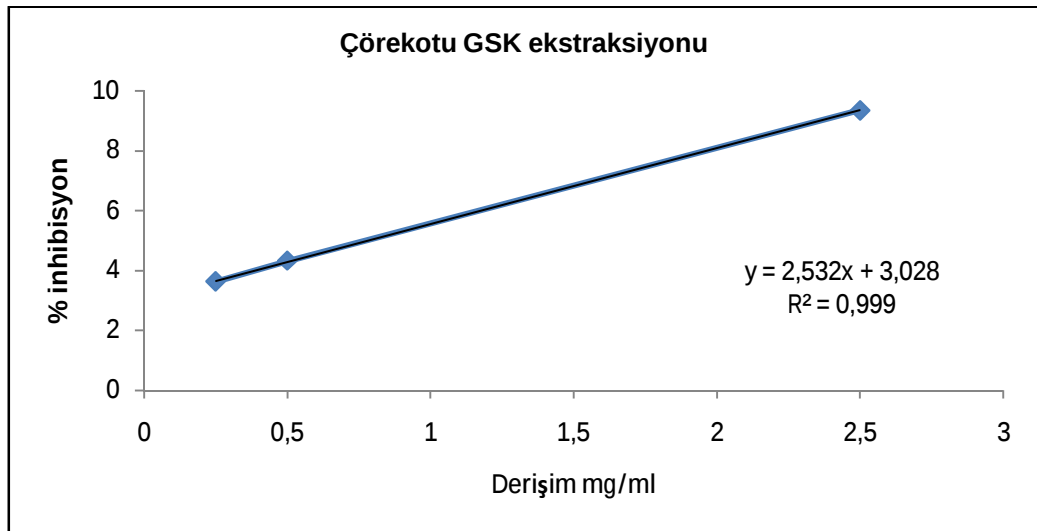
4.2.2.1. DPPH Yöntemi

Çörekotunun altı farklı ekstraktının DPPH yöntemi ile radikal temizleme aktiviteleri belirlenmiştir. Sonuçlar DPPH çözeltisinin %50 sini inhibe eden (I_{50}) derişim olarak verilmiştir. Derişim ne kadar düşük ise radikal temizleme aktivitesi o kadar yüksek demektir. Buna göre çörekotunun SBD ile ekstraksiyonu ile elde edilen uçucu yağın, I_{50} değeri 756,0 mg bitki/ml'dir (Şekil 4.14). DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesi ölçülmüştür. Sentetik antioksidan olan BHT ile karşılaştırıldığında BHT'nin I_{50} değeri 1,55 mg BHT/ml'dir.



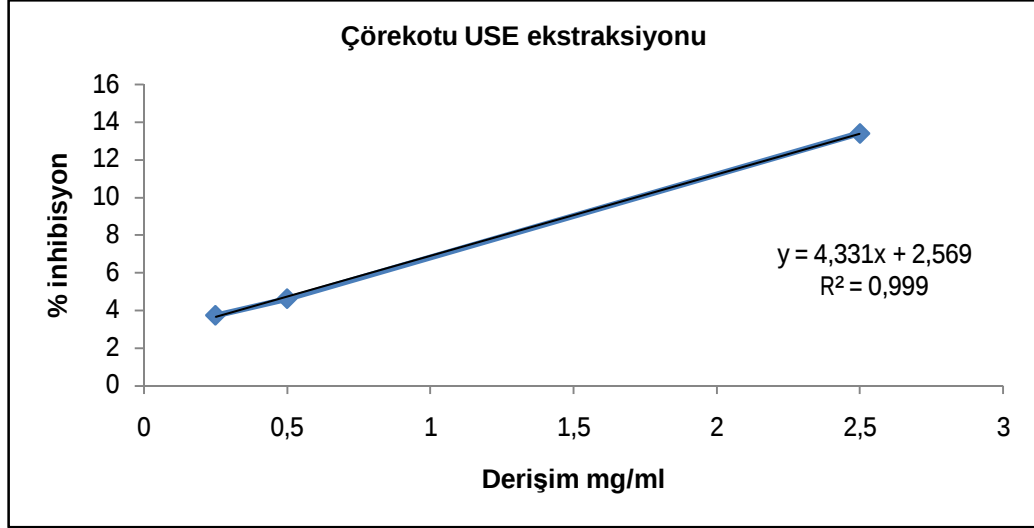
Şekil 4.14. Çörekotunun SBD ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim-%inhibisyon grafiği

Çörekotunun geri soğutucu altında çözücü ile kaynatma (GSK) sonucu elde edilen ekstraktın DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesi ölçüldüğünde I_{50} değeri 193,0 mg bitki/ml olarak bulunmuştur (Şekil 4.15).



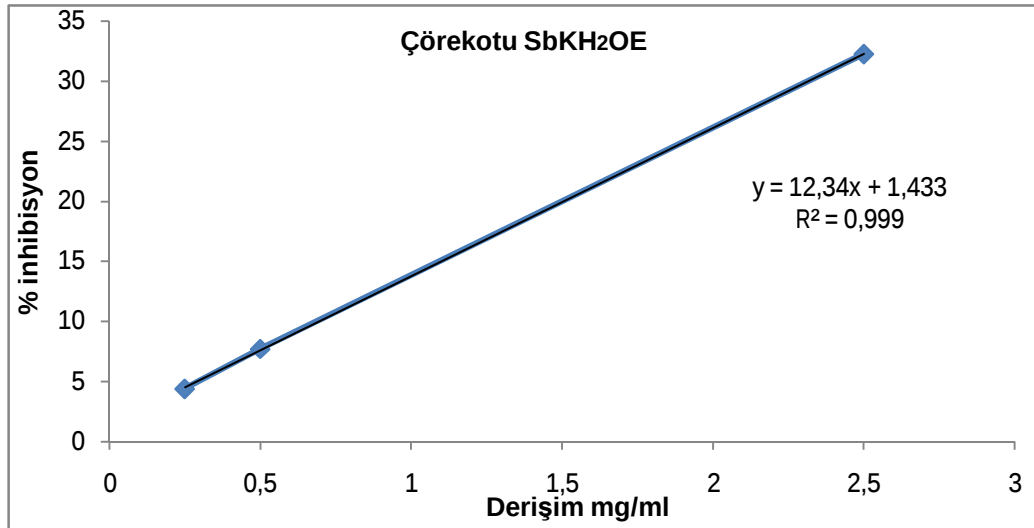
Şekil 4.15. Çörekotunun GSK ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim-%inhibisyon grafiği

Çörekotunun ultrasonik banyoda ekstraksiyonu (USE) sonucu elde edilen ekstraktın DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesi ölçüldüğünde I_{50} değeri 199,1 mg bitki/ml olarak bulunmuştur (Şekil 4.16).



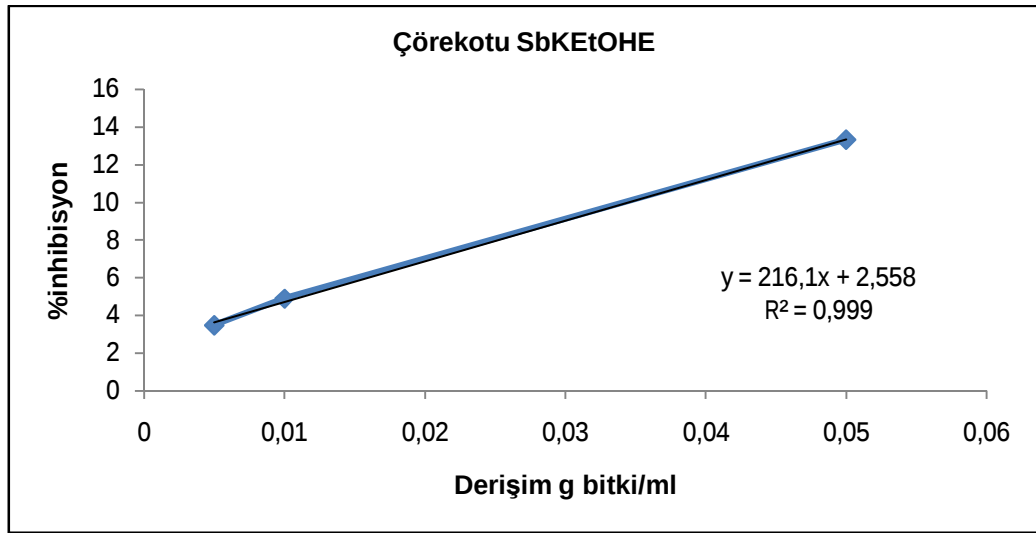
Şekil 4.16. Çörekotunun USE ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim-%inhibisyon grafiği

Çörekotunun sub kritik su ekstraksiyonu (sbkH₂OE) sonucu elde edilen ekstraktın I_{50} değeri 123 mg bitki/ml olarak ölçülmüştür (Şekil 4.17.).



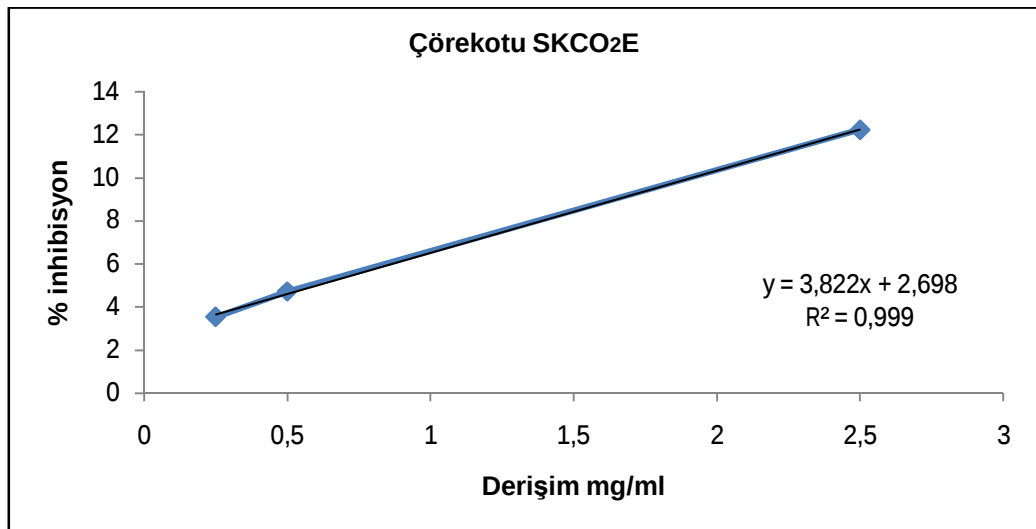
Şekil 4.17. Çörekotunun sbkH₂OE yöntemi ile elde edilen ekstraktın Derişim-%inhibisyon grafiği

Çörekotunun sub kritik etil alkol ekstraksiyonu (sbkEtOHE) sonucu elde edilen ekstraktın DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesi, Şekil 4.18.'de verilen grafikten, I_{50} değeri 219,54 mg bitki/ml olarak bulunmuştur.



Şekil 4.18. Çörekotunun sbkEtOHE ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim-% inhibisyon grafiği

Çörekotunun süper kritik CO_2 ekstraksiyonu(sk CO_2 E) sonucu elde edilen ekstraktın DPPH yöntemi ile antioksidan aktivite ölçümü, Şekil 4.19.'da verilen grafikten, I_{50} değeri 242,7 mg bitki/ml olarak bulunmuştur.



Şekil 4.19. Çörekotunun sk CO_2 E ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim-%inhibisyon grafiği

Çizelge 4.11. Çörekotunun altı farklı yöntemle elde edilen ekstraktlarının ve sentetik antioksidan BHT'nin DPPH yöntemi ile I₅₀ değerleri

Yöntem	I ₅₀ mg bitki/ml
sbkH ₂ OE	123,1
skCO ₂ E	242,7
sbkEtOHE	219,5
SBD	756,0
GSK	193,0
USE	199,1
BHT	1,55 mg /ml

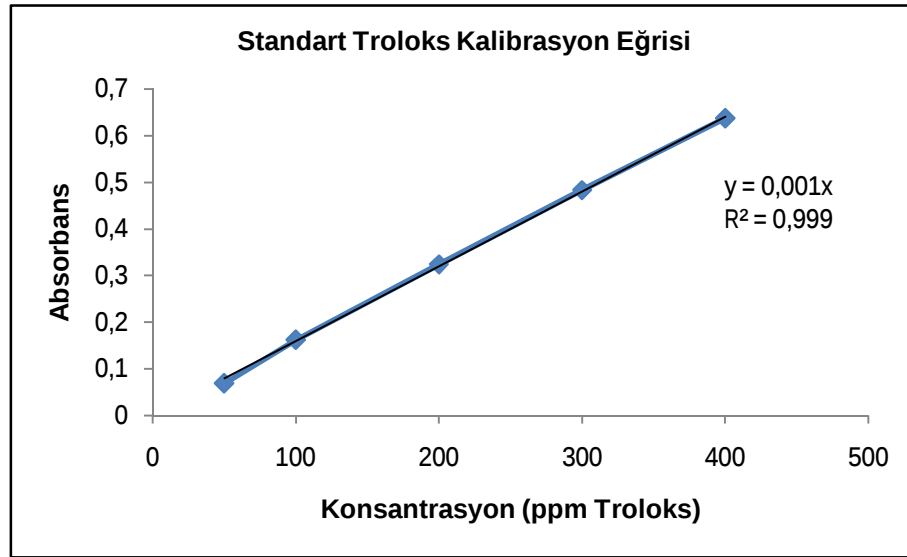
Çörekotundan çeşitli yöntemlerle elde edilen ekstraktların radikal temizleme aktivitelerine bakıldığında DPPH yöntemine göre en iyi yöntemin sbkH₂OE en az etkin yöntemin ise SBD yöntemi olduğu Çizelge 4.11.'den anlaşılmaktadır. Genel olarak çörekotu ekstraktları dereotu ekstraktlarına göre daha yüksek radikal temizleme özelliğine sahip olduğu belirlenmiştir. Buna göre çörekotu ekstraktlarının elde edildiği yöntemlerin radikal temizleme etkiliklerinin sırası sbkH₂OE> GSK > USE>sbkEtOHE> skCO₂E>SBD şeklinde değişmektedir.

4.2.2.2. CUPRAC Yöntemi

Çörekotunun altı farklı ekstraktının CUPRAC yöntemi ile toplam antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Sonuçlar Şekil 4.20. de verilen kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak hesaplanmıştır. Ekstraktların antioksidan kapasitesi troloks eşdeğeri cinsinden belirlenmiştir. Çörekotu için CUPRAC yöntemine göre antioksidan aktiviteleri Çizelge 4.12.'de verilmiştir. Çörekotu için CUPRAC yöntemine göre antioksidan aktivitelerini yöntemlere göre sıralayacak olursak, sbkEtOHE >skCO₂E> GSK > USE > sbkH₂OE > SBD şeklinde sıralanmaktadır. CUPRAC yöntemine göre, sbkEtOHE yöntemi ile elde edilen ekstraktlar en yüksek antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Sonuçlar DPPH yöntemiyle karşılaştırıldığında, radikal temizleme aktivitesinde etkin olan yöntemler toplam antioksidan aktivitede aynı etkiyi gösteremedikleri görülmüştür.

Çizelge 4.12. Çörekotu ekstraktlarının CUPRAC yöntemi ile toplam antioksidan aktiviteleri

Yöntem	mg troloks/g bitki
sbkH ₂ OE	2,6
skCO ₂ E	15,1
sbkEtOHE	16,6
SBD	0,9
GSK	10,9
USE	10,6
BHT	1270,40mg TR/g BHT



Şekil 4.20. Çörekotu ekstraktlarının CUPRAC yöntemiyle toplam antioksidan değerlerini belirlenmesi için standart troloks kalibrasyon eğrisi

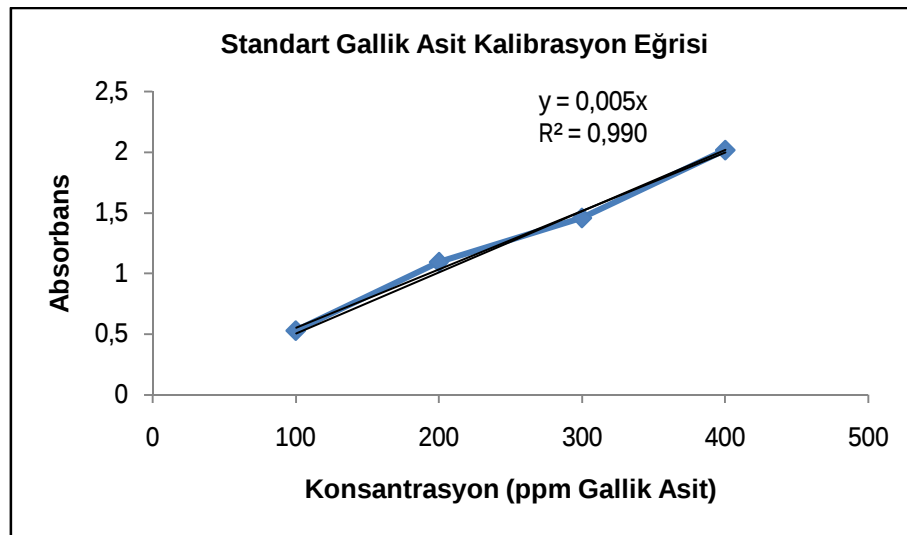
4.2.2.3. Folin Cicalteu Yöntemi (FOLIN)

Çörekotunun altı farklı ekstraktının Folin Cicalteu yöntemi ile toplam fenol içerikleri belirlenmiştir. Sonuçlar Şekil 4.21. de verilen kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak hesaplanmıştır. Toplam fenol içerikleri gallik asit eşdeğeri olarak ifade edilmiştir. Elde edilen ekstraktların fenol içerikleri Çizelge 4.13.'de gösterilmiştir. Çizelge 4.13. den de görüleceği gibi sbkEtOHE ve skCO₂E yöntemleri ile elde edilen ekstraktların fenolik içeriği diğer yöntemlerden daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Sonuçlar, CUPRAC yöntemi ile elde edilen sonuçlarla benzerlik göstermekteyken, DPPH yöntemiyle elde edilen sonuçlarla farklılık göstermektedir.

Çizelge 4.13. Çörekotu ekstraktlarının Folin Cicalteu yöntemi ile toplam fenol içeriklerinin belirlenmesi

Yöntem	mg GA/g bitki
SbKH ₂ OE	0,5
SKCO ₂ E	1,6
SbKEtOHE	1,9
SBD	0,2
GSK	1,0
USE	1,0



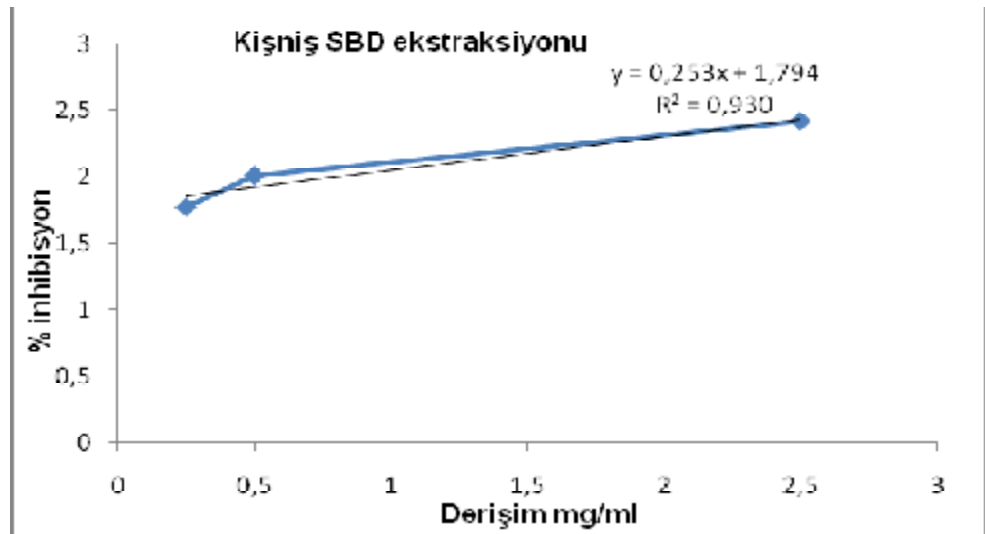
Şekil 4.21. Çörekotu ekstraktlarının toplam fenol içeriklerinin belirlenmesi için standart gallik asit kalibrasyon eğrisi

Genel olarak sbKEtOHE yöntemi ile elde edilen ekstrakt antioksidan kapasitesi yönünden diğer yöntemlere göre daha etkin olduğu gözlenmiştir. Ayrıca skCO₂E yöntemi ile elde edilen ekstraktın da yüksek fenol içeriğine sahip olması ve yüksek antioksidan aktivite göstermesi ile uygulanabilir bir yöntem olduğunu göstermiştir.

4.2.3. Kişnişten Elde Edilen Uçucu Yağ ve Ekstraktların Antioksidan Aktiviteleri

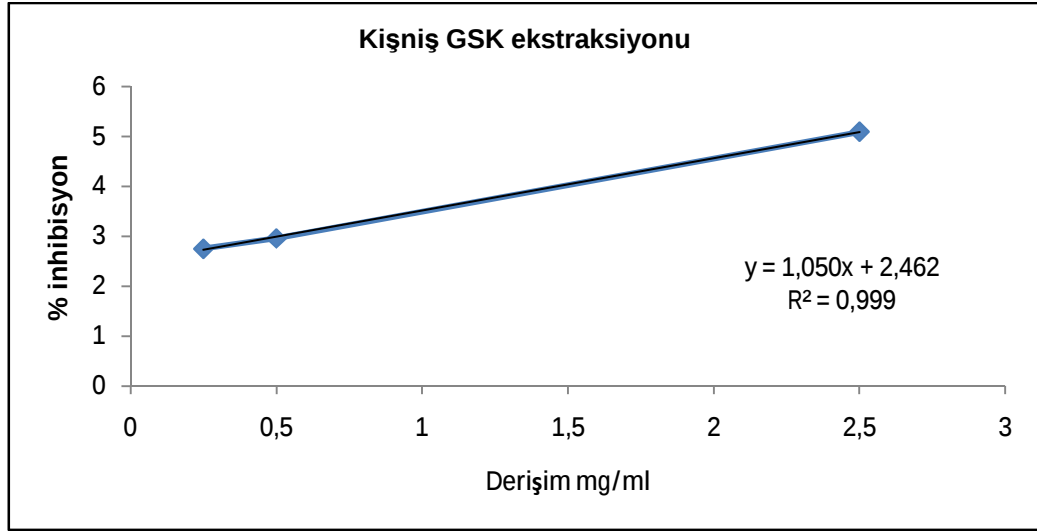
4.2.3.1. DPPH Yöntemi

Kişnişin altı farklı ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktlarının DPPH yöntemi ile radikal temizleme aktiviteleri belirlenmiştir. Sonuçlar DPPH çözeltisinin % 50 sini inhibe eden (I_{50}) derişim olarak verilmiştir. Derişim ne kadar düşükse radikal temizleme aktivitesi o kadar yüksek olacağı daha öncede belirtilmiştir. Buna göre SBD ekstraksiyonu ile elde edilen uçucu yağın, I_{50} değeri 38108,0 mg bitki/ml olarak bulunmuştur (Şekil 4.22). Sentetik antioksidan olan BHT ile kıyaslandığında BHT'nin I_{50} değeri 1,55 mg BHT/ml'dir.



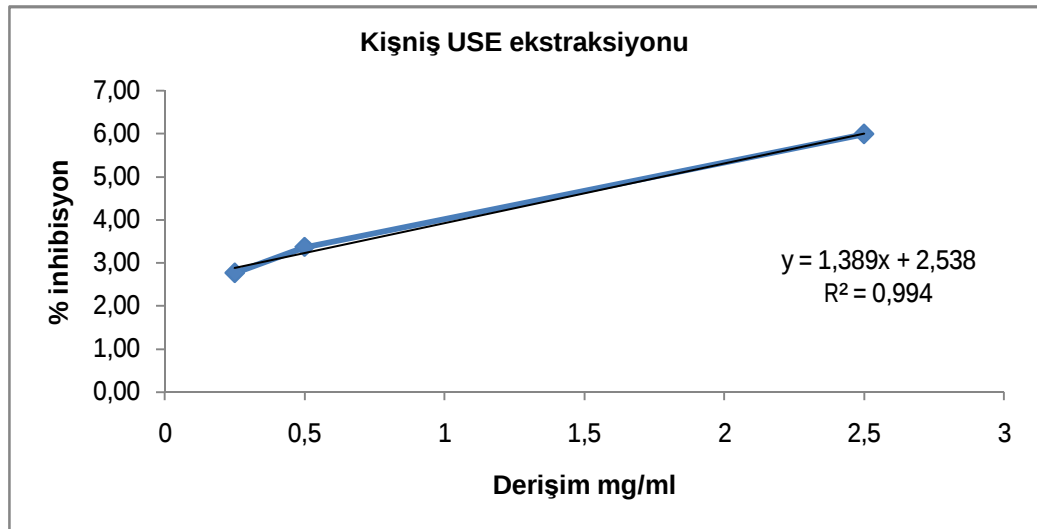
Şekil 4.22. Kişnişin SBD ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim-%inhibisyon grafiği

Kişnişin geri soğutucu altında çözücü ile kaynatma (GSK) sonucu elde edilen ekstraktın DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesi ölçüldüğünde, I_{50} değeri 1257,5 mg bitki/ml olarak bulunmuştur (Şekil 4.23). GSK ile elde edilen ekstrakt SBD ile elde edilenlerden I_{50} açısından daha yüksek antioksidan aktivite göstermektedir.



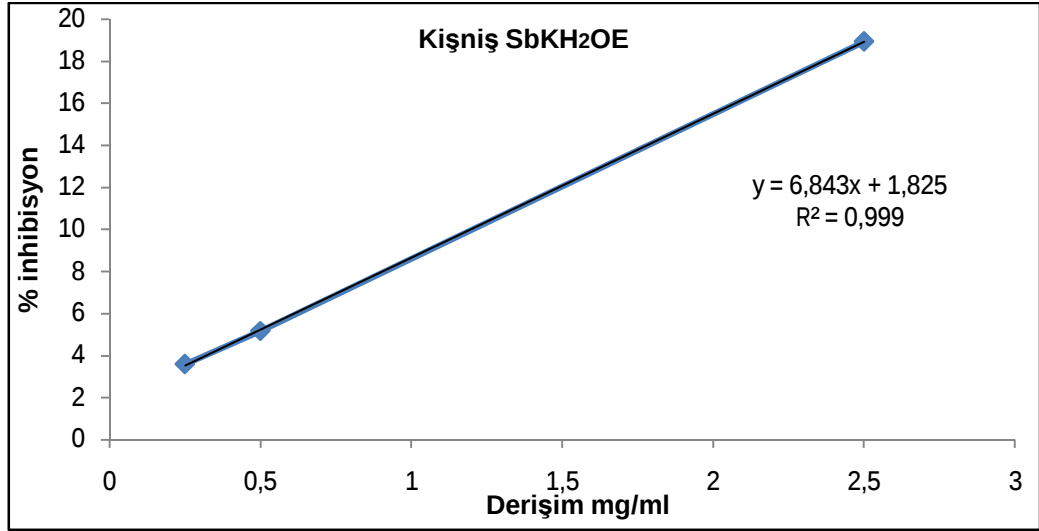
Şekil 4.23. Kişnişin GSK ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim-% inhibisyon grafiği

Ultrasonik banyoda ekstraksiyonu (USE) ile elde edilen kişniş ekstraktından DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesi ölçüldüğünde (Şekil 4.24) I_{50} değeri 1485,7 mg bitki/ml olarak bulunmuştur.



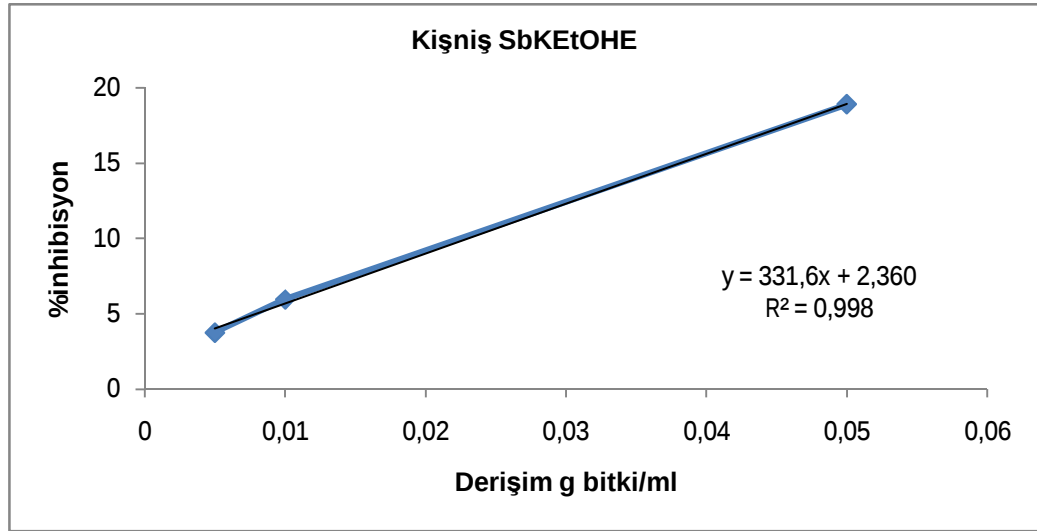
Şekil 4.24. Kişnişin USE ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim-%inhibisyon grafiği

Kişnişin sub kritik su ekstraksiyonu (sbkH₂OE) sonucu elde edilen ekstraktın DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesi ölçülmüştür. Şekil 4.25’de verilen grafikten, I₅₀ değeri 1768,0 mg bitki/ml olarak bulunmuştur.



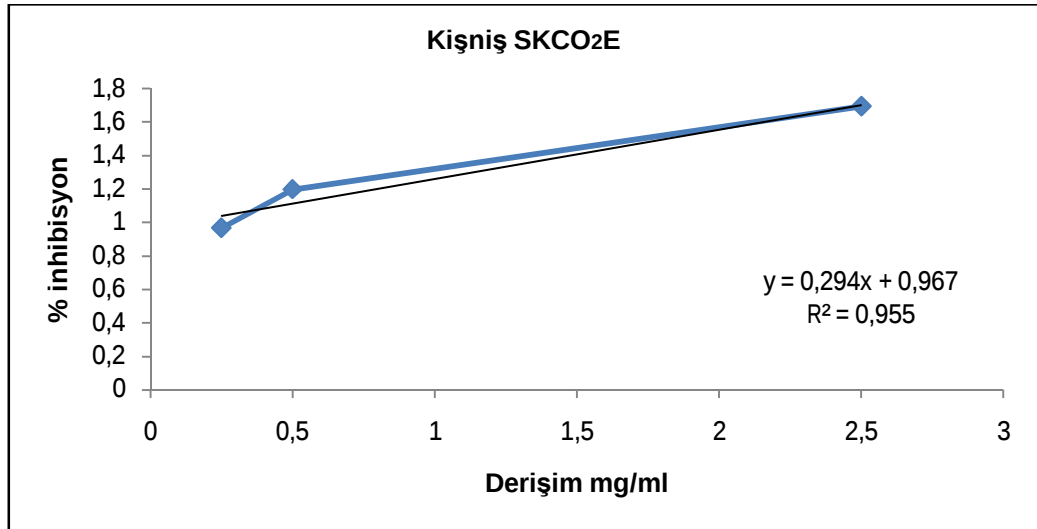
Şekil 4.25. Kişnişin sbkH₂OE yöntemi ile elde edilen ekstraktın Derişim-% inhibisyon grafiği

Kişnişin sub kritik etil alkol ekstraksiyonu (sbkEtOHE) sonucu elde edilen ekstraktın DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesi Şekil 4.26’de verilen grafikten, I₅₀ değeri 143,7 mg bitki/ml olarak bulunmuştur.



Şekil 4.26. Kişnişin sbkEtOHE ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim-% inhibisyon grafiğı

Kişnişin süper kritik CO₂ ekstraksiyonu (skCO₂E) sonucu elde edilen ekstraktın DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesi ölçüldüğünde I₅₀ değeri 12829,2 mg bitki/ml olarak bulunmuştur (Şekil 4.27.).



Şekil 4.27. Kişnişin skCO₂E ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim-% inhibisyon grafiğı

Çizelge 4.14. Kışnişin altı farklı yöntemle elde edilen ekstraktlarının ve sentetik antioksidan BHT'nin DPPH yöntemi ile I_{50} değerleri

Yöntem	I_{50} mg bitki/ml
sbkH ₂ OE	1768,0
skCO ₂ E	12829,2
sbkEtOHE	143,7
SBD	38108,0
GSK	1257,5
USE	1485,7
BHT	1,55 mg /ml

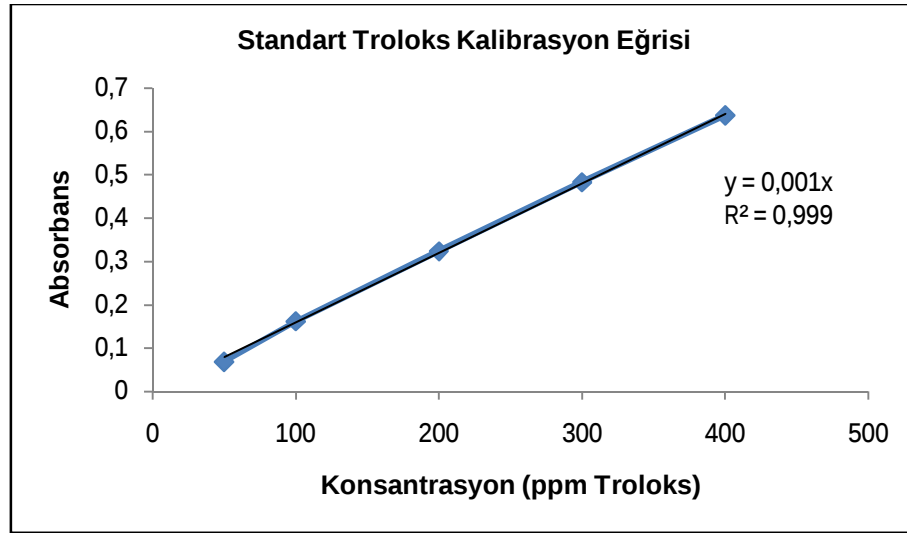
Kışnişten çeşitli yöntemlerle elde edilen ekstraktların radikal temizleme aktivitesine göre etkinlikleri incelendiğinde en iyi yöntemin sbkEtOHE olduğu en az etkin yöntemin ise SBD olduğu Çizelge 4.14.'den anlaşılmaktadır. Buna göre yöntemlerin etkinliklerinin sırası sbkEtOHE>GSK>USE>sbkH₂OE>skCO₂E>SBD şeklinde değişmektedir.

4.2.3.2. CUPRAC Yöntemi

Kışnişin altı farklı ekstraktının CUPRAC yöntemi ile toplam antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Sonuçlar Şekil 4.28. de verilen kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak hesaplanmıştır. Ekstraktların antioksidan kapasitesi troloks eşdeğeri cinsinden belirlenmiştir. Kışniş için CUPRAC yöntemine göre antioksidan aktiviteleri Çizelge 4.15.'de verilmiştir. Kışniş için CUPRAC yöntemine göre antioksidan aktivitelerini yöntemlere göre sıralayacak olursak, sbkEtOHE>USE>skCO₂E>GSK>sbkH₂OE>SBD'dir. Sonuçlar DPPH yöntemiyle karşılaştırıldığında, radikal temizleme aktivitesinde etkin olan yöntemler toplam antioksidan aktivitede aynı etkiyi gösteremedikleri görülmüştür. Kışniş ekstraktlarından en yüksek antioksidan kapasiteye sbkEtOHE yöntemiyle elde edilen ekstraktın sahip olduğu gözlenmiştir. En düşük antioksidan kapasite, SBD yöntemiyle elde edilen ekstraktta gözlenmiştir.

Çizelge 4.15. Kişniş ekstraktlarının CUPRAC yöntemi ile toplam antioksidan aktiviteleri

Yöntem	mg troloks/g bitki
sbkH ₂ OE	1,1
skCO ₂ E	2,8
sbkEtOHE	26,9
SBD	0,2
GSK	2,0
USE	3,1
BHT	1270,40 mg TR/g BHT



Şekil 4.28. Kişniş ekstraktlarının CUPRAC yöntemiyle toplam antioksidan değerlerini belirlenmesi için standart troloks kalibrasyon eğrisi

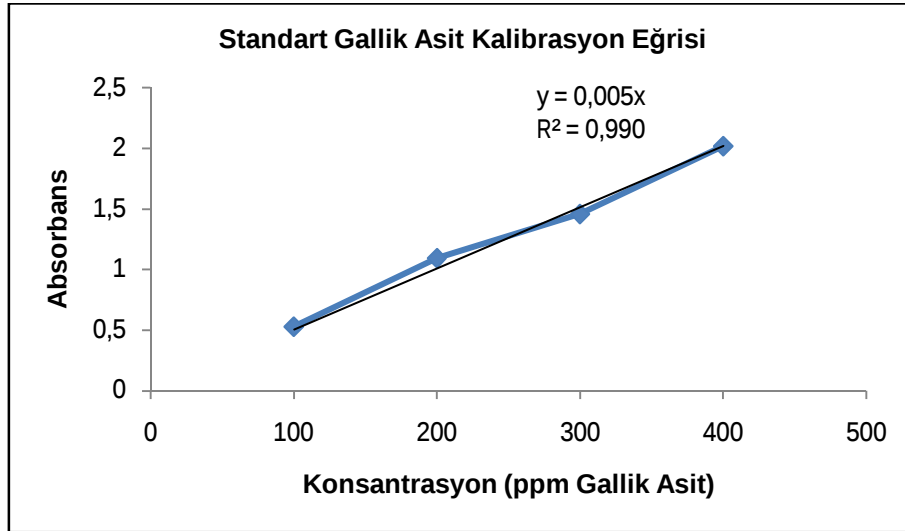
4.2.3.3. Folin Cicalteu Yöntemi (FOLIN)

Folin Cicalteu yöntemi ile kişniş ekstraktlarının toplam fenol içerikleri belirlenmiştir. Sonuçlar Şekil 4.29.'da verilen kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak hesaplanmıştır. Toplam fenol içerikleri gallik asit eşdeğeri olarak ifade edilmiştir. Elde edilen ekstraktların fenol içerikleri Çizelge 4.16.'da gösterilmiştir. Toplam fenolik içeriği en yüksek ekstrakt, sbkEtOHE yöntemiyle elde edilen ekstraktın

olduğu belirlenmiştir. Sonuçlar, CUPRAC yöntemi ile benzerlik gösterirken, DPPH yöntemiyle benzerlik göstermemektedir.

Çizelge 4.16. Kişniş ekstraktlarının Folin Cicalteu yöntemi ile toplam fenol içeriklerinin belirlenmesi

Yöntem	mg GA/g bitki
sbkH ₂ O	0,4
skCO ₂ E	0,3
sbkEtOHE	4,4
SBD	0,1
GSK	0,3
USE	0,6



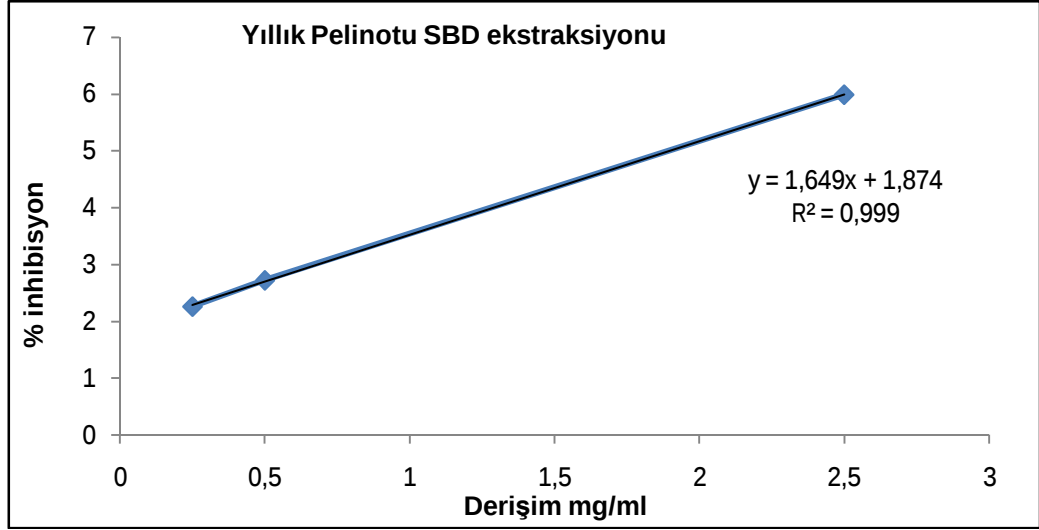
Şekil 4.29. Kişniş ekstraktlarının toplam fenol içeriklerinin belirlenmesi için standart gallik asit kalibrasyon eğrisi

4.2.4. Yıllık Pelinotundan Elde Edilen Uçucu Yağ ve Ekstraktların Antioksidan Aktiviteleri

4.2.4.1. DPPH Yöntemi

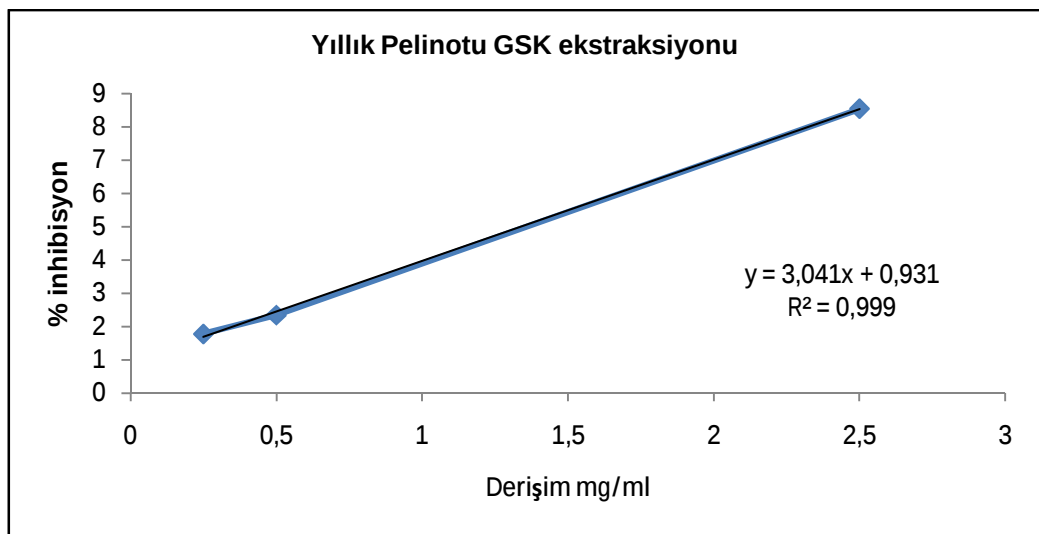
Yıllık Pelinotunun su buharı destilasyonu ile ekstraksiyonu sonucu elde edilen ekstraktın DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesi ölçülmüştür. SBD

ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın, Şekil 4.30'de verilen grafikten, I_{50} değeri 1167,2 mg bitki/ml olarak bulunmuştur.



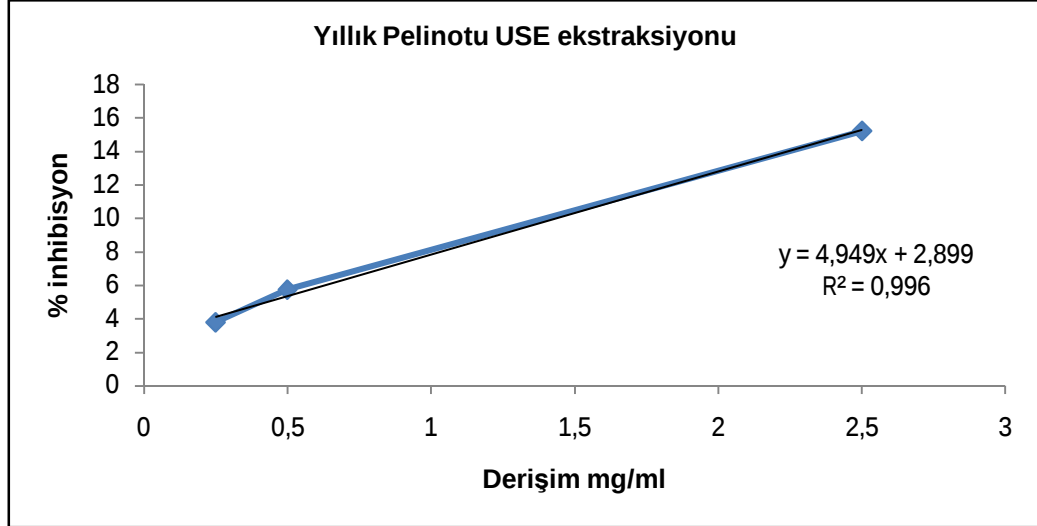
Şekil 4.30. Yıllık Pelinotunun SBD ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim-% inhibisyon grafiği

Yıllık Pelinotunun geri soğutucu altında çözücü ile kaynatma(GSK) sonucu elde edilen ekstraktın DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesi ölçüldüğünde, I_{50} değeri 227,3 mg bitki/ml olarak bulunmuştur (Şekil 4.31).



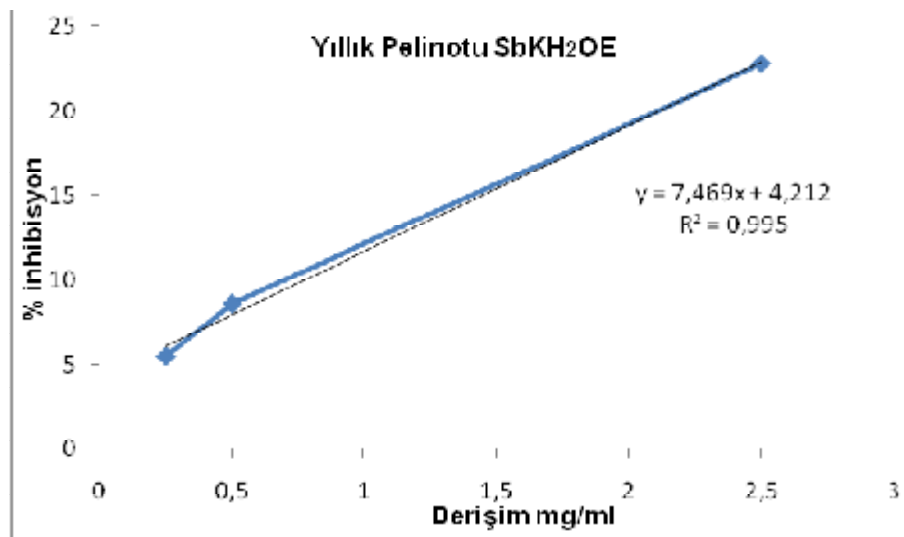
Şekil 4.31. Yıllık Pelinotunun GSK ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim-% inhibisyon grafiği

Yıllık Pelinotunun ultrasonik banyoda ekstraksiyonu(USE) sonucu elde edilen ekstraktın DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesi ölçüldüğünde (Şekil 4.32.) I_{50} değeri 138,0 mg bitki/ml olarak bulunmuştur.



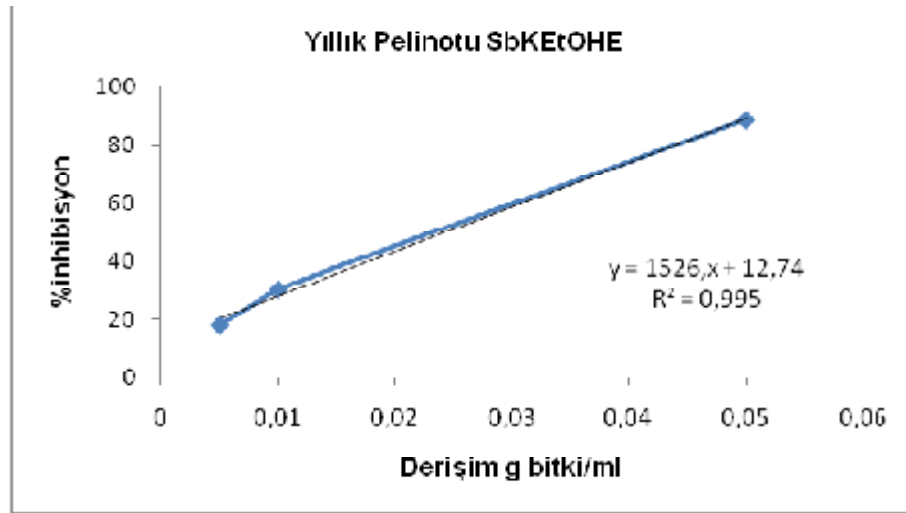
Şekil 4.32. Yıllık Pelinotunun USE ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim-% inhibisyon grafiği

Sub kritik su ekstraksiyonu (sbkH₂OE) sonucu elde edilen yıllık pelinotu ekstraktın I_{50} değeri 510,8 mg bitki/ml olarak bulunmuştur (Şekil 4.33.).



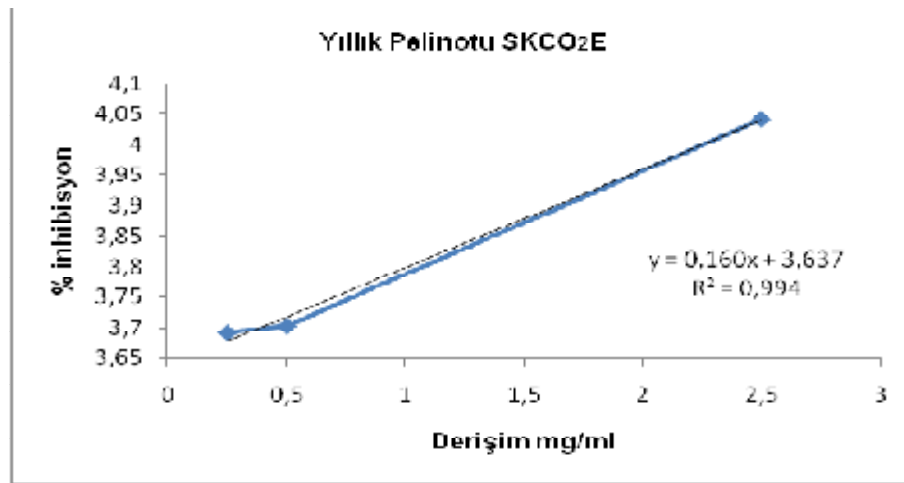
Şekil 4.33. Yıllık Pelinotunun sbkH₂OE yöntemi ile elde edilen ekstraktın Derişim-% inhibisyon grafiği

Yıllık Pelinotunun sub kritik etil alkol ekstraksiyonu (sbkEtOHE) sonucu elde edilen ekstraktın DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesi Şekil 4.34’de verilen grafikten, I_{50} değeri 24,4 mg bitki/ml olarak bulunmuştur.



Şekil 4.34 Yıllık Pelinotunun sbkEtOHE ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim-% inhibisyon grafiği

Yıllık Pelinotunun süper kritik CO_2 ekstraksiyonu (sk CO_2 E) sonucu elde edilen ekstraktın DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesi ölçülmüştür. Şekil 4.35.’de verilen grafikten, I_{50} değeri 4488,0 mg bitki/ml olarak bulunmuştur.



Şekil 4.35. Yıllık pelinotunun sk CO_2 E ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim-% inhibisyon grafiği

Çizelge 4.17. Yıllık Pelinotunun altı farklı yöntemle elde edilen ekstraktlarının ve sentetik antioksidan BHT'nin DPPH yöntemi ile I_{50} değerleri

Yöntem	I_{50} mg bitki/ml
sbkH ₂ OE	510,8
skCO ₂ E	4458,0
sbkEtOHE	24,4
SBD	1167,2
GSK	227,3
USE	138,0
BHT	1,55 mg BHT/ml

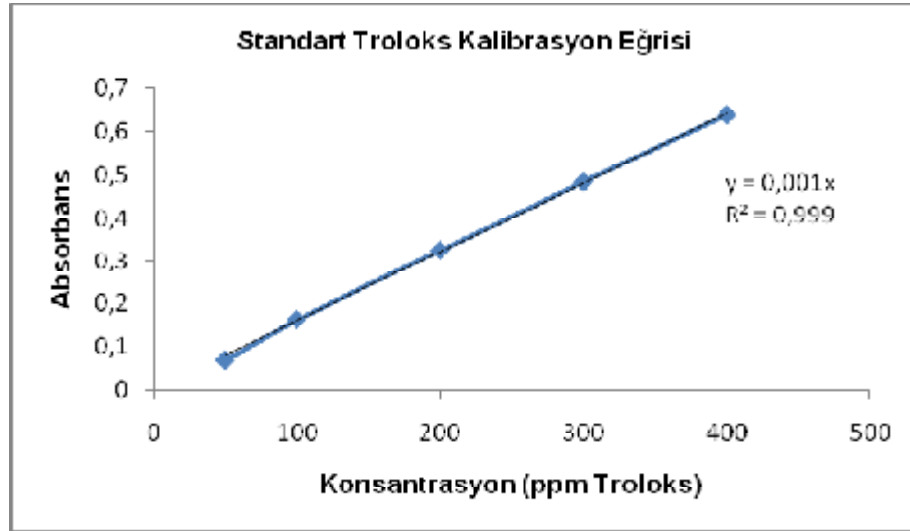
Yıllık Pelinotu için radikal temizleme aktivitesine göre yöntemleri sıralayacak olursak, sbkEtOHE>USE>GSK >sbkH₂OE >SBD>skCO₂E şeklinde sıralanmaktadır.

4.2.4.2. CUPRAC Yöntemi

Yıllık Pelinotunun altı farklı ekstraktlarının CUPRAC yöntemi ile toplam antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Sonuçlar Şekil 4.36 da verilen kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak hesaplanmıştır. Ekstraktların antioksidan kapasitesi troloks eşdeğeri cinsinden ifade edilmiştir. Yıllık Pelinotu için CUPRAC yöntemine göre antioksidan aktiviteleri Çizelge 4.18.'de verilmiştir. Yıllık Pelinotu için CUPRAC yöntemine göre antioksidan aktivitelerini yöntemlere göre sıralayacak olursak sbkEtOHE>USE>GSK>skCO₂E>sbkH₂OE>SBD şeklinde sıralanmaktadır. Sonuçlar DPPH yöntemiyle karşılaştırıldığında, benzer sonuçlar elde edildiği saptanmıştır.

Çizelge 4.18. Yıllık Pelinotu ekstraktlarının CUPRAC yöntemi ile toplam antioksidan aktiviteleri

Yöntem	mg troloks/g bitki
sbkH ₂ OE	2,3
skCO ₂ E	3,2
sbkEtOHE	41,4
SBD	1,0
GSK	3,8
USE	7,9
BHT	1270,40 mg TR/g BHT



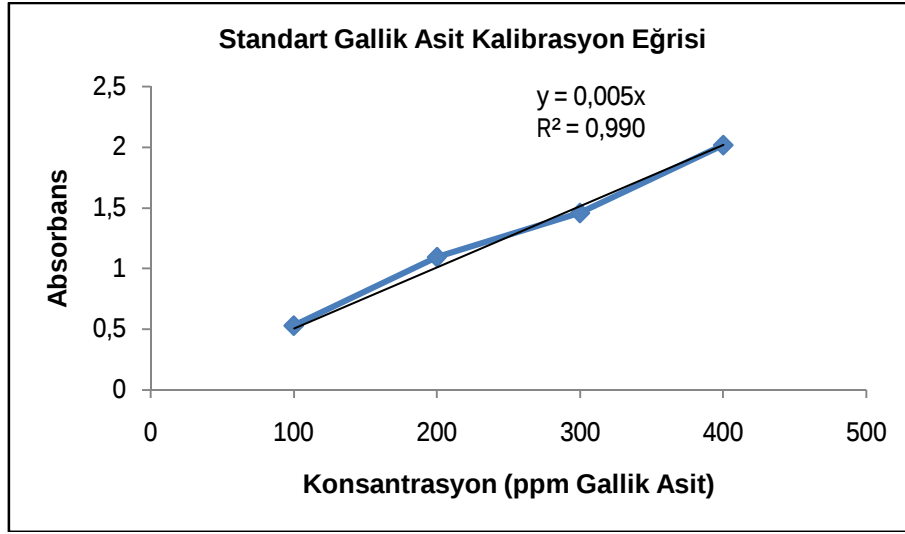
Şekil 4.36. Yıllık Pelinotu ekstraktlarının CUPRAC yöntemiyle toplam antioksidan değerlerini belirlenmesi için standart troloks kalibrasyon eğrisi

4.2.4.3. Folin Cicalteu Yöntemi (FOLIN)

Folin Cicalteu yöntemi ile yıllık pelinotunun ekstraktlarının toplam fenol içerikleri belirlenmiştir. Sonuçlar Şekil 4.37.'de verilen kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak hesaplanmıştır. Toplam fenol içerikleri gallik asit eşdeğeri olarak ifade edilmiştir. Elde edilen ekstraktların fenol içerikleri Çizelge 4.19.'da gösterilmiştir. Çizelge 4.19.' dan da görüleceği gibi sbkEtOHE yöntemiyle elde edilen ekstraktının diğer yöntemlerle elde edilen ekstraktlara göre yüksek fenol içeriğine sahip olduğu görülmektedir. Sonuçlar, CUPRAC yöntemi ve DPPH yöntemiyle elde edilen sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

Çizelge 4.19. Yıllık Pelinotu ekstraktlarının Folin Cicalteu yöntemi ile toplam fenol içeriklerinin belirlenmesi

Yöntem	mg GA/g bitki
sbkH ₂ OE	0,7
skCO ₂ E	0,9
sbkEtOHE	9,0
SBD	0,5
GSK	1,1
USE	2,6

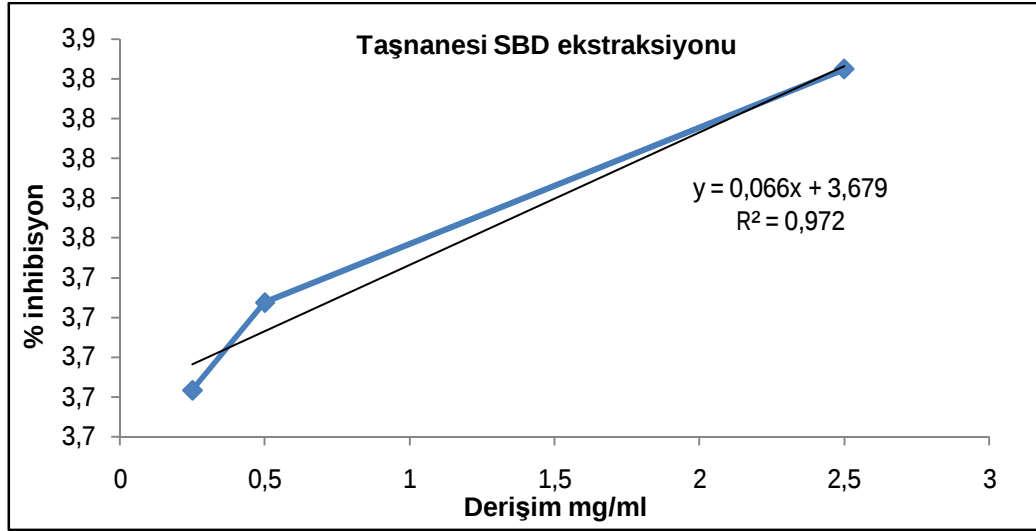


Şekil 4.37. Yıllık Pelinotu ekstraktlarının toplam fenol içeriklerinin belirlenmesi için standart gallik asit kalibrasyon eğrisi

4.2.5. Taşnanesinden Elde Edilen Uçucu Yağ ve Ekstraktların Antioksidan Aktiviteleri

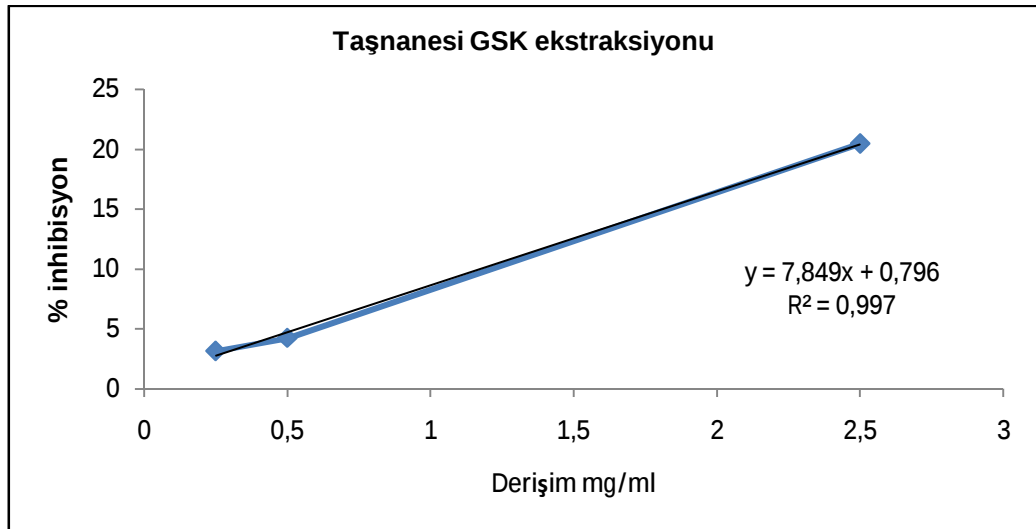
4.2.5.1. DPPH Yöntemi

Taşnanesinin su buharı destilasyonu ile ekstraksiyonu sonucu elde edilen ekstraktın DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesi ölçülmüştür. SBD ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın, Şekil 4.38’de verilen grafikten, I_{50} değeri 31901,4 mg bitki/ml olarak bulunmuştur.



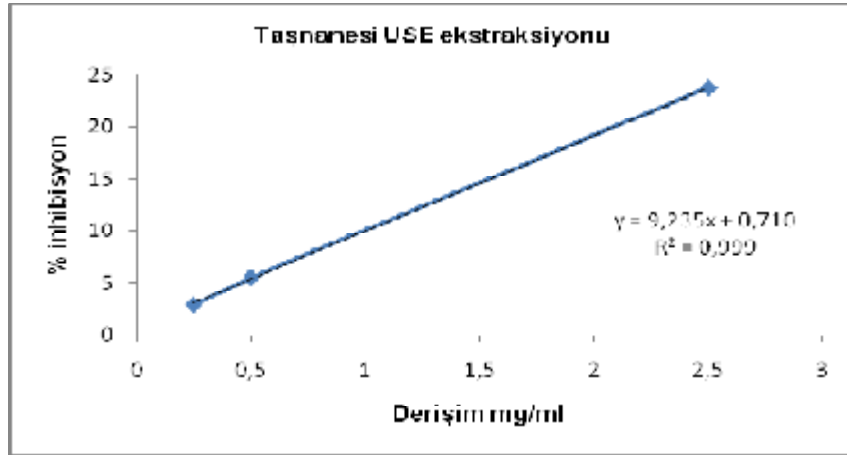
Şekil 4.38. Taşnanesinin SBD ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim-%inhibisyon grafiği

Taşnanesinin geri soğutucu altında çözücü ile kaynatma (GSK) sonucu elde edilen ekstraktın DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesi ölçüldüğünde I_{50} değeri 26,7 mg bitki/ml olarak bulunmuştur (Şekil 4.39.).



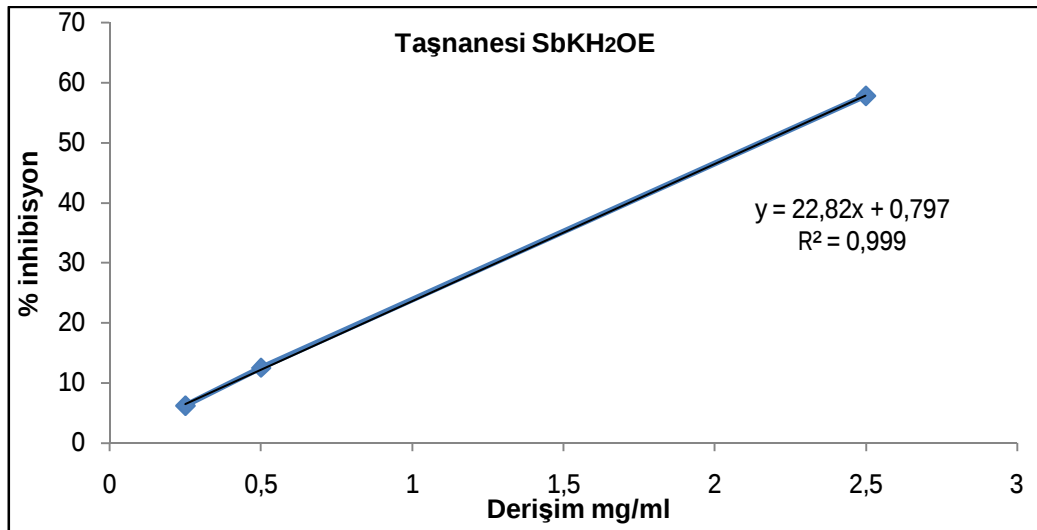
Şekil 4.39. Taşnanesinin GSK ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim-% inhibisyon grafiği

Taşnanesinin ultrasonik banyoda ekstraksiyonu (USE) sonucu elde edilen ekstraktın DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesi ölçülmüştür. I_{50} değeri 136,9 mg bitki/ml olarak bulunmuştur (Şekil 4.40).



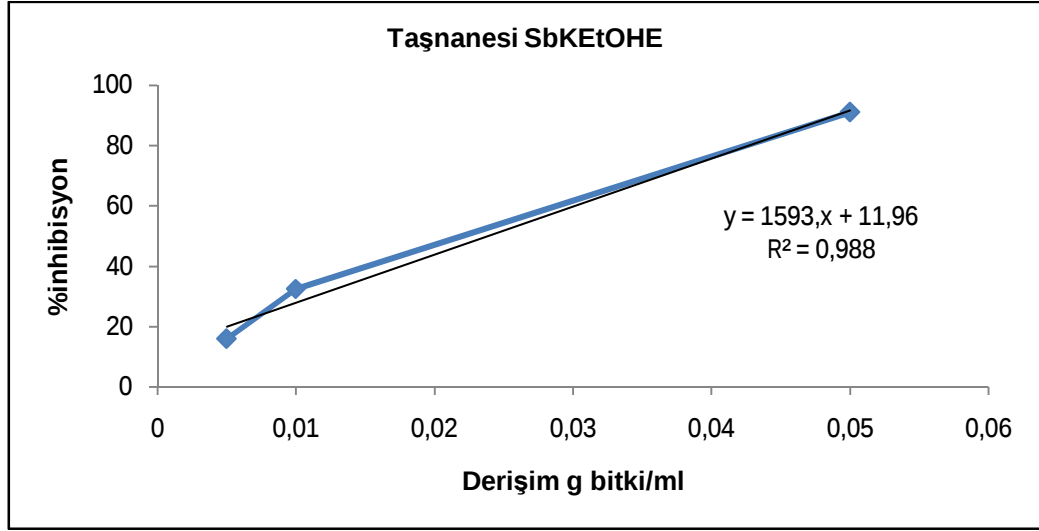
Şekil 4.40. Taşnanesinin USE ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim-% inhibisyon grafiği

Sub kritik su ekstraksiyonu (sbkH₂OE) ile taşnanesinden elde edilen ekstraktın I_{50} değeri 240,0 mg bitki/ml olarak bulunmuştur (Şekil 4.41).



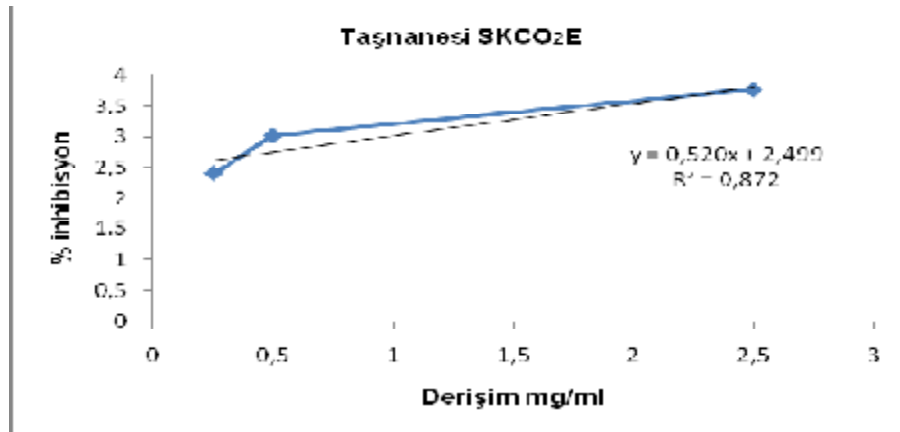
Şekil 4.41. Taşnanesinin sbkH₂OE yöntemi ile elde edilen ekstraktın Derişim-% inhibisyon grafiği

Taşnanesinin sub kritik etil alkol ekstraksiyonu (sbkEtOHE) sonucu elde edilen ekstraktın DPPH yöntemi ile antioksidan aktivite Şekil 4.42’de verilen grafikten, I_{50} değeri 23,9 mg bitki/ml olarak bulunmuştur.



Şekil 4.42. Taşnanesinin sbkEtOHE ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim-% inhibisyon grafiği

Taşnanesinin süper kritik CO_2 ekstraksiyonu (sk CO_2 E) sonucu elde edilen ekstraktın DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesi ölçülmüştür. I_{50} değeri 2768,2 mg bitki/ml olarak bulunmuştur (Şekil 4.43).



Şekil 4.43. Taşnanesinin sk CO_2 E ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın Derişim-% inhibisyon grafiği

Çizelge 4.20. Taşnanesi ekstraktlarının ve sentetik antioksidan BHT'nin DPPH yöntemi ile I₅₀ değerleri

Yöntem	I ₅₀ mg bitki/ml
sbkH ₂ OE	240,0
skCO ₂ E	2768,2
sbkEtOHE	23,9
SBD	31901,4
GSK	26,7
USE	136,9
BHT	1,55 mg BHT/ml

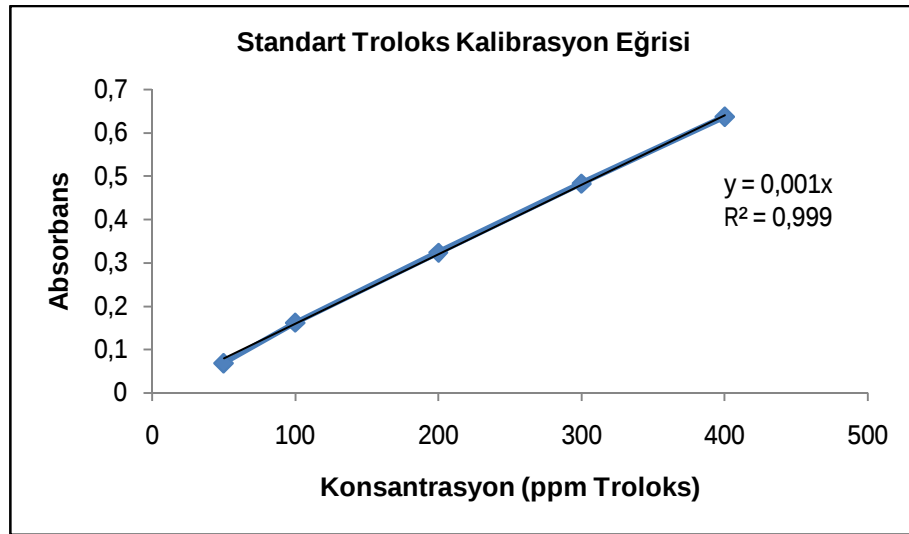
Taşnanesi için radikal temizleme aktivitesine göre yöntemleri sıralayacak olursak, sbkEtOHE> GSK> USE>sbkH₂OE> skCO₂E>SBD şeklinde sıralanmaktadır.

4.2.5.2. CUPRAC Yöntemi

Taşnanesinin altı farklı ekstraktının CUPRAC yöntemi ile toplam antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Sonuçlar Şekil 4.44. de verilen kalibrasyon eğrisinden yararlanarak hesaplanmıştır. Ekstraktların antioksidan kapasitesi troloks eşdeğeri cinsinden belirlenmiştir. Taşnanesi için CUPRAC yöntemine göre antioksidan aktiviteleri Çizelge 4.21.'de verilmiştir. Taşnanesi için CUPRAC yöntemine göre antioksidan aktivitelerini yöntemlere göre sıralayacak olursak GSK>sbkEtOHE> USE>skCO₂E >sbkH₂OE > SBD şeklinde sıralanmaktadır.

Çizelge 4.21. Taşnanesi ekstraktlarının CUPRAC yöntemi ile toplam antioksidan aktiviteleri

Yöntem	mg troloks/g bitki
sbkH ₂ OE	0,6
skCO ₂ E	2,1
sbkEtOHE	6,5
SBD	0,5
GSK	12,7
USE	4,1
BHT	1270,40 mg TR/g BHT



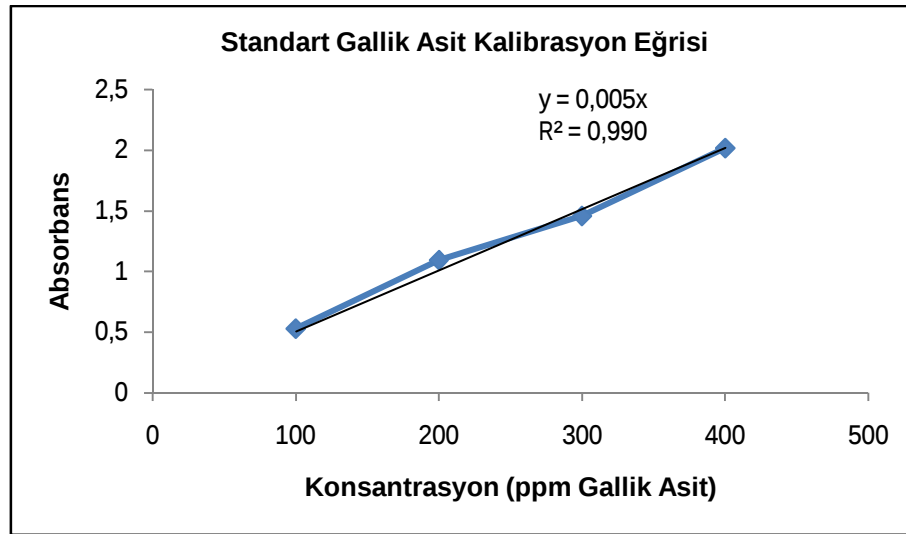
Şekil 4.44. Taşnanesi ekstraktlarının CUPRAC yöntemiyle toplam antioksidan değerlerini belirlenmesi için standart troloks kalibrasyon eğrisi

4.2.5.3. Folin Cicalteu Yöntemi (FOLIN)

Folin Cicalteu yöntemi ile taşnanesi ekstraktlarının toplam fenol içerikleri belirlenmiştir. Sonuçlar Şekil 4.45’de verilen kalibrasyon eğrisinden yararlanarak hesaplanmıştır. Toplam fenol içerikleri gallik asit eşdeğeri olarak ifade edilmiştir. Elde edilen ekstraktların fenol içerikleri Çizelge 4.22’de gösterilmiştir. Sonuçlar, CUPRAC yöntemi ve DPPH yöntemiyle elde edilen sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

Çizelge 4.22. Taşnanesi ekstraktlarının Folin Cicalteu yöntemi ile toplam fenol içeriklerinin belirlenmesi

Yöntem	mg GA/g bitki
sbkH ₂ OE	0,8
skCO ₂ E	0,7
sbkEtOHE	9,4
SBD	0,1
GSK	9,4
USE	1,5



Şekil 4.45. Taşnanesi ekstraktlarının toplam fenol içeriklerinin belirlenmesi için standart gallik asit kalibrasyon eğrisi

Çizelge 4.23. DPPH yöntemi ile radikal temizleme aktivitesine göre etkin bitkinin ve etkin ekstraksiyon yönteminin belirlenmesi

DPPH Yöntemi (I_{50} mg bitki/ml)						
Yöntem/Bitki	Dereotu	Çörekotu	Kışniş	Y.Pelinotu	Taşnanesi	Etkin Bitki
sbkH ₂ OE	1178,7	123,1	1768,0	510,8	240,0	Çörekotu
skCO ₂ E	1411,4	242,7	12829,2	4458,0	23,9	Taşnanesi
sbkEtOHE	212,0	219,5	143,7	24,4	2768,2	Y. Pelinotu
SBD	6940,6	756,0	38108,0	1167,2	31901,4	Çörekotu
GSK	777,8	193,0	1257,5	227,3	26,7	Taşnanesi
USE	2100,8	199,1	1485,7	138,0	136,9	Taşnanesi
Etkin yöntem	sbkEtOHE	sbkH ₂ OE	sbkEtOHE	sbkEtOHE	skCO ₂ E	

Çizelge 4.23.-4.25.'de uygulanan ekstraksiyon yöntemleri sonunda elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitelerinin uygulanan antioksidan aktivite belirleme yöntemine göre değişimi verilmiştir. Çizelge 4.23'den görüleceği gibi DPPH yöntemine göre, SBD ve sbkH₂OE yöntemiyle elde edilen bitki ekstraktlarından radikal temizleme aktivitesi en etkin bitki ekstraktının her iki

ekstraksiyon yönteminde de çörekotu ekstraktlarının olduğu tespit edilmiştir. GSK, USE ve skCO₂E yöntemleriyle elde edilen tüm bitki ekstraktlarından radikal temizle aktivitesi en yüksek bitkinin ekstraktlarının ise üç ekstraksiyon yönteminde de taşnanesi ekstraktları olduğu belirlenmiştir. DPPH yöntemine göre sbkEtOHE yöntemiyle elde edilen bitki ekstraktlarından radikal temizleme aktivitesi en yüksek bitki ekstraktının yıllık pelinotunun olduğu belirlenmiştir. DPPH yöntemine göre radikal temizleme aktivitesi en etkin yöntemin, dereotu, kişniş, yıllık pelinotu için sbkEtOHE olduğu, çörekotu için sbkH₂O₂ ve taşnanesi için ise skCO₂E olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.23.).

CUPRAC yöntemine göre, USE, skCO₂E ve sbkH₂O₂ yöntemiyle elde edilen bitki ekstraktlarından toplam antioksidan kapasitesi en yüksek bitki ekstraktının üç ekstraksiyon yönteminde de çörekotu ekstraktlarının olduğu tespit edilmiştir(Çizelge 4.24.). SBD ve sbkEtOHE yöntemleriyle elde edilen tüm bitki ekstraktlarından toplam antioksidan kapasitesi en yüksek bitki ekstraktlarının her iki ekstraksiyon yönteminde de yıllık pelinotu ekstraktları olduğu belirlenmiştir. CUPRAC yöntemine göre GSK yöntemiyle elde edilen bitki ekstraktlarından toplam antioksidan kapasitesi en yüksek bitki ekstraktının taşnanesi ekstraktı olduğu belirlenmiştir. CUPRAC yöntemine göre toplam antioksidan aktivitesi en etkin yöntemin, dereotu, çörekotu, kişniş ve yıllık pelinotu için sbkEtOHE olduğu, taşnanesi için ise GSK yöntemi olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.24.).

Çizelge 4.24. CUPRAC yöntemi ile toplam antioksidan kapasitesine göre etkin bitkinin ve etkin ekstraksiyon yönteminin belirlenmesi

CUPRAC Yöntemi (mg Troloks/ g bitki)						
Yöntem/Bitki	Dereotu	Çörekotu	Kışniş	Y.Pelinotu	Taşnanesi	Etkin Bitki
sbkH ₂ O ₂	1,0	2,6	1,1	2,3	0,6	Çörekotu
skCO ₂ E	1,4	15,1	2,8	3,2	2,1	Çörekotu
sbkEtOHE	6,5	16,6	26,9	41,4	6,5	Y. Pelinotu
SBD	0,4	0,9	0,2	1,0	0,5	Y. Pelinotu
GSK	2,7	10,9	2,0	3,8	12,7	Taşnanesi
USE	1,4	10,6	3,1	7,9	4,1	Çörekotu
Etkin yöntem	sbkEtOHE	sbkEtOHE	sbkEtOHE	sbkEtOHE	GSK	

FOLIN yöntemine göre GSK, sbkH₂OE ve sbkEtOHE yöntemleriyle elde edilen tüm bitki ekstraktlarından toplam fenol içeriği en yüksek bitki ekstraktları her üç ekstraksiyon yönteminde de taşnanesi ekstraktları olduğu belirlenmiştir. SBD ve USE yöntemleri ile elde edilen bitki ekstraktlarından toplam fenol içeriği en yüksek olan ekstraktlar ise yıllık pelinotu ekstraktlarıdır. FOLIN yöntemine göre skCO₂E yöntemiyle elde edilen bitki ekstraktlarından toplam fenol içeriği en yüksek bitki ekstraktının çörekotu ekstraktı olduğu belirlenmiştir. FOLIN yöntemine göre toplam fenol içeriği en yüksek yöntemin, dereotu, çörekotu, kişniş ve yıllık pelinotu için sbkEtOHE yöntemi olduğu, taşnanesi için ise GSK yöntemi olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.25.).

Çizelge 4.25. FOLIN yöntemi ile toplam fenol içeriğine göre etkin bitkinin ve etkin ekstraksiyon yönteminin belirlenmesi

FOLIN Yöntemi (mg GA/ g bitki)						
Yöntem/Bitki	Dereotu	Çörekotu	Kışniş	Y.Pelinotu	Taşnanesi	Etkin Bitki
sbkH ₂ OE	0,2	0,5	0,4	0,7	0,8	Taşnanesi
skCO ₂ E	0,2	1,6	0,3	0,9	0,7	Çörekotu
sbkEtOHE	1,7	1,9	4,4	9,0	9,4	Taşnanesi
SBD	0,1	0,2	0,1	0,5	0,1	Y. Pelinotu
GSK	0,4	1,0	0,3	1,1	9,4	Taşnanesi
USE	0,3	1,0	0,6	2,6	1,5	Y.Pelinotu
Etkin yöntem	sbkEtOHE	sbkEtOHE	sbkEtOHE	sbkEtOHE	GSK	

Genel olarak değerlendirildiğinde DPPH yöntemine göre serbest radikal aktivitesi en yüksek(I₅₀ değeri en düşük) bitki ekstraktı skCO₂E yöntemiyle elde edilen taşnanesi ekstraktıdır. CUPRAC yöntemine göre toplam antioksidan aktivitesi en yüksek bitki ekstraktı sbkEtOHE yöntemiyle elde edilen yıllık pelinotu ekstraktıdır. FOLIN yöntemine göre toplam fenol içeriği en yüksek ekstrakt GSK yöntemiyle veya sbkEtOHE yöntemiyle elde edilen taşnanesi ekstraktıdır (Çizelge 4.22., 4.23. ve 4.24.).

Tüm bu verilerden yararlanarak altı yöntem içinde en etkili yöntemin sbkEtOHE olduğu, antioksidan kapasitesi en etkin bitkinde beş bitki arasında taşnanesinin olduğu belirlenmiştir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

5.1.1. Ekstraksiyon Deneylerine ait Sonuçlar

1. Dereotu kışniş, yıllık pelinotu ve taşnanesi için belirlenen en yüksek ekstraksiyon verimi sbkEtOHE yöntemi ile elde edilmiştir. Çörekotunun en yüksek ekstraksiyon verimi ise GSK yöntemi ile elde edilmiştir.
2. Dereotundan tüm ekstraksiyon metotları ile hazırlanan ekstraktlarda bulunan temel bileşenler genel olarak, limonen, apiol ve *trans*-dihidrokarvon olarak belirlenmiştir.
3. Dereotu ve diğer tüm bitkiler için süperkritik akışkan ekstraksiyon koşulları 40 °C sıcaklık, 300 atm basınç olarak belirlenmiştir.
4. Dereotunun sbkH₂OE ekstraksiyonunda en etkin çalışma koşulları 100 °C sıcaklık, 60 atm basınç ve dakikada 2 ml akış hızı olarak belirlenmiştir.
5. Dereotunun sbkEtOHE ekstraksiyonunda en etkin çalışma koşulları 125 °C sıcaklık ve 80 atm basınç ve dakikada 2 ml akış hızı olarak belirlenmiştir.
6. sbkH₂OE yöntemiyle elde edilen ekstraktın uçucu yağ kalitesinin diğer yöntemlerle elde edilen yağlardan daha iyi olması, ekstraksiyonun hızlı bir şekilde tamamlanması, göreceli olarak düşük sıcaklıklarda çalışılarak, sıcaklıkla bozulan bileşenlerin kaybının önlenmesi, göreceli olarak düşük maliyetli olması, basit olması ve çevresel açıdan elverişli olması gibi özellikleri ile diğer yöntemlere güçlü alternatif bir yöntem olduğu belirlenmiştir.
7. Bileşen konsantrasyonları ekstraksiyon metoduna göre değişiklik göstermesi nedeniyle; ekstraktın kullanım amacına uygun (gıda, kozmetik, ilaç...) bir ekstraksiyon metodunun seçilebilmesinin mümkün olduğu belirlenmiştir.
8. Çörekotunun SBD ile hazırlanan uçucu yağın GC-MS analizine göre temel bileşenler simol, β -pinen, α -thujen, 5-karanol, junipen, α -pinen, karvakrol ve limonen olarak belirlenmiştir.

9. Çörekotunun sbkH₂OE ile ekstraksiyonu sırasında en etkin çalışma koşullarının 125 °C sıcaklık, 60 atm basınç ve dakikada 2 ml akış hızı olduğu belirlenmiştir. Hazırlanan uçucu yağda temel bileşenler, 1,4-dimetoksi-2,3-dimetilbenzen, timokinon, karvon, α -thujen, limonen ve simol olarak saptanmıştır.
10. GSK ile çörekotundan elde edilen ekstraktın GC-MS analizine göre temel bileşenler timokinon, simol, α -thujen, ledol, *p*-menth-6-en-2-il-metileter, junipen, karvakrol ve β -pinen olarak belirlenmiştir.
11. USE ile çörekotundan hazırlana ekstraktın GC-MS analizine göre temel bileşenler timokinon, simol, α -thujen, ledol, *p*-menth-6-en-2-il-metileter, α -pinen, β -pinen ve junipen olarak belirlenmiştir.
12. Çörekotunun skCO₂E ekstraksiyonunda diğer yöntemlerden farklı olarak ekstraktın büyük çoğunluğunu sabit yağ oluşturmuştur. Sabit yağ içeriği ve uçucu yağ bileşenleri linoleik asit, elaidik asit, palmitik asit, timokinon ve simol olarak belirlenmiştir.
13. Çörekotunun sbkEtOHE ile ekstraksiyonu sırasında en etkin koşullar 150 °C sıcaklık, 80 atm basınç ve dakikada 2 ml akış hızı olarak belirlenmiştir. Bu koşullarda elde edilen ekstraktın büyük çoğunluğunu uçucu yağlar diğer kısmını ise ekstraksiyon esnasında etilenmiş yağ asitlerinin oluşturduğu belirlenmiştir.
14. Kişnişin SBD ile hazırlanan uçucu yağda temel bileşenler linalool, γ -terpinen, 3-karen, simol ve nerolasetat olarak belirlenmiştir.
15. sbkH₂OE ile kişnişin ekstraksiyonunda en etkin çalışma koşulları 125 °C sıcaklık, 60 atm basınç ve dakikada 2 ml akış hızı olduğu belirlenmiştir. Bu koşullarda hazırlana uçucu yağda temel bileşenler linalool, alcanfor, pulegon, simol ve nerol olarak belirlenmiştir.
16. GSK ile kişnişten elde edilen ekstraktta temel bileşenler linalool, 3-karen, γ -terpinen ve simol olara belirlenmiştir.
17. USE ile kişnişten elde edilen ekstraktta temel bileşenler linalool, 3-karen, γ -terpinen sabinenene, simol, β -mirsen ve nerolasetat olarak belirlenmiştir.
18. Kişnişin skCO₂E ile ekstraksiyonu sonucunda hazırlanan ekstratta temel bileşenler linalool, γ -terpinen, nerolasetat, simol ve nerol olarak belirlenmiştir.

19. sbkEtOHE ile kişnişin ekstraksiyonunda etkin çalışma koşulları 100 °C sıcaklık 80 atm basınç olarak belirlenmiştir. Bu koşullarda hazırlanan ekstraktta temel bileşenler linalool, pulegon, palmitik asit, linoleik asit ve oleik asit olarak belirlenmiştir.
20. SBD ile yıllık pelinotundan hazırlanan uçucu yağda temel bileşenler kamfor, artemisya keton, 1,8 sineol, β -selinen, karyofillen ve karyofillen oksit olarak belirlenmiştir.
21. sbkH₂OE ile yıllık pelinotunun ekstraksiyonunda en etkin çalışma koşulları 125 °C sıcaklık, 80 atm basınç ve dakikada 2 ml akış hızı olarak belirlenmiştir. Bu koşullarda hazırlanan uçucu yağda temel bileşenler arteannuin b, kamfor, artemisya keton, 1,8 sineol ve qinghaosu olarak belirlenmiştir.
22. GSK ile yıllık pelinotundan elde edilen ekstraktta temel bileşenler artemisya keton, kamfor, 1,8 sineol, arteannuin b, β -selinen, kamfen ve karyofillen olarak belirlenmiştir.
23. USE ile yıllık pelinotundan hazırlanan ekstraktta temel bileşenler artemisya keton, kamfor, 1,8 sineol, arteannuin b, β -selinen, kamfen ve karyofillen olarak belirlenmiştir.
24. Yıllık pelinotundan skCO₂E ekstraksiyonuyla elde edilen ekstraktta temel bileşenler artemisya keton, arteannuin b, kamfor, 1,8 sineol, β -selinen, karyofillen ve kamfen olarak belirlenmiştir olarak belirlenmiştir.
25. sbkEtOHE ile yıllık pelinotunun ekstraksiyonunda etkin çalışma koşulları 125 °C sıcaklık ve 80 atm basınç olarak belirlenmiştir. Bu koşullarda yıllık pelinotundan elde edilen ekstraktta temel bileşenler artemisya keton, arteannuin b, 1,8 sineol, kamfor, hentriakontan, squalen, triakontan ve β -selinen olarak tespit edilmiştir.
26. SBD ile taşnanesinden elde edilen uçucu yağda temel bileşenler pulegon, isomenton, *p*-menton, limonen, ve *trans*-1,3,*trans*-1,4-mentol olarak belirlenmiştir.
27. sbkH₂OE ile taşnanesinin ekstraksiyonunda en etkin çalışma koşulları 100 °C sıcaklık, 60 atm basınç ve dakikada 2 ml akış hızı olarak belirlenmiştir. Bu

koşullarda hazırlanan uçucu yağda temel bileşenler pulegon, isomenton, piperitenon, *p*-menton ve piperitenon oksit olarak belirlenmiştir.

28. GSK ile taşnanesinden elde edilen ekstraktta temel bileşenler pulegon, isomenton, *p*-menton, limonen, piperitenon, ve *trans*-1,3,*trans*-1,4-mentol olarak belirlenmiştir.
29. USE ile taşnanesinden hazırlanan ekstraktta temel bileşenler pulegon, isomenton, *p*-menton, limonen, *trans*-1,3,*trans*-1,4-mentol, ve piperitenon olarak belirlenmiştir.
30. Taşnanesinden skCO₂E ekstraksiyonuyla elde edilen ekstraktta temel bileşenler pulegon, isomenton, *p*-menton, limonen, piperitenon ve *trans*-1,3,*trans*-1,4-mentol olarak belirlenmiştir.
31. sbkEtOHE ile taşnanesinin ekstraksiyonunda etkin çalışma koşulları 125 °C sıcaklık ve 80 atm basınç olarak belirlenmiştir. Bu koşullarda yıllık pelinotundan elde edilen ekstraktta temel bileşenler pulegon, isomenton ve *p*-menton olarak belirlenmiştir.

5.1.2. Antioksidan Aktivite Belirleme Deneylerine ait Sonuçlar

1. DPPH yöntemine göre dereotu, kişniş ve yıllık pelinotunun serbest radikal temizleme aktivitesinde en etkin ekstraksiyon yönteminin sbkEtOHE olduğu belirlenmiştir. Çörekotu için DPPH yöntemine göre serbest radikal temizleme aktivitesinde en etkin yöntem sbkH₂OE, taşnanesi için ise skCO₂E olduğu belirlenmiştir.
2. DPPH yöntemine göre radikal temizleme aktivitesinde ekstraksiyon yöntemlerinden SBD ve sbkH₂OE'ye göre en etkin bitki ekstraktının çörekotu ekstraktı olduğu, GSK, USE ve skCO₂E'ye göre en etkin bitki ekstraktının taşnanesi ekstraktı olduğu ve sbkEtOHE'ye göre ise yıllık pelinotu ekstraktının olduğu belirlenmiştir.
3. DPPH yöntemine göre serbest radikal temizleme aktivitesi en etkin bitki ekstraktının skCO₂E yöntemiyle elde edilen taşnanesi ekstraktı olduğu belirlenmiştir.

4. CUPRAC yöntemine göre dereotu, çörekotu, kişniş, yıllık pelinotunun toplam antioksidan aktivitesinde en etkin ekstraksiyon yönteminin sbkEtOHE olduğu belirlenmiştir. Taşnanesinde ise toplam antioksidan aktivitenin en yüksek olduğu yöntem GSK olarak belirlenmiştir.
5. CUPRAC yöntemine göre toplam antioksidan aktivitesinde ekstraksiyon yöntemlerinden USE, sbkH₂O₂ ve skCO₂E'ye göre en etkin bitki ekstraktının çörekotu ekstraktı olduğu, SBD ve sbkEtOHE'ye göre en etkin bitki ekstraktının yıllık pelinotu ekstraktı olduğu ve GSK'ye göre ise taşnanesi ekstraktının olduğu belirlenmiştir.
6. CUPRAC yöntemine göre toplam antioksidan aktivitesi en yüksek bitki ekstraktının sbkEtOHE yöntemiyle elde edilen yıllık pelinotu ekstraktı olduğu belirlenmiştir.
7. FOLIN yöntemine göre dereotu, çörekotu, kişniş, yıllık pelinotunun en yüksek toplam fenol içeriği sbkEtOHE yöntemi ile sağlanmıştır. Taşnanesinde ise en yüksek toplam fenol içeriği GSK yöntemiyle sağlanmıştır.
8. FOLIN yöntemine göre ekstraksiyon yöntemlerinden SBD ve USE'ye göre en etkin bitki ekstraktının yıllık pelinotu ekstraktı, GSK, sbkH₂O₂ ve sbkEtOHE'ye göre en etkin bitki ekstraktının taşnanesi ekstraktı skCO₂E'ye göre ise en etkin bitki ekstraktının çörekotu ekstraktı olduğu belirlenmiştir.
9. FOLIN yöntemine göre toplam fenol içeriği en yüksek bitki ekstraktının sbkEtOHE veya GSK yöntemiyle elde edilen taşnanesi ekstraktı olduğu belirlenmiştir.
10. Tüm antioksidan aktivite belirleme çalışmaları değerlendirildiğinde en etkili yöntemin sbkEtOHE olduğu, en etkin bitkininde taşnanesinin olduğu belirlenmiştir.

5.2. Öneriler

1. Ekstraksiyon metoduna göre farklılık gösteren bileşenler amaca göre ekstrakte edildikten sonra ayırma ve saflaştırma teknikleri ile saf olarak elde edilebilir ve karakterize edilebilir.
2. Sub ve süper kritik akışkan ekstraksiyon için belirlenen optimum koşullarda sürekli bir ekstraksiyon sistemi ile çalışılabilir.
3. Tıbbi bitkilerden farklı yöntemlerle elde edilen ekstraktlardan antimikrobiyal, antimutajenik ve benzeri çalışmalar yürütülebilir.
4. Elde edilen ekstraktlara mikrokapsülleme uygulamaları çalışılabilir.
5. sbkH₂OE ve SBD ile ekstraksiyonda uçucu yağ elde edildikten sonra kalan sulu kısımdaki bileşenleri belirleme çalışmaları sıvı kromatografisi ile (HPLC, LC-MS, vb.) yürütülebilir.
6. Yüksek antioksidan aktivite gösteren bitkilerin özellikle sulu çözeltileri de yüksek antioksidan aktivite göstereceğinden korozyon çalışmalarında inhibitör aktiviteleri üzerine bir çalışma yürütülebilir.
7. Bitkilerdeki temel bileşenler, firmalardan saf olarak satın alınıp, çeşitli oranlardaki karışımlarının antioksidan aktiviteleri de incelenebilir.

KAYNAKLAR

- AKGERMAN, A., AND MADRAS, G., 1994. Fundamentals of Solids Extraction by Supercritical Fluids., Supercritical Fluids: Fundamentals and Application, in: E. Kiran and J.M.H. (Eds.), NATO ASI Series, Series E: Applied Sciences, Levelt Sengers, Kluwer Academic Publishers, Netherland, 669-695.
- APAK, R., GÜÇLÜ, K., DEMİRATA, B., ÖZYÜREK, M., ÇELİK, E. S., BEKTAŞGÖLU, B., BERKER, K. I., and ÖZYURT D., 2007. Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assays. *Molecules*, 12:1496-1547.
- APAK, R., GÜÇLÜ, K., ÖZYÜREK, M., and KARADEMİR, E. S., 2004. Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in the Presence of Neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52:7970-7981.
- ARUOMA, O. I., 1994, Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidants, *Food Chemistry Toxicology*, 32, 671-683.
- BAŞER, K. H. C., 2002. Aromatic Biodiversity Among The Flowering Plant Taxa Of Turkey, *Pure Appl. Chem.* 74(4):527-545.
- BAYRAM, E., KIRICI, S., TANSI, S., YILMAZ, G., ARABACI, O., KIZIL, S., TELCİ, İ., 2010. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Üretiminin Arttırılması Olanakları. Türkiye Ziraat Müh. 7. Teknik Kongresi, Ankara, Bildiri Kitabı I:437-456.
- BAYTOP, T., 1999. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 480.
- BELZILE, A. S., 1998. Synergistic Activity of The Monolignol Dillapiol and Variation of Its Production in Two Plants, *Anethum graveolens* And *Piper aduncum*. M. Sc(Biology). Thesis University of Ottawa.
- BERGER, G. R., 2007. Flavours and Fragrances. Springer, Germany, 649.

- BENEY, P. J., BREUER, G. M., JACOBS, G. H., ZIERATH, D.L., MOLLENHAUER, P.J., NORTON, K. K., 1996. Review, Evaluation, and Application of Solid Phase Extraction Methods, Hygienic Laboratory, University of Iowa, 102 Oakdale Campus, Iowa City, Iowa 52242-500.
- BENKACI-ALI, F., BAALIOUAMER, A., MEKLATI, Y. B., 2006. Kinetic Study of Microwave Extraction of Essential Oil of *Nigella sativa* L. Seeds Chromatographia, 64:227-231.
- BENKACI-ALI, F., BAALIOUAMER, A., MEKLATI, Y. B., and CHEMAT, F., 2007. Chemical composition of seed essential oils from Algerian *Nigella sativa* extracted by microwave and hydrodistillation. Flavour and Fragrance Journal, 22:148-153.
- BHUIYAN, Md. N. I., BEGUM, J., and SULTANA, M., 2009. Chemical Composition of Leaf and Seed Essential Oil of *Coriandrum sativum* L. From Banglades. Bangladesh j Pharmacol, 4: 150-153.
- BONNLANDER, B., and WINTHERHALTER, P., 2000. 9-Hydroxypiperitone β -D-Glucopyranoside and Other Polar Constituents from Dill(*Anethum graveolens* L.) Herb. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48: 4821-4825.
- BURR, M. L., 1994, Antioxidant and cancer, *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 7, 409-416.
- CANTORE, P. L., IACOBELLIS, S. N., MARCO, A. D., CAPASSO, F., and SENATORE, F., 2004. Antibacterial Activity of *Coriandrum sativum* L. and *Foeniculum vulgare*(Miller) Essential Oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52:7862-7866.
- CARDENAS, M., MANDER, M., BLANK, V. C., ROGUIN, L. P., 2006. Antitumor activity of some natural flavonoids and synthetic derivatives on various human and murine cancer cell lines, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14: 2966-2971.
- CEYLAN, A., 1995. Tıbbi Bitkiler-I. E.Ü. Ziraat Fakültesi Ofset Atölyesi, İzmir, 140.

- CHEIKH-ROUHO, S., BESBES, S., HENTATI, B., BLECKER, C., DEROANNE, C., ATTIA, H., 2007 *Nigella sativa* L.: Chemical composition and physicochemical characteristics of lipid fraction. *Food Chemistry*, 101:673-681.
- CHRASTIL, J., 1982, Solubility of solids and liquids in supercritical gases, *Journal of Physical Chemistry*, 86: 3016-3021.
- ÇALIMLI, A., 2003. Kayısı ve Vişne Suyu Üretimindeki Atıkların Değerlendirilmesi. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri, Ankara, 81.
- ÇALMAŞUR, Ö., ASLAN, İ., ŞAHİN, F., 2006. Insecticidal and acaricidal effect of three Lamiaceae plant essential oils against *Tetranychus Koch* and *Bemisia tabaci* Genn. *Industrial Crops and Products*, 23:140-146.
- DUDAI, N., LARKOV, O., RAVID, U., PUTIEVSKY, E., and LEWINSOHN, E., 2001. Size Developmental Control of Monoterpene Content and Composition in *Micromeria fruticosa*(L.) Druce. *Annals of Botany*, 88: 349-354.
- EIKANI, H. M., GOLMOHAMMED, F., ROWSHANZAMIR, S., 2007. Subcritical water extraction of essential oils from coriander seeds (*Coriandrium sativum* L.). *Journal of Food Engineering* 80:735-740.
- ERKAN, N., AYRANCI, G., AYRANCI, E., 2008. Antioxidant activities of rosemary(*Rosmarinus Officinalis* L.) extract, blackseed(*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. *Food Chemistry* 110:76-82.
- GHORAB, E. H. A., MANSOUR, F. A., and EL-MASSRY, K., 2004. Effect of extraction methods on the chemical composition and antioxidant activity of Egyptian marjoam(*Majorana hortensis* Moench). *Flavour and Fragrance Journal* 19:54-61.
- GİRAY, E. S., KIRICI, S., KAYA, D. A., TÜRK, M., SÖNMEZ, Ö., İNAN, M., 2008. Comparing the effect of sub-critical water extraction with conventional extraction methods on the chemical composition of *Lavandula stoechas*. *Talanta*, 74: 930-935.

- GOGUS, F., OZEL, Z. M., and LEWIS, C. A., 2006. Extraction of essential oils of leaves and flowers of *Achillea monocephala* by superheated water. *Flavour And Fragrance Journal*, 21:122-128.
- GRACIA, G. L., CASTRO, L. D. M., 2000. Continuous subcritical water extraction of medicinal plant essential oil: comparison with conventional techniques. *Talanta*, 51:1179-1185.
- GROSSO, C., FERRARO, V., FIGUEIREDO, C. A., BARROSO, G. J., COELHO A. J., PALAVRA, M. A., 2008. Supercritical carbon dioxide extraction of volatile oil from Italian coriander seeds. *Food Chemistry*, 111:197-203.
- GÜLLÜCE, M., SÖKMEN, M., ŞAHİN, F., SÖKMEN, A., ADİGÜZEL, A., and ÖZER, H., 2004. Biological activities of the essential oil and methanolic extract of *Micromeria fruticosa*(L) Druce ssp *serpyllifolia*(Bieb) PH Davis plants from the eastern Anatolia region of Turkey. *Journa of the Science of Food and Agriculture*, 84:735-741.
- HANDA, S. S., KHANUJA, S. P. S., LONGO, G., RAKESH, D. D., 2008. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. ICS-UNIDO, Trieste, Italy, 266.
- HENNIG, B., TOBOREK, M., 1993, Antioxidants and atherosclerosis, *Journal of Optimal Nutrition*, 2, 213-216.
- <http://webbook.nist.gov/chemistry/gc-ri/>
- <http://www.epa.gov/greenchemistry>
- IRMAK, S., DUNFORD, T. N., GILLIAND, E. S., BANSKALIEVA, V., and EISENMENGER, M., 2006. Biocatalysis of Linoleic Acid to Conjugated Linoleic Acid. *Lipids*, 41:771-776.
- JIMENNEZ-CARMONA, M. M., UBERA, L. J., LUQUE DE CASTRO, M. D., 1999. Comparison of continuous subcritical water extraction and hydrodistillation of marjoram essential oil. *Journal of Chromatography A*, 855: 625-632.

- JIROVETZ, L., BUCHBAUER, G., STOYANOVA, S. S., GEORGIEV, E. V., and DAMIANOVA, T. S., 2003. Composition, Quality Control, and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of Long-Time Stored Dill(*Anethum graveolens* L.) Seeds from Bulgaria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 3854-3857.
- JUTEAU, F., MASOTTI, V., BESSIERE, M. J., DHERBOMEZ, M., VIANO, J., 2002. Antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia annua* essential oil. *Fitoterapia* 73:532-535.
- KÄHKONEN, M.P., HOPIA, A. I., VUOROELA, H. J., RAUHA, J. P., PIHLAJA, K., KUJALA, T. S., et al., 1999, Antioxidant activity of plants extracts containing phenolic compounds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3954-3962.
- KILIÇ, A., 2008. Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 10(13): 37-45.
- KOŞAR, M., ÖZEK, T., GÖGER, F., KÜRKÇÜOĞLU, M., and BASER, K. H. C., 2005. Comparison of Microwave-Assisted Hydrodistillation and Hydrodistillation Methods for the Analysis of Volatile Secondary Metabolites. *Pharmaceutical Biology*, 43(6): 491-495.
- KUBATOVA, A., MILLER, J. D., HAWTHORNE, B. S., 2001. Comparison of subcritical water and organic solvents for extracting kava lactones from kava root. *Journal of Chromatography A*, 923:187-194.
- LANG, Q., WAI, M. C., 2001. Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies-a practical review. *Talanta*, 53:771-782.
- LUCCHESI, E. M., FARID, C., SMADJA, J., 2004. Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. *Journal of Chromatography A*, 1043:323-327.
- MA, C., WANG, H., LU, X., LI, H., LIU, B., XU, G., 2007. Analysis of *Artemisia annua* L. Volatile oil by comprehensive two-dimensional gas chromatography time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1150:50-53.

- MARIOD, A. A., IBRAHIM, M. R., ISMAIL, M., ISMAIL, N., 2009. Antioxidant activity and phenolic content of phenolic rich fractions obtained from black cumin(*Nigella sativa*) seed cake. *Food Chemistry*, 116:306-312.
- MILIAUSKAS, G., VENSKUTONIS, R. P., BEEK, van T. A., 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, 85:231-237.
- MOHAMMADREZA, R. V., 2008. Variation in the Essential Oil Composition of *Artemisia annua* L. Of Different Growth Stages Cultivated in Iran. *Botany Research Journal* 1(2):33-35.
- MSAADA, K., HOSNI, K., TAARIT, B. M., CHAHED, T., KCHOUK, E. M., MARZOUK, B., 2007. Changes on essential oil composition of coriander (*Coriandrum sativum* L.) fruits during three stages of maturity. *Food Chemistry*, 102:1131-1134.
- MUKHOPADHYAY, M., 2000. Fundamentals of supercritical fluids and phase equilibria. M., Mukhopadhyay, *Natural Extracts Using Supercritical Carbon Dioxide*. CRC Press, Boca Raton, 11-82.
- NICHENAMETLA, S. N., TARUSCIO, T. G., BORNEY, D. L., EXON, J. H., 2006, A review of the effects and mechanisms of the polyphenolics in cancer, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46, 161-183.
- ÖZDEMİR, Z., 2005. Dereotu (*Anethum Graveolens* L.)’nda Bitki ve Tohum Verimi için Uygun Hasat Zamanlarının Belirlenmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Adana.
- ÖZEL, Z. M., GOGUS, F., LEWIS, C. A., 2003. Subcritical water extraction of essential oils from *Thymbra spicata*. *Food Chemistry*, 82:381-386.
- PARK, E. J., PEZZUTTO, J. M., 2002, Botanicals in cancer chemoprevention, *Cancer and Metastasis Reviews*, 21, 231-255.
- PROESTOS, C., CHORIANOPOULOS, N., NYCHAS, E. G.-J., and KOMAITIS, M. 2005. RP-HPLC Analysis of the Phenolic Compounds of Plant Extracts. Investigation of Their Antioxidant Capacity and Antimicrobial Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 1190-1195.

- RAMADAN, F. M., KROH, W. L., AND MÖRSEL, T. J. 2003. Radikal Scavenging Activity of Black Cumin(*Nigella sativa* L.), Coriander(*Coriandrum sativum* L.), and Niger(*Guizotia abyssinica* Cass.) Crude Seed Oils and Oil Fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51:6961-6969.
- SANCHEZ, M. C., LARRAURI, J.A., SAURA, C. F., 1998, A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76, 270-276.
- SIMONEAU, C., NAUDIN, C., HANNAERT P, ANKLAM, E., 2000. Comparison of classical and alternative extraction methods for the quantitative extraction of fat from plain chocolate and the subsequent application to the detection of added foreign fats to plain chocolate formulations. *Food Res Technol*, 33: 733–741.
- SINGLETON, V. L., ROSSI, J. A., 1965, Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*, 16:144-158.
- SINGLETON, V. L., ORTHOFER, R., LAMUELA-RAVENTOS, R. M., 1999, Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent, *Methods in Enzymology*, 299: 152-178.
- SKOOG, D.A., HOLLER, F.J., and NIEMAN T.A., 1998. Principles of Instrumental Analysis, (E. KILIÇ editör). Enstrumental Analiz İlkeleri, Bilim Yayıncılık, 1.baskı, Ankara, 768-777s.
- SMITH, M. R., 2002. Extraction with superheated water. *Journal of Chromatography A*, 975:31-46.
- SHYU, S. Y., LIN, T. J., CHANG, Y. T., CHIANG, C. J., YANG, J. D., 2009. Evaluation of antioxidant ability of ethanolic extract form dill(*Anethum graveolens* L.) flower. *Food Chemistry*, 115:515-521.
- SROKA, Z., 2005, Antioxidative and antiradical properties of plant phenolics, *Zeitschrift für Naturforschung*, 60 (11-12) 833-843.
- SURVESWARAN, S., CAI, Y., CORKE, H., SUN, M., 2007, Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants, *Food Chemistry*, 102, 938-953.

- TELÇI, I., and CEYLAN, M., 2007. ESSENTIAL OIL COMPOSITION OF *Micromeria fruticosa* DRUCE FROM TURKEY. Chemistry of Natural Compounds 43(5):629-631.
- TZENKOVA, R., KAMENARSKA, Z., DRAGANOV, A., ATANASSOV, A., 2010. Composition of *Artemisia Annua* Essential Oil Obtained From Species Growing Wild In Bulgaria. Biotechnol.&Biotechnol. Eq. 24(2):1833-1835.
- WANG, M., PARK, C., WU, Q., AND SIMON, E. J., 2005. Analysis of Artemisinin in *Artemisia annua* L. By LC-MS with Selected Ion Monitoring. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53:7010-7013.
- WONG, M., LI, B.H., CHENG, K. W., CHEN, F., 2006. A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. Food Chemistry, 97:705-7011.
- YILDIZ, L., 2007. Bazı Bitki Örneklerinde Antioksidan Kapasitenin Spektrofotometrik ve Kromatografik Tayini. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- YİLİ, A., AISA, H. A., MAKŞİMOV, V. V., VESHKUROVA, O. N., and SALIKHOV, Sh. I., 2009. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil From Seeds of *Anethum Graveolens* Growing in Uzbekistan. Chemistry of Natural Compounds, 45(2): 280-281.

ÖZGEÇMİŞ

1975 yılında Ereğli’de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Adana’da tamamladı. 1995 yılında Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü’nü kazandı. 1999 yılında Ç.Ü. Kimya Bölümü’nden mezun oldu. Aynı yıl Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans eğitime başladı. 1 yıl süreyle YADİM’de İngilizce hazırlık okudu. 1 Ağustos 2001’de Çukurova Üniversitesi Kimya Bölümü’nde Araştırma görevlisi olarak göreve başladı. 2003 yılında Yüksek Lisans eğitimini tamamladı ve Ç.Ü. Kimya Bölümü’nde Doktora eğitime başladı. Haziran 2010 tarihinde Kimya Bölümü’nde naklen atama ile teknisyen olarak çalışmaya başladı. Evli ve bir erkek çocuğu babasıdır.