

**UÇUCU YAĞLARDA BULUNAN ANA
BİLEŞİKLERİN PREPARATİF
FRAKSİYON TOPLAYICI İLE
İZOLASYONLARI VE BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİ**

Gökhan YATAĞAN

Yüksek Lisans Tezi

**UÇUCU YAĞLARDA BULUNAN ANA
BİLEŞİKLERİN PREPARATİF FRAKSİYON
TOPLAYICI İLE İZOLASYONLARI VE
BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ**

Gökhan YATAĞAN

Yüksek Lisans Tezi

ANADOLU ÜNİVERSİTESİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakognozi Anabilim Dalı

Eskişehir, Ocak 2011

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Temel Özek

*Bu tez çalışmasında TÜBİTAK-TBAG-107T498 ve Anadolu Üniversitesi
BAP-090322 Numaralı Proje imkanlarından yararlanılmıştır.*

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı ve soyadı : Gökhan Yatağan
Doğum tarihi ve yeri : 1 Şubat 1985, Muğla
Uyruğu : Türkiye Cumhuriyeti
Medeni durumu : Bekar
İletişim adresleri : Akyol Mahallesi 72. Sokak No:14
Yatağan/MUĞLA
gkhnytgn@gmail.com

Eğitim Durumu

İlköğretim : Atatürk İlköğretim Okulu
Lise : Yatağan Anadolu Lisesi
Lisans : Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi
Biyoloji Bölümü
Yabancı dil : İngilizce

Yayınlar

Poster Bildirileri

Özek, G., Yatağan, G., Duran, A., Martin, E., Öztürk, M., Başer, K. H. C., *Peucedanum isauricum* Parolly & Nordt uçucu yağının bileşimi, 18. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, İstanbul (2008).

Özek, T., Yatağan, G., Duran, A., Öztürk, M., Doğan, B., Başer, K. H. C., Chemical composition of the volatile metabolites of *Ferulago aucheri* Boiss. and *Ferulago angulata* (Schlecht) Boiss. fruits 9th International Symposium on Pharmaceutical Sciences, Ankara (2009).

Özek, G., Yatağan, G., Pimenov, M., Kljuykov, E., Başer, K. H. C., Volatile metabolites of *Astrodaucus orientalis* (L.) Drude, 8th International Symposium on The Chemistry of Natural Compounds, Eskişehir (2009).

Bilimsel Etkinlikler

Proje

Uçucu Yağlardaki Enantiomerlerin Taranması, İzolasyonu ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları, Tübitak Projesi, Proje No:107T498. (Bursiyer)

ENV/08/2-2/02 – Industrial Utilization of Medicinal and Aromatic Plants – Essential oil analysis and data collection in order to create a new and more complete database on essential oils, Earth, Environmental and Marine Sciences and Technologies End of Fellowship Programme, Project Nr.: TE/GLO/04/105

Katılan kurs ve eğitim programları

Training Course on Process Technologies, Quality Control and Utilization of Essential Oils Eskişehir, Haziran, 2008.

ÖNSÖZ

Tez çalışmam süresince sabır ve anlayışla manevi desteğini benden hiç esirgemeyen ve her türlü araştırma için değerli bilgilerini bana aktaran, danışman hocam Doç. Dr. Temel Özek'e,

Tez çalışmamı Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı'nda yapma imkanı sağlayan, tecrübe ve bilgileriyle bana yardımcı olan Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. K. Hüsnu Can Başer'e ve hiçbir zaman desteğini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Neş'e Kırimer'e,

Çalışmalarım sırasında GK-KS analizlerimi gerçekleştiren Y. Doç. Dr. Gülmira Özek'e,

Antimikrobiyal çalışmalarında yardımlarını benden esirgemeyen Prof. Dr. Fatih Demirci'ye,

Laboratuvar çalışmaları ve diğer analizler sırasında yardımlarını gördüğüm Arş. Gör. Dr. Gökalp İşcan'a, Uzm. Bio. Fatih Göger'e, Uzm. Bio Gökhan Dualı'ya,

NMR analizlerini gerçekleştiren ABD Tarım Bölümü, Tarımsal Araştırma Servisi, Doğal Ürünler Kullanımı Araştırma Birimi'nden M. Radwan ve Nurhayat Tabanca'ya,

Tez çalışmalarımında kullandığım bitki türlerinin temin edilmesini sağlayan Sayın Zekeriya Temizel (Antalya), Prof. Dr. K. H. C. Başer (Eskişehir) ve Dr. Yerlan Suleimen'e (Kazakistan) ve deneysel çalışmalarda kullanılan sıvı azot temininde destek sağlayan AÜBİBAM'a,

Tüm çalışmalarım sırasında her türlü manevi desteği gördüğüm Farmakognozi Anabilim Dalı mensuplarına,

Son olarak beni her zaman destekleyen, maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen çok değerli aileme ve Burçin Süreçli'ye,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

Gökhan YATAĞAN

UÇUCU YAĞLARDA BULUNAN ANA BİLEŞİKLERİN PREPARATİF FRAKSİYON TOPLAYICI İLE İZOLASYONLARI VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ

ÖZET

Bu çalışma kapsamında, *Ammi visnaga* (L.) Lam. (Diş otu), *Matricaria chamomilla* L. (Mayıs papatyası), *Juniperus sabina* L. (Sabin ardıcı) ve *Widdringtonia whytei* Rendle. (Mulanje sediri) türlerinin uçucu yağlarının kimyasal kompozisyonları, uçucu yağlarındaki ana bileşiklerin preparatif fraksiyon toplayıcı (PFT) ile izolasyonları, uçucu yağların ve uçucu yağlardan izole edilen maddelerin antibakteriyal ve antifungal aktiviteleri incelenmiştir.

Uçucu yağların kimyasal kompozisyonları gaz kromatografisi/kütle spektrometrisi (GK/KS) yöntemi ile incelenmiştir. *Ammi visnaga* uçucu yağından izole edilen A kodlu bileşiğin yapısı Nükleer Manyetik Rezonans spektroskopisi (NMR) yöntemi ile tayin edilmiştir.

Uçucu yağlarda tespit edilen ana bileşiklerin izolasyonları Gaz Kromatografisi-Preparatif Fraksiyon Toplayıcı (GK-PFT) sistemi kullanılarak yapılmıştır. İzole edilen maddelerden enantiomer özellikte olanları şiral kolonda analiz edilerek ve optik çevirme açıları ölçülerek hangi enantiomer oldukları belirlenmiştir.

Uçucu yağların ve izole edilen maddelerin antimikrobiyal aktiviteleri (antibakteriyal ve antifungal), gram negatif, gram pozitif bakterilere ve bazı funguslara karşı mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak incelenmiştir. *A. visnaga* uçucu yağının (MİK= 0.3375 µg/mL), bu yağdan izole edilen A kodlu bileşiğin (MİK= 0.437 µg/mL) ve *M. chamomilla* uçucu yağından izole edilen Bisabolon oksit'in (MİK= 0.4 µg/mL) *Pseudomonas aeruginosa* bakterisine karşı antibakteriyal etkili olduğu bulunmuştur. *A. visnaga*'dan izole edilen A kodlu bileşiğin (MİK= 0.1093 µg/mL) *Candida albicans*'a karşı antifungal etkili olduğu da görülmüştür.

Anahtar kelimeler: uçucu yağ, GK/KS, *Ammi visnaga*, *Matricaria chamomilla*, *Juniperus sabina*, *Widdringtonia whytei*, izolasyon, preparatif fraksiyon toplayıcı, antibakteriyal aktivite, antifungal aktivite

ISOLATION OF THE MAIN COMPOUNDS FROM THE ESSENTIAL OILS WITH PREPARATIVE FRACTION COLLECTOR AND THEIR BIOLOGICAL ACTIVITIES

ABSTRACT

In this present work, chemical compositions, antimicrobial and antifungal activities of *Ammi visnaga* (L.) Lam. (Toothpick herb), *Matricaria chamomilla* L. (Chamomile), *Juniperus sabina* L. (Savin Juniper) and *Widdringtonia whytei* Rendle. (Mulanje cypress) essential oils and isolated compounds from essential oils with preparative fraction collector have been investigated.

Chemical compositions of the essential oils were performed by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) method. Identification of compound A which was detected in *Ammi visnaga* essential oil was determined by the Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy.

The isolation of the main compounds detected in the essential oils was achieved by using a Gas Chromatography-Preparative Fraction Collector (GS-PFC) system. The enantiomeric compounds isolated from the essential oils were analyzed by GC using a chiral column and their optical rotations were measured to determine the enantiomeric status.

Antimicrobial activities (antibacterial and anticandidal) were tested against some gram-negative and gram-positive bacteria and some fungi using microdilution method. *Ammi visnaga* essential oil and the compound A which were isolated from the oil showed higher activity against *Pseudomonas aeruginosa*. The compound A showed also antifungal activity against *Candida albicans*. Bisabolone oxide isolated from *Matricaria chamomilla* has also shown antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa*. The other essential oils and compounds showed moderate activity against microorganisms.

Key words: essential oil, GC/MS, *Ammi visnaga*, *Matricaria chamomilla*, *Juniperus sabina*, *Widdringtonia whytei*, isolation, preparative fraction collector, antibacterial activity, antifungal activity

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖZGEÇMİŞ	i
ÖNSÖZ	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ	xii
GİRİŞ ve AMAÇ	1
KAYNAK BİLGİSİ	2
Apiaceae (Umbelliferae) Familyasının Genel Özellikleri	2
<i>Ammi L. cinsinin genel özellikleri</i>	3
<i>Ammi visnaga (L.) Lam. genel özellikleri</i>	3
Asteraceae Familyasının Genel Özellikleri	4
<i>Matricaria L. cinsinin genel özellikleri</i>	5
<i>Matricaria chamomilla L. genel özellikleri</i>	5
Cupressaceae Familyasının Genel Özellikleri	7
<i>Juniperus L. cinsinin genel özellikleri</i>	7
<i>Juniperus sabina L. genel özellikleri</i>	7
<i>Widdringtonia Endl. cinsinin genel özellikleri</i>	8
<i>Widdringtonia whytei Rendle genel özellikleri</i>	9
Uçucu Yağların Tanımı ve Özellikleri	10
Uçucu yağların kimyasal yapısı	12
Uçucu Yağların Elde Edilme Yöntemleri	13
Distilasyon	13
<i>Su distilasyonu</i>	13
<i>Buhar Distilasyonu</i>	13
<i>Su-buhar distilasyonu</i>	14
Uçucu Yağlardaki Enantiomerik Maddelerin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler ve Uçucu Yağların Enantiomerik İçerikleri	15

Enantiomerlerin ayrımında Gaz Kromatografisi (GK) ve Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YPSK)' nin yeri	16
GEREÇLER	17
Kullanılan Maddeler	17
<i>Bitkisel Materyal</i>	17
<i>Kimyasal Maddeler</i>	17
Kullanılan Cihazlar	17
YÖNTEMLER	17
Yapılan Deneysel Çalışmalar	17
Distilasyon işlemleri	17
<i>Su distilasyonu</i>	18
Analitik çalışmalar	18
Gaz kromatografisi/Kütle spektrometrisi (GK/KS) ve Gaz kromatografisi (GK-FID) ile uçucu yağların kimyasal analizi	19
<i>GK Analiz Koşulları</i>	19
<i>GK/KS Analiz Koşulları</i>	20
Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi	20
Gaz Kromatografisi/Preparatif Fraksiyon Toplayıcı Sistemi (GK/PFT) İle Uçucu Yağlardan Ana Bileşenlerin İzolasyonları	20
GK/PFT Sistemi Analiz Koşulları	23
<i>Ammi visnaga (L.) Lam. uçucu yağından A kodlu bileşiğin izolasyonu</i>	23
<i>Matricaria chamomilla (L.) uçucu yağından Bisabolon oksit İzolasyonu</i>	23
<i>Matricaria chamomilla (L.) uçucu yağından α-Bisabolol oksit A İzolasyonu</i>	24
<i>Juniperus sabina (L.) uçucu yağından Sabinen izolasyonu</i>	24
<i>Juniperus sabina (L.) uçucu yağından Sabinil asetat izolasyonu</i>	25
<i>Widdringtonia whytei Rendle. uçucu yağından Vidren (Tuyopsen) İzolasyonu</i>	25
Enantiomer Maddelerin Şiral Kolon İle GK/KS Sisteminde Analizleri	26
Enantiomer Maddelerin Optik Çevirme Açılarının Ölçülmesi	26
Şiral Kolon İle GK/KS Sistemi Analiz Koşulları	26
<i>Şiral kolonda Sabinen'in kromatografik ayrımı</i>	26
<i>Şiral kolonda Sabinil asetat'ın kromatografik ayrımı</i>	27
<i>Şiral kolonda Vidren'in kromatografik ayrımı</i>	27
Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi	28

<i>Mikroorganizmaların Canlandırılması</i>	28
<i>Mikrobroth Dilüsyon Tekniği ile Antimikrobiyal Etkinin Belirlenmesi</i>	29
BULGULAR ve TARTIŞMA	30
Uçucu Yağların Kimyasal Kompozisyonları, Uçucu yağlardan İzole Edilen Uçucu Bileşenler ve Saflık Dereceleri	30
<i>Ammi visnaga (L.) Lam.</i>	31
Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Ölçüm Sonuçları	33
<i>Matricaria chamomilla L.</i>	38
<i>Juniperus sabina L.</i>	43
<i>Widdringtonia whytei Rendle.</i>	48
Uçucu Yağların Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları	52
Uçucu Yağlardan İzole Edilen Uçucu Bileşenlerin Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları	53
SONUÇ ve ÖNERİLER	54
KAYNAKLAR	57

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE NO ve ADI	SAYFA	
Çizelge 1	Tez çalışmalarında kullanılan bitki türlerine ait veriler	17
Çizelge 2	Antimikrobiyal Aktivite Tayininde Kullanılan Mikroorganizmalar	28
Çizelge 3	Uçucu yağlardan izole edilen uçucu bileşenler ve saflık dereceleri	30
Çizelge 4	<i>Ammi visnaga</i> 'nın Uçucu Yağ Bileşimi	31
Çizelge 5	<i>Matricaria chamomilla</i> 'nın Uçucu Yağ Bileşimi	38
Çizelge 6	<i>Juniperus sabina</i> 'nın Uçucu Yağ Bileşimi	43
Çizelge 7	<i>Widdringtonia whytei</i> 'nin Uçucu Yağ Bileşimi	48
Çizelge 8	Uçucu Yağların Minimal İnhibe Edici Konsantrasyonları(MİK- $\mu\text{g}/\text{mL}$)	52
Çizelge 9	Uçucu Bileşenlerin Minimal İnhibe Edici Konsantrasyonları (MİK- $\mu\text{g}/\text{mL}$)	54

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL NO VE ADI	SAYFA
Şekil 1 <i>Ammi visnaga</i> (L.) Lam.	3
Şekil 2 <i>Matricaria chamomilla</i> L.	5
Şekil 3 <i>Juniperus sabina</i> L.	8
Şekil 4 <i>Widdringtonia whytei</i> Rendle	9
Şekil 5 İzopren Molekülü	12
Şekil 6 Clevenger apareyi	18
Şekil 7 Gaz kromatografisi/Kütle spektrometrisi (GK/KS)	19
Şekil 8 Preparatif Fraksiyon Toplayıcı (PFT)	21
Şekil 9 Gaz kromatografisi/Preparatif Fraksiyon Toplayıcı (GK/PFT)	22
Şekil 10 Gaz kromatografisi/Preparatif Fraksiyon Toplayıcı (GK/PFT) şematik görünümü	22
Şekil 11 Mikrodilüsyon Tekniğinde Kullanılan 96 (well) Kuyucuklu Mikrotitrasyon Petrisi	30
Şekil 12 <i>Ammi visnaga</i> uçucu yağı Gaz Kromatogramı	31
Şekil 13 <i>Ammi visnaga</i> uçucu yağının GK/PFT Sistemindeki Gaz Kromatogramı ve A Kodlu Bileşiğin Tespiti	32
Şekil 14 <i>Ammi visnaga</i> uçucu yağından izole edilen A kodlu bileşiğin Gaz Kromatogramı (A Kodlu Bileşik %97.7)	32
Şekil 15 <i>Ammi visnaga</i> uçucu yağından izole edilen A Kodlu bileşiğin kütle spektrumu	33
Şekil 16 <i>Ammi visnaga</i> 'dan izole edilen 4-asetoksimetil-2-[(5-metil-1-metilen)-heks-4-enil]-1-metil-1-(4-metil-pent-3-enil)-siklobütan	33
Şekil 17 <i>Ammi visnaga</i> uçucu yağındaki A kodlu bileşiğin ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ 400Mhz)	34
Şekil 18 <i>Ammi visnaga</i> uçucu yağındaki A kodlu bileşiğin ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ 400Mhz)	34
Şekil 19 <i>Ammi visnaga</i> uçucu yağındaki A kodlu bileşiğin ¹³ C NMR spektrumu (CDCl ₃ 100Mhz)	35
Şekil 20 <i>Ammi visnaga</i> uçucu yağındaki A kodlu bileşiğin DEPT NMR spektrumu	36
Şekil 21 <i>Ammi visnaga</i> uçucu yağındaki A kodlu bileşiğin HMQC NMR spektrumu	36

Şekil 22	<i>Ammi visnaga</i> uçucu yağındaki A kodlu bileşiğin COSY NMR spektrumu	37
Şekil 23	<i>Ammi visnaga</i> uçucu yağındaki A kodlu bileşiğin HMBC NMR spektrumu	37
Şekil 24	<i>Matricaria chamomilla</i> uçucu yağı Gaz Kromatogramı	38
Şekil 25	<i>Matricaria chamomilla</i> uçucu yağının GK/PFT Sistemindeki Gaz Kromatogramı ve Bisabolon oksit'in Tespiti	39
Şekil 26	<i>Matricaria chamomilla</i> uçucu yağından izole edilen Bisabolon oksit'in Gaz Kromatogramı (Bisabolon oksit %98.6)	39
Şekil 27	<i>Matricaria chamomilla</i> uçucu yağından izole edilen Bisabolon oksit'in kütle spektrumu	40
Şekil 28	Bisabolon oksit	40
Şekil 29	<i>Matricaria chamomilla</i> uçucu yağının GK/PFT Sistemindeki Gaz Kromatogramı ve α -Bisabolol oksit A'nın Tespiti	41
Şekil 30	<i>Matricaria chamomilla</i> uçucu yağından izole edilen α -Bisabolol oksit A'nın Gaz Kromatogramı (α -Bisabolol oksit A %95)	41
Şekil 31	<i>Matricaria chamomilla</i> uçucu yağından izole edilen α -Bisabolol oksit A'nın kütle spektrumu	42
Şekil 32	α -Bisabolol oksit A	42
Şekil 33	<i>Juniperus sabina</i> uçucu yağı Gaz Kromatografik Analizi	43
Şekil 34	<i>Juniperus sabina</i> uçucu yağının GK/PFT Sistemindeki Gaz Kromatogramı ve Sabinen'in Tespiti	44
Şekil 35	<i>Juniperus sabina</i> uçucu yağından izole edilen Sabinen'in Gaz Kromatogramı (Sabinen %97.5)	44
Şekil 36	<i>Juniperus sabina</i> uçucu yağından izole edilen Sabinen'in kütle spektrumu	45
Şekil 37	(+)-Sabinen'in Şiral kolondaki Gaz kromatogramı	45
Şekil 38	Sabinen	45
Şekil 39	<i>Juniperus sabina</i> uçucu yağının GK/PFT Sistemindeki Gaz Kromatogramı ve Sabinil asetat'in Tespiti	46
Şekil 40	<i>Juniperus sabina</i> uçucu yağından izole edilen Sabinil asetat'in Gaz Kromatogramı (Sabinil asetat %97.2)	46

Şekil 41	<i>Juniperus sabina</i> uçucu yağından izole edilen Sabinil asetat'ın kütle spektrumu	47
Şekil 42	(+)-Sabinil asetat'ın Şiral kolondaki Gaz Kromatogramı	47
Şekil 43	(+)-Sabinil asetat	47
Şekil 44	<i>Widdringtonia whytei</i> (Mulanje Sediri) uçucu yağı Gaz Kromatogramı	49
Şekil 45	<i>Widdringtonia whytei</i> uçucu yağının GK/PFT Sistemindeki Gaz Kromatogramı ve Vidren'in Tespiti	49
Şekil 46	<i>Widdringtonia whytei</i> uçucu yağından izole edilen Vidren'in Gaz Kromatogramı (Vidren %95)	50
Şekil 47	<i>Widdringtonia whytei</i> uçucu yağından izole edilen Vidren'in kütle spektrumu	50
Şekil 48	(-)-Vidren'in Şiral kolondaki Gaz Kromatogramı	51
Şekil 49	(-)-Vidren (Tuyopsen)	51

SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

μg	: Mikrogram
μL	: Mikrolitre
μm	: Mikrometre
nm	: Nanometre
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
^{13}C NMR	: ^{13}C Karbon-Nükleer Manyetik Rezonans
^1H NMR	: ^1H Proton-Nükleer Manyetik Rezonans
DEPT	: Distortionless Enhancement of Polarisation Transfer
HMQC	: Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HMBC	: Heteronuclear Multiple Bond Coherence
COSY	: Correlation spectroscopy
LSR	: Lantanit Shift Reagent
CDCl_3	: Dötoro kloroform
CD_3OD	: Dötoro metanol
DMSO	: Dimetil sülfoksit
ECD	: Elektron Yakalama Dedektörü
CsPs	: Şiral Hareketsiz Faz
eV	: Elektron volt
m/z	: Kütle/yük
UV	: Ultraviyole
<i>d</i> -	: dekstrorotator
<i>l</i> -	: levorotator
T. M. O.	: Toprak Mahsulleri Ofisi
GK	: Gaz Kromatografisi
KS	: Kütle Spektrometresi
YPSK	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
PFT	: Preparatif Fraksiyon Toplayıcı
Ort.	: Ortalama
enj.	: Enjeksiyon
N	: Normal
ST	: Standart Antimikrobiyal Maddeler

ATTC	: American Type Culture Collection (Amerikan tip kültür koleksiyonu)
NRRL	: Northern Regional Research Laboratory Culture Collection of USDA (Amerikan Tarım Dairesi, Kuzey Bölgesel Araştırma Laboratuvarları Kültür Koleksiyonu)
MHA	: Mueller Hinton Agar (katı besiyeri)
MHB	: Mueller Hinton Broth (sıvı besiyeri)
SGA	: Sabouraud Glukoz Agar
PDA	: Patates Dekstroz Agar (katı besiyeri)
MHz	: Megahertz
MİK	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
MRSA	: Metisiline dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
TTC	: Trifenil tetrazolyum klorit
SDA	: Sabouraud Dekstroz Agar (katı besiyeri)

GİRİŞ VE AMAÇ

Bitkilerin hastalık tedavi edici özellikleri binlerce yıl öncesinde bile insanların ilgisini çekmiştir. Eski Mısır, Mezopotamya ve Çin gibi pek çok uygarlık, hastalıklara karşı bitkilerden hazırladıkları ilaçları kullanmışlardır (Tanker ve Tanker, 1998a). Ülkemizde çok eski zamanlardan beri bitkisel droglar ilaç, gıda, parfümeri ve kozmetik gibi çok farklı amaçlar için kullanılmaktadır (Kan, 2008). Ülkemizdeki bitkisel zenginlik; üç fitocoğrafik bölgenin kesiştiği bölgede bulunması, Güney Avrupa ile Güneybatı Asya floraları arasında köprü olması, pek çok cins ve seksiyonun orijin ve farklılaşım merkezlerinin Anadolu oluşu, muhtemelen ekolojik ve fitocoğrafik farklılaşma ile ilgili olarak tür endemizminin yüksek oluşundan ileri gelmektedir (Toroğlu ve Çenet, 2006).

20. Yüzyılda tıbbi ve aromatik bitkilerin üretim ve kullanımında hızlı bir azalma gözlenmiştir. Fakat gelişen teknolojinin beraberinde getirdiği sağlık sorunlarından kaçınmak için doğaya ve doğala dönüş eğilimi günümüzde gittikçe artmaktadır. Bu nedenle son yıllarda ülkemizde de tıbbi ve aromatik bitkilerin ve bunlardan elde edilen ürünlerin kullanımında büyük bir artış dikkati çekmektedir. (Bayram ve ark., 2008; Erdem ve Eren, 2009).

Bitki uçucu yağları uzun yıllardan beri değişik amaçlara yönelik, özellikle bilimsel ve ticari olarak birçok alanda kullanılmaktadır. Bu kullanım alanlarının başında kozmetik, ilaç, gıda sanayi, aromaterapi ve fitoterapi gelmektedir. Uçucu yağlar geniş bir kullanım alanına sahip olduğu için son zamanlarda birçok bilim adamının ilgisini çekmiş ve bu uçucu yağların kimyasal yapıları incelenmiş biyolojik aktiviteleri merak konusu olmuştur. Bu araştırmalar sonucunda da doğal ürünlerin özellikleri uygulamaya konulmuştur. Günümüzde tıbbi bitkilerin ve bu bitkilere ait uçucu yağların saf ve özellikle ana etken maddelerinin elde edilip değerlendirilmesi hem bilimsel hem de ekonomik yönden oldukça önemlidir. Elde edilen sonuçlar, bu bitkilerin uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitelerinin olduğunu göstermektedir. Uçucu yağ ve bileşenlerinin farmakolojik özellikleri de incelenerek tıp, kozmetik ve endüstriyel alanlarda kullanılabilme imkânlarının yararlı olabileceği belirtilmektedir (Çelik ve Çelik, 2007).

Bu çalışmada Apiaceae, Cupressaceae, Asteraceae familyalarına ait dört farklı bitki türünün uçucu yağları elde edilmiş ve bu uçucu yağların içerdikleri ana bileşiklerin Preparatif Fraksiyon Toplayıcı (PFT) ile izolasyonları yapılmıştır. Fraksiyonlama sonucu elde edilen maddelerin enantiomerik özellikleri belirlenmiş, çeşitli bakteri ve funguslara karşı antibakteriyal ve antikandidal özellikleri araştırılmıştır.

KAYNAK BİLGİSİ

Apiaceae (Umbelliferae) Familyasının Genel Özellikleri

Apiaceae familyasının Asya'da 286, Avrupa'da 141, Afrika'da 133, Kuzey Amerika'da 93, Orta Amerika'da 27, Güney Amerika'da 51 ve Avustralya'da 36 cinsi yetişmektedir. Türkiye'de ise Apiaceae'nin 109 cinsi ve 450 türü yetişmektedir. Bunların arasında 4 cins ve 42 cinse ait 140 tür endemiktir. Endemik cinsler *Ekimia*, *Aegokeras*, *Crenosciadium* ve *Postiella*'dır. Apiaceae familyasının Türkiye'deki dağılışı homojen olmayıp Güneybatı ve Doğu Anadolu bölgelerinde daha bol bulunmaktadır. Doğu Anadolu bölgesi ise en fazla çeşitlilik gösteren bölge olup 15 cinse ait 23 endemik tür bulunmaktadır (Pimenov ve Leonov, 2004).

Apiaceae familyası üzerinde dünyanın çeşitli bölgelerinde birçok laboratuvarında, morfoloji ve anatomi çalışmalarından, sitoloji ve bitki kimyası alanlarına kadar çok geniş bir yelpazede araştırmalar sürmektedir. Bu familya sekonder metabolitler bakımından oldukça zengindir. Familyanın birçok cinsinden, kumarin, flavonoid, asetilenik bileşikler, seskiterpen laktonlar ve uçucu yağlar elde edilmekte ve bu bileşiklerden tıbbi ve ekonomik açıdan büyük ölçüde yararlanılmaktadır. Türkiye'de Apiaceae bitkileriyle yapılmış kimyasal çalışmaların bir kısmı Türkiye Florası'nın 11. Cildinde özetlenmiştir (Güner ve ark., 2000).

Apiaceae familyasındaki bitkiler genellikle kendilerine has bir kokuya sahiptir. Buna neden taşıdıkları uçucu yağ, reçine zank veya müsilaj karışımlarıdır. Bu karışımlar bitkinin özellikle meyve, petiol, gövde, yaprak ve köklerinde yer alan salgı kanallarında bulunur (Akcoşkun, 2010).

Apiaceae familyası üyeleri genellikle internodlarda içi dolu ve kuvvetli gövdeye sahip otsu bitkilerdir. Bitkiler sukulent ya da değildir. Yapraklar tabanda rozet şeklinde; gövdede almaçlı dizilmiş; tabanda yaprak kını bulunur; basit ya da bileşik bazen peltattır, bileşik olduğunda ternat, pinnat, bipinnat ya da çok pinnat bazen de palmat; yaprak kenarı düz, parçalı, dikenli olabilir; stipul bulunmaz; yaprak büyüklüğü değişkendir; damarlanma pinnat, palmat ya da paraleldir. Genellikle birleşik umbel, basit umbel nadiren de simöz çiçek durumları görülür. Çiçek durumunda 3 brakte vardır ya da yoktur. Çiçekler genellikle brakteollü; brakteoller küçüktür. Bitkiler genellikle hermafrodittir, andromonoik, poligam ya da dioik olabilir. Kaliks indirgenmiş; indirgenmemişse serbest ya da birleşik, kesinlikle kaliks tüpü oluşturmaz, sepal 5, çok küçük. Korolla serbest; petal 5; beyaz, sarı, pembe ya da eflatun; nadiren petalsızdır. Stamen 5, perianttan bağımsız, sepallerle karşılıklı dizilir, fertil, tomurcukta içe dönüktür. Ovaryum alt durumlu (1-)2 bölmelidir. Stilus 2, tabanı genişleyip stilopodyum oluşturmuştur. Plesantasyon aksillar ya da apikaldır. Ovül her bölmede 1 ya da 2 tanedir. Meyve kuru, 2 merikarplı şizokarptır. Her merikarp 1 tohumludur; merikarpların iç yüzleri birbirine bakar; arada birbirine bağlayan karpofor bulunur; dış yüz ise 5 birincil sırtlı, nadiren 4 ikincil sırt da bulunur. Sırtlar arasında vitta (yağ kanalları) bulunur. Tohumlarda yağlı endosperm bulunur (Davis, 1972).

Ammi L. cinsinin genel özellikleri

Ammi cinsi Türkiye’de 2 tür ile temsil edilmektedir. Bu türler *A. visnaga* (L.) Lam. ve *A. majus* L’dir. *Ammi* cinsi annual ya da biennial, yapraklar obovatla birlikte 1-3 pinnat, eliptikten lineer-filiform loblu. Brakteler pinnatisekt, brakteoller genellikle basit. Petaller dışa doğru büyük beyaz ya da sarımsı. Meyveler hafifçe sıkıştırılmış dorsal, tüsüzdür (Davis, 1975).

***Ammi visnaga* (L.) Lam. genel özellikleri**

Takım	: Apiales
Familiya	: Apiaceae (Umbelliferae)
Cins	: <i>Ammi</i>
Tür	: <i>Ammi visnaga</i>



Şekil 1. *Ammi visnaga* (L.) Lam.

Tek yıllık veya iki yıllık, 40-75 cm boylanabilen bir bitkidir. Çiçekler beyaz renkli olup keskin bir kokuya sahiptir. Temmuz-Eylül ayları arası çiçeklenir. Meyveleri 1.5-2.2 mm uzunluğunda, biraz sivri ve ovaldir. Hafif gölgelik, orman altı gölgeler ile çayırliklarda yetişir. Yem değeri düşüktür. Kokulu olduğundan hayvanlar tarafından tercih edilmez. İstilacı türlerdendir (Tan ve ark., 2008).

A. visnaga (Şekil 1), bir yıllık bir Akdeniz bitkisi olup, Yakındoğu, Afrika’nın kuzeyi ve özellikle Mısır’da yetişmektedir. Türkiye’de ise, Tekirdağ, İstanbul, Zonguldak, Amasya, Samsun, Trabzon, İzmir, Aydın, Muğla, Antalya, Adana, Gaziantep, Urfa ve Diyarbakır’da yetişmektedir. Türkiye Florası’nda belirtilmediği halde Hatay (Reyhanlı civarı)’da bol miktarda yabancı olarak yetişmektedir (Erkan, 2008).

Çiçek durumu bitki çiçekli iken açık bir şemsiye biçiminde olduğu halde, meyve olgunlaşmasını tamamlarken çiçek sapsızları birbirine yaklaşır, sertleşir ve şemsiye kapanır. Böylece çiçek durumu 3-6 cm boyunda, elipsoit bir şekil alır. Sertleşen sapsızlar halk arasında kürdan olarak kullanıldığından bitki Anadolu’da “dişotu”, “kürdan otu”, “kılır” ya da “hılta” gibi isimlerle tanınır. Bitki Mısırda “Khilla”, “Chellah” ya da “Khella”, Avrupa’da ise daha çok “Toothpick herb” veya “Bishop’s weed” gibi isimlerle bilinmektedir (Erkan, 2008).

Tohumlarının dekoksasyonu diüretik, antispazmodik ve taş düşürücü olarak kullanılır. Aynı zamanda astım ve anjinde kas gevşetici olarak da kullanıldığı bilinmektedir (Al-Douri, 2000). Meyveleri ise şeker hastalığında kullanılmaktadır (Eddouks, 2002).

Asteraceae Familyasının Genel Özellikleri

Asteraceae familyası üyeleri yeryüzünün hemen hemen her yerinde yayılış göstermektedir. Özellikle Amerika’nın güneybatısı ve Meksika, Brezilya’nın güneyi, And Dağları boyunca, Akdeniz Bölgesi, Güneybatı Asya, Orta Asya, Güney Afrika ve Avustralya’da yoğun olarak bulunmaktadır.

Asteraceae familyasının coğrafik orijini ile ilgili çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Bazı araştırmacılar Güney Amerika’nın Kuzeyini, bazıları da And Dağlarının Kuzeyini orijin merkezi olarak göstermektedirler. Barnadesioideae alt familyasının esas yayılış alanının And Dağları olması ve Güney Amerika’da da yayılış göstermesi bu hipotezi desteklemektedir. Bremer tarafından 1993 yılında yapılan kladistik çalışmalara göre ise Asteraceae familyasının orijin merkezinin Güney Amerika ve Pasifik olduğu ileri sürülmüştür (Arabacı, 2006).

Asteraceae, diğer adıyla Compositae, çiçekli bitki familyaları arasında en büyüklerden biridir. Dünyada yaklaşık olarak 1100 cins ve 25000 tür ile temsil edilmektedir. Türkiye’de 152 cins, 1230 tür, 133 alt tür, 75 varyete olmak üzere toplam 1438 takson ile temsil edilmektedir (Saday, 2005).

Asteraceae familyası; tek yıllık, iki yıllık ya da çok yıllık otsu ya da bazen çalı, nadiren küçük ya da orta büyüklükte ağaç şeklinde, tüysüz ya da çoğu zaman çeşitli şekillerde salgılı ya da salgısız tüylü. Dokuları latisferli ya da latisfersiz. Yaprakları alternat ya da bazen karşılıklı, nadiren dairesel, stipülsüz, (nadiren stipüllü), basit ve tam ya da dişliden çeşitli şekillerde parçalanmış, bileşik. Çiçek durumu 1-birçok sık baş şeklinde birkaç ya da çok sayıda sapsız çiçeklerin çiçek tablası üzerinde dizilip, hemen hemen her zaman 1-birkaç sıralı fillariden (involukral brakte) oluşan koruyucu bir involukrum tarafından çevrilen kapitulum şeklinde kümelenmiştir; kapitulum bazen ikincil bir kapitulum benzeri baş şeklinde kümeleşmiştir (yalancı baş). Reseptakulum çıplak ya da palealı, uzun tüylü ya da kılçıklı. Çiçekler (çiçekçikler) epigin, sinpetal, tam ya da bazıları dişli ya da nötr ya da işlev bakımından erkek. Kaliks ovaryumun ucunda papus denilen tüyler, kıllar, pullar ya da kılçıklar ya da \pm devamlı korona (taç) ile temsil edilmektedir; bazen papus tamamen yoktur. Korolla tüp şeklinde (huni şeklinde ya da tabanda silindirik, üste doğru çan şeklinde), filiform, dilsel ya da nadiren iki dudaklı, genellikle 3 ya da 5 dişli; nadiren bulunmaz. Stamenler (4-)5, filamentler korolla tüpüne bağlı, anterler kenarlarından birleşerek stilusu silindir şeklinde sarar (singenezis), nadiren serbest; iç yüzeylerinden açılır. Ovaryum alt durumlu, tek gözlü, tabanda bir adet anatrop ovullü; stilus genellikle yukarı doğru 2 kola

bölünmüş, çoğu zaman disk çiçeklerin stilusları anterlerdeki poleni yakalayacak şekilde fırça tüylü. Meyve aken (sipsela), genellikle kalıcı ya da düşücü papuslu, papus sapsız ya da gaga benzeri bir uzantının (rostrum) ucundan çıkar.

Kapitulumlar ya homogam (kapitulumdaki tüm çiçekler iki eşeyli) ya da heterogamdır (kenardaki çiçekler pistillat ya da steril, içtekiler ise iki eşeyli). Bazen kapitulumlar tek eşeylidir. Bu durumda, bir kapitulumda yalnız dişi (pistillat) ya da erkek çiçek (staminat) bulunur (Davis, 1975; Cronquist, 1981).

Matricaria L. cinsinin genel özellikleri

Asteraceae familyası üyesi olan *Matricaria* cinsi ülkemizde Papatya, Tıbbi papatya, Babunç, Mayıs papatyası veya Adi papatya olarak adlandırılmaktadır. *Matricaria* cinsinin kullanılan kısımları çiçek durumlarıdır. Avrupa ve Kuzey Batı Asya'da doğal olarak yetişir, Kuzey Amerika'da doğallaşmıştır. Türkiye'de yol kenarları ve boş tarlalarda bol miktarda yetişir. Papatya ülkemizde halk arasında idrar söktürücü, iştah açıcı, yatıştırıcı, gaz ve safra söktürücü olarak bilinir. İnfüzyonları boğaz iltihaplarına karşı gargara halinde, iltihaplı yaralara karşı ise pansuman halinde ağrı kesici ve yara iyi edici olarak kullanılmaktadır (Yılmaz, 2007).

Matricaria chamomilla L. genel özellikleri

Takım	: Asterales
Familya	: Asteraceae (Compositae)
Cins	: <i>Matricaria</i>
Tür	: <i>Matricaria chamomilla</i>



Şekil 2. *Matricaria chamomilla L.*

Mayıs papatyası (*Matricaria chamomilla L.*), ülkemizde adi papatya, hakiki papatya, tıbbi papatya ya da sadece papatya adlarıyla bilinir.

Papatya anavatanı Doğu Avrupa ve Asya'dır. Ancak bu birkaç yüzyıldan beri Orta Avrupa'ya da yayılmıştır. Amerika ve Avustralya'ya ise tahıllarla beraber götürülmüştür. Çok eskiden Chamaemelon adı altında Plinius ve Dioskorides

(M.S. 77-79) tarafından, aynı zamanda Arap hekimleri tarafından bilinmekte idi. O zamanlar papatya çiçeklerinden elde edilen yağdan hazırlanan preparatların omalarda kullanıldığı belirtilmektedir. Bugün dahi mavi yağ diye bilinen papatya yağından ilk defa 1588 de bahsedilmiştir. Mayıs papatyası bugün dünyanın birçok yöresine yayılmış bulunmakta ve pek çok ülkede kültürü yapılmaktadır. En fazla üretimi yapılan ülkeler Almanya, Macaristan, Rusya, Belçika, Fransa, İspanya, Yunanistan ve Türkiye'dir (Ceylan, 1996; Tanker ve ark., 1998).

M. chamomilla (Şekil 2) tek yıllık, 60 cm kadar yükseklikte bir bitkidir. Toprağın üst sahasında yayılan ince bir saçak köke sahiptir. Genellikle dik gelişen çok fazla dallanmış sapsarı vardır ve sapsarın içleri doludur. Yaprakları almaşıklı durumda olup 2-3 parçalıdır. Sap uçlarında tek tek bulunan çiçek düğmeleri çiçekleri oluşturmaktadır. Kapitulunun çapı ortalama 18-28 mm arasında değişir. Kalınlığı ise 5-10 mm dir. Ancak ıslah edilmiş çeşitlerde, özellikle tetraploid tiplerde bunlar daha büyük olabilmektedir. Çiçek tabanı (receptaculum) konimsi olup içi boştur. Çanak yapraklar (involukrum) 20-30 kadar tek sıra halinde dizilmiş, uzunumsu, derimsi, küt uçludur. Papatya'da bir çiçek düğmesinin kenarlarında 12-18 adet beyaz, dişi dil çiçekleri ile çok sayıda 5 köşeli sarı hermafrodit boru çiçekleri ve çiçek tabanı (infloresens) bulunur. Beyaz dil çiçeklerinin sonları 3-4 dişli olup her biri 4 esas damarlıdır. Bunlar genellikle 3-6 mm uzunlukta, 3 mm kadar genişliktedir. Çiçek tabanı genç devrede hafif, daha sonra kuvvetli kubbemsi olup iç kısmı boştur ve buna benzer diğer kompositelerden önemli bir ayırım farklılığıdır. Dil çiçekleri önce dik olarak açarlar, gelişme ile çiçek tablosunun ortasındaki çiçeklerin gelişimi ile burası yükselir. Şizogen tipi uçucu yağ hücrelerine sahiptir. Papatya'da meyve çok küçüktür. 0,7-1,2 mm uzunlukta 0,3 mm genişliktedir. Rengi sarımsı-gridir (Tanker ve ark., 1998).

Meyvenin tepesinde taç (krona) bulunup bulunmadığına göre birbirinden ayrılan üç varyetenin Türkiye'de bulunduğu bilinmektedir. Var. *chamomilla* – Yalnız dil şeklindeki çiçeklerin meyvelerinde korona vardır. Var. *pappulosa* Margot et Reuter – Dil ve tüp şeklinde olan çiçeklerin meyvelerinde korona vardır. Var. *recutita* (L.) Grierson – meyvelerin hiçbirinde korona yoktur (Baytop, 1999).

Papatya eskiden beri midevi, karın ağrılarına karşı, tonik hafif antiseptik ve saç boyayıcı olarak kullanılmaktadır. Ayrıca yara tedavilerinde dışarıdan lapa şeklinde uygulaması da vardır. Papatyanın sindirime iyi geldiği ve bağırsak mukozasında olumlu etkileri olduğu bulunmuştur. Ülkemizde, tedavi amaçlı kullanılan bitkilerin belirlenmesine yönelik yapılan bir çalışmada papatyanın, öksürük, akne, karın ağrısı, bağırsak bozuklukları, soğuk algınlığı, astım bronşit gibi hastalıkların tedavisinde kullanıldığı belirlenmiştir. Yaprak ve çiçekleri kaynatılarak elde edilen sıvı ile yapılan gargaranın ağız içi infeksiyonlara iyi geldiği görülmüştür (Tür, 2008).

Matricaria chamomilla L.'nin de içinde bulunduğu, gastrointestinal hastalıkların tedavisinde kullanılan STW 5'in dikkate değer bir oksidan temizleyici olduğu görülmüştür (Schemppa ve ark., 2006). Geleneksel olarak uyku hastalıklarında kullanılan iyi bir sakinleştirici ve rahatlatıcıdır (Zanoli ve ark., 2000). Bitkinin içerdiği kamazulen lipid peroksidasyonunu engeller (Rekka ve ark., 1996). Aynı zaman da papatya bitki ekstresinin yanık yaralarını iyileştirmede hızlandırıcı etkisi de vardır (Jarrahi, 2008).

Cupressaceae Familyasının Genel Özellikleri

Cupressaceae familyasının, dünyanın kuzey ve güney yarım küresinin ormanlarında geniş yayılış gösteren 15 cinse ait 140 türü bulunmaktadır. Türkiye’de ise Cupressaceae familyasına ait *Cupressus* ve *Juniperus* üyeleri doğal yayılış göstermektedir. Doğal yayılışı olan üyeler ile Türkiye’de doğal yayılışı olmayan *Thuja* (mazı ağacı), *Thucopsis*, *Calocedrus*, *Chamaecyparis*, *Cupressocyparis*, *Arceuthos* gibi familya üyeleri yaygın bir şekilde süs bitkisi olarak park ve bahçelerde dikimi yapılmaktadır (Bıçakçı, 2010).

Cupressaceae familyası bitkileri monoik veya dioiktir. Yapraklar kalıcı, genellikle küçük pulsu, subulat veya asikular-lanseolat, oposit veya vertisillat dizilişte, bazen dimorfik de olabilmektedir. Çiçekler kozalak durumunda, odunsu ve pulsu, oposit veya vertisillat dizilişindedir (Tümen, 2005). Erkek kozalaklar küçük, uç kısımlarda veya yaprak koltuklarında küme oluştururlar. Dişi kozalaklar uç kısımlarda veya kısa sürgünlerin yan tarafındadır. Kozalak yapıları bazı türlerde odunsu, bazı türlerde deri gibi ya da etli görünümündedir (http-1). Meyve hemen hemen odunsu bir kozalak şeklinde veya nadiren pullar etlenmiş ve üzüksü meyve haline geçmiştir. Tohumlar kanatlı veya kanatsızdır, çoğunlukla 2, nadiren 5-6 kotiledon taşır (Kocakulak, 2007).

Juniperus L. cinsinin genel özellikleri

Juniperus L. (Ardıç) cinsinin dünya üzerindeki taksonlarının sayısı hakkında değişik bilgiler mevcuttur. Bazı yazarlar Ardıçların dünya üzerinde 100 kadar türü olduğunu, Ardıçların, *caryocedrus*, *oxycedrus* ve *sabina* olmak üzere 3 gruba ayrıldığını belirtmektedir. Bazıları ise 3 seksiyona ayırdığı *Juniperus L.* cinsinin; *caryocedrus* seksiyonunda 1 (*Juniperus drupaceae L.*), *oxycedrus* seksiyonunda 9 veya 10, *sabina* seksiyonunda ise yaklaşık 50 türün bulunduğunu belirtmektedir (Adams, 1998). Diğer bir yapılan çalışmada ise *Juniperus*’ların 68 tür ve 36 varyetesinin bulunduğu belirtilmektedir (Adams ve Pandey, 2003).

Juniperus cinsi kısa boylu veya yerde sürünen odunsu bitkilerdir. Sürgünlere üçlü çevrel olarak dizilen yapraklar genellikle iğne yapraklı ardıçlarda görülür. Pul yapraklı olan taksonlarında ise yapraklar haçvari şekilde dizilmişlerdir.

Günümüzde ardıçların, 2 seksiyonu ve 60’a yakın türünün bulunduğu kabul edilmektedir. Ülkemizde, ardıçların bu iki seksiyonuna ait 6 tür (2 tanesi alt türe sahip) doğal olarak bulunmaktadır (Tümen, 2005).

Juniperus sabina L. genel özellikleri

Takım	: Pinales
Familya	: Cupressaceae
Cins	: <i>Juniperus</i>
Tür	: <i>Juniperus sabina</i>



Şekil 3. *Juniperus sabina* L.

Doğal olarak Orta ve Güney Avrupa, Kafkasya, Kuzey Asya ve Kuzey Amerika'nın yüksek dağlarında yetişen sürünücü bir büyüme gösteren monoik ağaççıklardır. Ülkemizde ise Kuzey ve Batı Anadolu'da dağlık alanlarda kurak ve kayalık yamaçlarda, Karabük, Zonguldak, Samsun, Gümüşhane, Kahramanmaraş ve Hakkâri yörelerinde yayılış gösterir. Bu takson sık dallanma gösterir, yaşlı gövdelerin kırmızımsı esmer kabuğu çok ince levhalar halinde çatlar. Alt dallar iğne yapraklı, üsttekiler sık ve küçük pul yapraklıdır. Yapraklar iğne halinde iken 4 mm kadar boyundadır ve uçları sivri, üst yüzleri mavimsi yeşil olukludur ve orta damar belirgindir. Ortalama onuncu yaştan sonra pul yapraklar oluşur. Pulları zehirli ve parmak arasında ezilirse fena kokuludur (Tümen, 2005; Karamanoğlu, 1977).

Çiçekler bir cinsli iki evcikli olup, kozalaklar da bazen birinci yılın sonbaharında, bazen de ikinci yılın ilkbaharında olgunlaşır. Önceleri yeşil renkte iken, sonraları siyahımsı, üstü mavi dumanlıdır. Tohum kalın, sert kabuklu olup, kahverenginde ve yumurta şeklindedir. Tohum sayısı 1-4 adettir. Şekil 3'de *Juniperus sabina*'nın genel görünüşü verilmiştir.

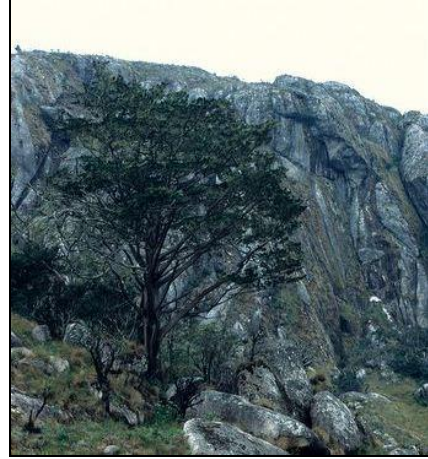
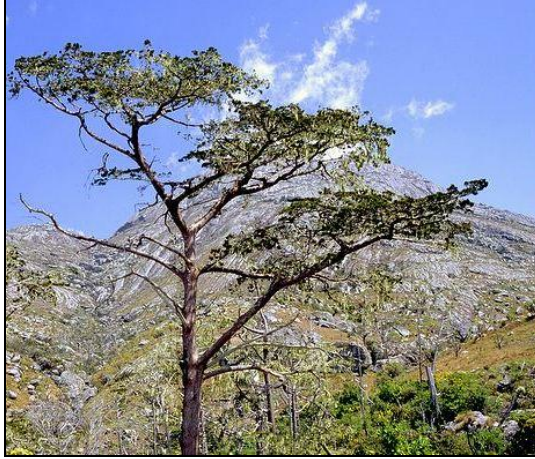
Juniperus sabina'nın dal uçları uçucu yağ içerir. Bu yağın bileşiminde sabinol ve sabinen bulunur. Dal uçları toz halinde küçük dozlarda emenagog olarak kullanılır. Fakat bu drog zehirlidir ve tehlikelidir (Karamanoğlu, 1977).

***Widdringtonia* Endl. cinsinin genel özellikleri**

Widdringtonia Endl. cinsi pulsu yapraklı, erik büyüklüğünde odunsu dişi kozalaklara sahip bir monoik Afrika iğne yapraklısıdır. Her bir dişi kozalak kanatlı tohumlar içeren dört kalın kapakçıktan oluşur (Pauw ve Linder, 1997). Bu cins özellikle *W. cedarbergensis* (Cedarberg Dağları, Güney Afrika), *W. schwarzii* (Baviaans Kloof Dağları, Güney Afrika), ve *W. cupressoides* (sin. *W. nodiflora*) türleri başta olmak üzere Güney Afrika'da birçok tür içerir. *W. whytei* (Mulanje Sediri)'nin, önceden bu tartışmalı olmasına rağmen *W. cupressoides* ile sinonimi olan *W. nodiflora*'nın sinonimi olduğu düşünülmekteydi. Mulanje dağında *W. whytei* (uzun, geniş taçlı) ve *W. noiflora* (çok saplı, dar tepeli ağaç) 'nın da geniş formları mevcuttur (Bayliss ve ark., 2007).

***Widdringtonia whytei* Rendle genel özellikleri**

Takım	: Coniferales
Familya	: Cupressaceae
Cins	: <i>Widdringtonia</i>
Tür	: <i>Widdringtonia whytei</i>



Şekil 4. *Widdringtonia whytei* Rendle

W. whytei (Mulanje Sediri) (Şekil 4) ilk kez 1888’de Mulanje platosuna çıkan İskoç misyoner Robert Cleland tarafından keşfedilmiştir. Bu bilinmeyen ağaç daha sonraları Mulanje Sediri (*W. whytei*) adını almıştır. Mulanje sediri ilk olarak Whyte (1893) tarafından teşhis edilmiş ve daha sonra da Rendle (1894) tarafından isimlendirilmiştir. Ticari sömürge 1898’de başladı ve geniş ormanlık alanların temizlenmesiyle 1955’e kadar devam etti. Bu alan 1927 yılında İngiliz yetkililer tarafından (Malawi Nyasaland’ın himayesi altında iken), istismar edilen plato alanlarını daha iyi korumak ve yönetmek için Mulanje Dağı Ormanlık Reservi olarak yayımlandı. Mulanje Sediri 1984 yılında dönemin son başkanı Dr. Hastings Banda tarafından Malawi’nin ulusal ağacı ilan edildi ve Mulanje Dağı ekosisteminin hassas dengesini sağlayan ağaç olarak sembolize edildi (Bayliss ve ark., 2007).

Mulanje Sediri, 40 m boy ve 1 m çapı aşan büyüklüklere erişebilmektedir. Mulanje Sediri’nin önemi sadece kendi benzersizliğinden ve nadir bulunmasından değil, aynı zamanda mükemmel bir inşaat kerestesi, hafifliği, termitlere, ahşap delicilere ve mantar saldırılarına karşı dayanıklılığından ileri gelmektedir. Bu ağaçtan elde edilen ahşap dayanıklı ve güzel kokuludur. Kapsamlı inşaat işleri, mobilya ve paneller için kullanılmaktadır (Makungwa, 2004). Ağaçtan elde edilen talaş distile edilerek yağ elde edilir ve bu yağ yerel olarak ve böcek kovucu olarak kullanılmaktadır (http-2).

Uçucu Yağların Tanımı ve Özellikleri

Uçucu yağlar, güçlü bir koku ile karakterize edilen ve sekonder metabolitler gibi bitkiler tarafından oluşturulan uçucu, doğal, kompleks bileşiklerdir (Bakkali ve ark., 2008). Genellikle kokulu olan bu maddeler yağ görünümünde olduklarından “esans”, “uçucu yağ” veya “eterik yağ” olarak adlandırılırlar (Başer, 2009). Bir başka kaynakta ise uçucu yağlar, bitkilerin bazı kısımlarından elde edilen aromatik yağimsı sıvılar olarak tanımlanmıştır (Burt, 2004).

Uçucu yağlar, çoğunlukla Akdeniz ülkeleri gibi ılıman ülkelerde ve tropikal ülkelerde yetişen çeşitli aromatik bitkilerden elde edilir. Türkiye’yi de içine alan Akdeniz Bölgesi uçucu yağ taşıyan bitkiler açısından en zengin bölgelerden biridir (Bakkali ve ark., 2008; Tanker ve Tanker, 1985).

Uçucu yağlar, bitkilerin başta çiçek ve yaprakları olmak üzere herhangi bir organında (herba, kabuk, kök, odun, meyve, tohum, sap, dal) bulunabilirler. Bazen bitkinin bütün dokularında, bazen de sadece özel organ ve dokularında meydana gelirler. Uçucu yağlar bitkinin bağlı olduğu familyaya göre belirli bir oranda salgı tüylerinde, salgı kanallarında, salgı hücrelerinde ve salgı ceplerinde bulunurlar (Benchaar ve ark., 2008; Arıdoğan ve ark., 2002). Bazen, Piperaceae familyasında olduğu gibi, değişikliğe uğramış parankima hücrelerinde, bazen de, gülde olduğu gibi, epiderma ya da parankima hücrelerinde dağılmış olarak bulunur. Lamiaceae familyası bitkilerinde uçucu yağlar bitkinin yüzeyindeki salgı tüylerinde bulunurlar. Bu yüzden örneğin nane yaprağının yüzeyini hafifçe ovuşturduğumuzda salgı tüyünün cidarını oluşturan kutikula yırtılır ve uçucu yağ açığa çıkar. Oysa, defne veya ökaliptus’ta uçucu yağ yaprağın yüzeyaltında bulunduğundan yaprağın kokusunu alabilmek için yaprağı ovuşturmak yeterli olmaz, yaprağın parçalanması gerekir. Aynı şekilde rezene, anason gibi maydonozgiller (Apiaceae) meyvelerinin de uçucu yağları ancak parçalandıklarında açığa çıkar.

Bazı hallerde uçucu bileşikler şekerlerle bağlanıp glikozit haline geçerler. Böyle durumlarda, uçucu yağ elde etmek için glikozit bağının enzimatik veya kimyasal yolla hidrolizi sonucu uçucu bileşiğin açığa çıkarılması gerekir (İşcan, 2002; Başer, 2009).

Uçucu yağın bitkide ya doğrudan doğruya protoplazmada olduğu veya hücre çeperinin özel bir tabakasında meydana geldiği ileri sürülmektedir. Çoğunlukla serbest haldedirler ve bunlara gerçek uçucu yağ denir. Bazen de belirli bazı glikozitlerin hidrolizi sonucu ortaya çıkarlar (Baytop, 1986; Tanker ve Tanker, 1985).

Bitkide herhangi bir biyolojik olaya katılmayan bu salgı maddelerinin hangi amaçla olduğu tam olarak bilinmemektedir. Ancak, bitkinin artık metabolizma ürünlerinin atılmasında rol oynadıkları yani detoksifikasyon ürünü oldukları ileri sürülmektedir (Koltuksuz, 2007). Bitki için gerekli oksijeni sağlarlar. Uçucu yağların yaydıkları koku ile böcekleri cezbederek tozlaşmaya yardımcı olduğu, böcekleri kaçıracı etkide olanların ise bitkinin korunmasında etkili olduğu düşünülebilir. Ayrıca uçucu yağ taşıyan bitkilerin genellikle Akdeniz ve step iklimleri gibi sıcak iklimlerde fazla yetişmesi nedeniyle uçucu yağın bitkinin üzerindeki havayı bağlayarak fazla su kaybını önlediği düşünülmektedir (Tanker ve Tanker, 1985; Baytop, 1986; Demirçakmak, 1994).

Uçucu yağlar genellikle hidrokarbonlar ve hidrokarbonların oksijenli türevlerinden meydana gelirler. Bu türevler arasında alkoller, asitler, esterler, aldehitler, ketonlar, fenol ve fenol eterleri, kinonlar, laktonlar, furan türevleri, oksitler, aminler ve kükürtlü bileşikler de yer alır. Bu hidrokarbonların çoğu terpenoit kökenlidir. Çok az bir kısmında aromatik benzen türevleri terpenlerle karışım halindedir. Terpenler $(C_5H_8)_n$ genel formülüne uyan hidrokarbonlardır ve farklı sayıda izopren molekülünün kondensasyonu ile meydana gelirler. Uçucu yağlarda mono, seski, diterpenler ve bunların oksijenli türevlerine rastlanır. Terpenlerin oksitlenmesiyle oluşan oksijenli türevler yağa özgü tat ve koku veren bileşiklerdir. Bu oksijenli türevler alkol, keton, ester, aldehit, oksit, eter ve bunlara benzer yapılarda bulunabilirler. Daha yüksek moleküllü olanlara reçine, lateks vb. formlarda çeşitli bitkilerde rastlanmaktadır. Uçucu yağlar glikozit halinde veya reçinelerle (oleorezin) ve zamkla (oleogummirezin) birlikte bulunabilirler (Başer, 2006; Başer ve ark., 2005; Dorman ve Deans, 2000; Evans, 2008).

Uçucu yağların kırılma indisleri yüksektir, çoğunluğu optikçe aktiftir ve spesifik çevirmeleri uçucu yağı tanıtmaya yarayan önemli özelliklerinden biridir. Kırılma indisinde ve polarize ışığı çevirme derecesinde olagelen değişimler, uçucu yağın saflığının bozulduğunu gösterir. Uçucu yağlardan elde edilen bazı maddelerin doğal ya da yapay yolla elde edildiğini, maddenin polarize ışığı çevirme açısını saptamak suretiyle anlama olanağı vardır (Tanker ve Tanker, 1985; Oflaz, 2001).

Uçucu yağlar genellikle suda az, etanol, benzen, eter, petrol eteri gibi organik çözücülerde ve sabit yağlarda çok çözünürler. Sulu etanolde çözünebilme uçucu yağları sabit yağlardan ayıran özelliklerden biridir ve belli derecedeki etanolde çözünürlük oranı da uçucu yağların saflık kontrolünde yararlanılan özelliklerindedir. Yağların hacim olarak ne miktarda sulu etanolde berrak olarak çözüldüğü farmakopelerde belirtilmiştir. Uçucu yağlar, karanfil, tarçın yağı gibi birkaçı hariç, sudan hafif olduklarından suyun üzerinde yüzerler ve bu şekilde damıtıldıktan sonra sudan kolaylıkla ayrılarak elde edilirler. Ancak bileşimindeki oksijenli bileşiklerin bir kısmı suda çözünürler. Bu özelliklerinden yararlanılarak aromatik sular hazırlanabilmektedir (Bakkali ve ark., 2008; Tanker ve Tanker, 1985; Başer, 2009).

Uçucu yağlar uzun süre bekletildiklerinde oksitlenebilir, reçineleşebilir ve renkleri koyulaşabilir. Sabit yağlardan farklı olarak emici bir kağıda damlatılıp, açığa bırakıldıklarında hiçbir iz bırakmadan uçarlar. Havadan, ışıktan ve ısıdan olumsuz yönde etkilenip, özelliklerini yitirdiklerinden, renkli cam veya alüminyum kaplarda, ağzına kadar dolu ve sıkıca kapalı şekilde, serin yerde saklanmalıdırlar. Uçucu yağın içerdiği su da kimyasal kurutma ve süzme yöntemleriyle tamamen uzaklaştırılmalıdır (Koltuksuz, 2007; Başer, 2009).

Uçucu yağlar parfümeride, aromaterapide, kozmetikte, tütsü olarak, yiyecek ve içeceklerin tatlandırılmasında, tıpta ve ev temizlik ürünlerinde kullanılır. Bu yağlar koku ve tat özelliklerinden dolayı gıda sanayisinde önemli bir konuma sahiptir. Aynı zamanda da eczacılıkta, ilaçların koku ve tatlarını düzeltici olarak kullanılırlar (Başer, 2009; Tanker ve Tanker, 1985).

Uçucu yağlar, yükte hafif, pahada ağır ürünlerdir. Örneğin, 1 kg gül yağı elde etmek için 3,5 ila 4 ton taze gül çiçeğinin distile edilmesi gerekir. Uçucu yağın kalitesini içerdiği uçucu bileşikler belirler. Bir uçucu yağın bileşiminde bazen irili ufaklı yüzlerce bileşik bulunabilir. Bu bileşikler Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi (GK/KS) ile birbirinden ayrılarak tanımlanırlar. Kaliteyi etkileyen faktörlerin başında koku ve kimyasal bileşim gelir. Her uçucu yağda, yağa karakteristik özelliğini veren doğal kimyasalların, belli oranlarda bulunması ve istenmeyen kimyasalların ise bulunmaması veya çok az oranda bulunması gerekir (Başer, 2009).

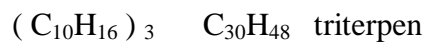
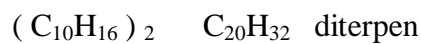
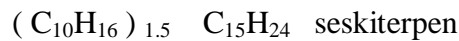
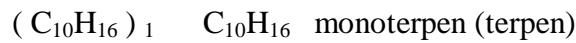
Uçucu yağların kimyasal yapısı

Uçucu yağlar genellikle terpenik kökenli hidrokarbonlar ve bunların oksijenli türevlerinden meydana gelirler. Terpenoitler, doğal ürünler içerisinde uçucu yağlar kadar ilgi çeken önemli bir gruptur. Terpenoitler yapısında beş karbon bulunduran izopren (**Şekil 5**) moleküllerinin kondensasyonu ile meydana gelirler (Bakkali ve ark., 2008). İzopren molekülü uçucu yağlarda sıklıkla bulunmaz. Ayrıca biyosentezlerinde de ara molekül değildir. Fakat terpenoidlerin yapısında 2-metilbütan molekülü kolaylıkla ayırt edilebilir.



Şekil 5. İzopren Molekülü

İki izopren molekülünden oluşan on karbonlu terpenlere (C₁₀) "monoterpen" adı verilmektedir. Bu isimlendirmeye göre izopren (C₅) "hemiterpen" adını alır; onbeş karbonlu terpenik bileşikler (C₁₅) "seskiterpen", yirmi karbonlular (C₂₀) "diterpen", otuz karbonlular (C₃₀) "triterpen" ve çok sayıda izoprenin kondensasyonu ile meydana gelen terpenler ise "politerpen" adını almaktadır.



Monoterpenler uçucu yağ bileşimlerinde en yüksek oranlarda (90%) bulunan moleküllerdir. Turunçgil kabuklarında bulunan limonen, çam yapraklarında ve zamkındaki α -pinen monoterpenlerin en çok tanınanlarıdır. Seskiterpenlerden ise kereviz yağının taşıdığı β -selinen, ardıç ve sedir yağındaki kadinen ve vadi zambağından elde edilen farnesol en yaygın bilinenlerdir. β -karoten en çok bilinen tetraterpendir. (Tyler ve ark., 1988; Heath, 1981; Tanker ve Tanker, 1985).

Uçucu Yağların Elde Edilme Yöntemleri

Uçucu yağlar, yağı taşıyan bitki kısımlarından, genellikle distilasyon yoluyla elde edilirler. Uygulanan yöntem, bitkinin durumuyla ve çeşitli koşullarla bağlantılıdır (Tanker ve Tanker, 1985).

Distilasyon

Uçucu yağların elde edilmesinde en çok kullanılan yöntemdir. Su buharı ile uçucu yağ sürüklenir. Böylece diğer uçucu olmayan bileşiklerden ayrılır. Su buharı ile sürüklenen yağ soğutucuda yoğunlaşarak toplama kabında yoğunluğuna göre suyun altında veya üstünde birikir (Koltuksuz, 2007).

Uçucu yağ elde etmek için yapılan su distilasyonu, buhar distilasyonu veya su-buhar distilasyonu sırasında, yan ürün olarak yağ altı suyu elde edilir. Yağaltı suyu, çoğunluğunu suda çözünen oksijenli bileşiklerin oluşturduğu üründür. Yağaltı suyu hidrosol olarak da adlandırılır ve çözelti veya süspansiyon halinde bir miktar uçucu yağ içerir. Bitkinin birçok tedavi edici özelliğini taşır, cilt bakımında tonik olarak kullanılır. Dahilen kullanım gibi bazı durumlarda aromatik su saf uçucu yağa tercih edilebilir. Daha seyreltik tedavi gerektiğinde bu aromatik sular kullanılabilir (Kırimer ve ark., 2002; Koltuksuz, 2007).

Endüstride başlıca üç tip distilasyon uygulanır:

- Su distilasyonu
- Buhar distilasyonu
- Su-buhar distilasyonu

Su distilasyonu

Su distilasyonu bitki materyalinin su ile birlikte kaynatılmasıdır. Buharlaşan su ve yağ'ın bir soğutucuda yoğunlaştırılıp Florentin kabı olarak adlandırılan toplama kabında toplanır. Florentin kabında yağ ile su yoğunlukları farklı olması nedeniyle birbirinden ayrılır. Gül yağı bu yöntemle elde edilir (Başer, 2009).

Buhar Distilasyonu

Buhar distilasyonunda bitki materyali delikli metal sepete veya çelik elekler arasına yerleştirilir ve ayrı bir yerde üretilmiş su buharı kazanın alt tarafından verilir. Buhar bitki materyalindeki uçucu bileşikleri sürükler ve soğutucuda kondense edildikten sonra Florentin kabında yağ sudan ayrılarak uçucu yağ elde edilir. Uçucu yağ üretiminde endüstriyel anlamda en yaygın kullanılan distilasyon yöntemidir (Başer, 2009).

Su-buhar distilasyonu

Bu yöntem buhar distilasyonuna benzer ancak distilasyon işleminde kullanılan buhar ayrı bir yerde değil buhar kazanının altında kaynatılan suyla gerçekleştirilir. Genellikle köylerde uygulanan bir yöntemdir. Bu yöntemle su distilasyonuna nazaran daha kısa sürede, daha az hidroliz olmuş, yüksek verimli uçucu yağ elde edilebilir (Başer, 2009).

Kohobasyon yöntemi genellikle su ve su-buhar distilasyonu yöntemlerinde uygulanan bir tekniktir (Handa, 2008). Bu teknikte distilasyon sırasında yağ alınmış olan yağ altı suyu bir düzenekle üstten sürekli kazana beslenerek tekrar distile edilir (Başer, 2009). Bu işlem suda çözülmüş oksijenli bileşiklerin ve özellikle fenollerin kaybını en aza indirecek tarzda yapılır (Lawrence, 1995).

Mobil distilasyon yönteminde, mekanik olarak hasat edilip, tarlada soldurması tamamlanan bitki materyali tekerlekli kazanlara doldurulur. Bu mobil birimler daha sonra merkezi bir yerde kurulan distilasyon tesisine getirilir. Bu tesisler aynı anda çok sayıda mobil kazanı işleyebilecek şekilde tasarlanmıştır. Mobil kazanların her birine alttan buhar verilir ve üstten çıkan hortum ortak bir boru sistemiyle soğutucu ünitesine yönlendirilir. Yağ, diğer distilasyon sistemlerinde olduğu gibi Florentin kabında ayrılarak elde edilir. Distilasyonu tamamlanan mobil ünite boşaltıldıktan sonra tekrar tarlaya gönderilir. Bu yöntem daha çok nane, lavanta, adaçayı gibi bitkilerin büyük çaplı tarımının yapıldığı durumlarda ekonomik bulunan bir distilasyon tekniğidir (Başer, 2009).

Sonsuz vida sistemiyle çalışan sürekli distilasyon sistemi son 30-35 yıldır Rusya'da kullanılan bir tekniktir. Bu yöntemde ince toz edilmiş bitki materyali sonsuz vida sistemiyle ağır ağır hareket ederken, zıt akım prensibiyle gönderilen buhar yardımıyla distilasyon işlemi gerçekleştirilir. Bu teknik ticarete sedir odunu, rezene, çam, ardıç distilasyonu ve fermente üzümlerden etanol üretimi için kullanılmaktadır (Başer, 2009).

Hidrodifüzyon, buharın alttan değil üstten beslendiği bir buhar distilasyonu sistemidir. Üstte materyal içine verilen buhar kondanse olup yağın difüzyonla dokuların dışına çıkmasını sağlar ve yerçekiminin de etkisiyle dipten sistemi terk eder. Bitki materyalinin ince toz edilmesi yağ verimini artırır ve bu teknik hem yüzeyüstü hem de yüzeyaltı yağlarının üretimi için uygundur. Bu yöntemle genellikle yüksek yağ verimleri elde edilir. Bunun nedeni, uçucu yağlar yanında sabit yağlar, kumarinler, psoralenler, klorofiller gibi az uçucu maddelerin de ekstre olmasıdır. Bu nedenle, hidrodifüzyon tekniğinin ticarete kullanımı yaygınlaşmamıştır (Başer, 2009).

Distilasyonla elde edilen ürünlere "uçucu yağ" denir. Aromatik materyelden ekstraksiyonla elde edilen ürünler başka isimlerle anılırlar. Konkret, taze aromatik bitki materyalinin bir hidrokarbon çözücüsüyle tüketilmesi sonucu elde edilen bir üründür. Çözücünün alçak basınç altında uzaklaştırılmasıyla elde edilen katı ekstre uçucu yağ ihtiva eder. Absolü, konkretin etanolla ekstraksiyonu sonucu elde edilir. Etanollü ekstrenin örn., -15°C gibi düşük sıcaklıklara soğutulması ile numular katı hale gelir. Soğukta süzülükten sonra alçak basınç altında alkolü uzaklaştırılan ürün uçucu yağca zengin, koyu renkli bir sıvı veya yarı-katıdır. Pomat, anfloraj yöntemiyle elde edilmiş üründür. Ekstre, pomattan elde edilen absolüye verilen isimdir. Rezinoit, ticarete oleozin olarak da bilinir. Kuru bitki

materyali kullanılarak hazırlanan konkruttur. Ekstre, bitki materyalinin etanol gibi polar bir çözücü ile muamelesini takiben çözücünün alçak basınç altında uzaklaştırılması ile elde edilir. Tentür, bitki materyalinin etanollü sıvı ekstresidir. Balzam, bir ağaç veya çalının gövde veya dallarında yapılan yaralama sonucu akan hoş kokulu yarı-katı üründür. Terkibinde yüksek oranda bulunan benzoik ve sinamik asitler ve esterleriyle karakterize edilirler. Oleorezin, bir ağaç veya çalının gövde veya dallarında yapılan yaralama sonucu elde edilen ve terkibinde reçine yanında yüksek oranda uçucu yağ bulunan doğal üründür. Oleogumrezin, oleorezin gibidir ama zamk ta ihtiva eder (Başer, 2006; Başer, 2009).

Uçucu Yağlardaki Enantiomerik Maddelerin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler ve Uçucu Yağların Enantiomerik İçerikleri

Uçucu yağlar başlıca mono-ve seskiterpenlerden oluşan değişik koku ve tada sahip olan madde karışımlarıdır. Uçucu yağların kokuları genellikle bir ya da daha fazla maddeden kaynaklanır. Çoğu zaman bir maddenin enantiomerleri farklı kokuya sahiptir. Onun için bu maddelerin enantiomerik bileşimlerinin belirlenmesi uçucu yağların kalitelerinin değerlendirilmesinde önem taşır. Öte yandan, bazı bileşiklerin enantiomerik oranlarının uçucu yağların özgünlüğü için belirleyici olduğu ispatlanmıştır (nanede bulunan mentol gibi). Bu nedenle, uçucu yağların analizleri iki görüş bildirir; maddelerin belirlenmesi ve enantiomerik dağılımın belirlenmesi.

Bileşenlerin belirlenmesi, tipik olarak gaz kromatografisinin farklı polariteli kolonlardaki tutunma indeks değerleriyle birlikte kütle ya da infrared spektral verileri ile gerçekleştirilir. Buna rağmen modern cihazların yanlış kullanıldığı ve suistimal edildiği gözlenmekte ve birçok farklı tekniğin kullanılması tavsiye edilmektedir. İkinci bir yaklaşım yararlanılan kaynaklarla birlikte NMR'ını içerdiği spektral verilerin karşılaştırılmasıyla belirlenen her bir ürünün izolasyonunu içerir. Bu teknik çok randımanlı fakat bir o kadar da zaman kaybına neden olan bir tekniktir. Üçüncü yol; uçucu yağların içerdiği maddelerin, ayrımı yapılmadan önce ¹³C-NMR spektroskopisi ile belirlenmesinden oluşur. Bu metot uçucu yağlarda % 0.5' ten az bulunan terpenlerin de doğrudan belirlenmesine izin verir ve kimyasal polimorfizm çalışmaları için de uygundur.

Enantiomerik türevler konusunda genellikle şiral GK metodu kullanılır. Bu konuda farklı yaklaşımlar görülmektedir. Bunlar;

- a) Karışımın şiral kolona doğrudan uygulanması (Buna rağmen, piklerin kimliklerini doğrulamak için belirlemelerin kesinliği sıklıkla bir KS sistemi gerektirmektedir).
- b) Kromatografik bir teknikle önceden saf hale getirilen maddelerin her bir enantiomerlerinin şiral kolonda ayrımı.
- c) Numunenin kromatografi sistemine doğrudan enjekte edilmesine izin veren çok boyutlu gaz kromatografisinin kullanımı (Ristorcelli ve ark., 1998).

Enantiomerlerin ayırımında Gaz Kromatografisi (GK) ve Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (YPSK)' nin yeri

Şıral ayırım biyosistemlerin aktivitesinde merkezi bir rol oynamaktadır. Gil-Av, Feibush ve Charles-Sigler' in (Gil-Av ve ark., 1967) daha önceden yapmış oldukları çalışmalardan bu yana zamanında imkânsız olan fakat şu an rutin bir şekilde yapılan analizlerde hızlı bir ilerleme kaydedilmiştir. Bugün fen ve teknoloji istenilen materyellerden birçok farklı ayırımın yapılabildiği noktaya gelmiştir. Bunlar arasından YPSK ve GK enantiomerlerin, diastereomerlerin, atropizomerlerin ve pozisyonel izomerlerin ayırımı ve miktar analizleri için güvenilen ve çoğunlukla benimsenen analitik tekniklerdir. Ayırım tekniklerinin seçimi şıral moleküllerinin özelliklerine göre yapılır. GK genellikle uçucu ve sıcaklıkla değişmeyen örneklerin analizleri için kullanılır. Diğer kromatografik metotlarla karşılaştırılırsa, şıral kapiler GK yüksek verim, hassasiyet ve üretkenlik avantajlarını sağlar. Kütle spektroskopisi (KS), elektron yakalama dedektörü (ECD), tepe boşluğu ekstraksiyonu ve kapsamlı ve iki boyutlu GK (GC×GC) gibi yardımcı teknikler çevresel, biyolojik, zirai, besin ve uçucu yağ numunelerini içeren karmaşık matrislerdeki enantiomerlerin analizi için şıral GK'ni ideal bir seçim yapar.

Enantiomerler, kapiler GK kullanılarak doğrudan veya dolaylı metotlarla ayrılabilirler. Dolaylı yaklaşım, enantiomerlerin homoşıral ayıraçlar kullanılarak aşıral GK kolonunda ayırımına takiben diastereomerlere çevrildiği ön-kolon türevlendirmesini içerir.

Enantiomerlerin GK' de doğrudan ayırımının başarısı hızlıca ve ters çevrilebilir şekilde hedeflenen şıral moleküllerle geçici diastereomerlerin biçimlendirilebildiği (CsPs) şıral hareketsiz fazlardan yararlanmaya bağlıdır. Doğrudan uygulanan metotlar, dolaylı metotdaki şıral türevlendirme yöntemleri ile ilgili olan bütün problemleri çözer ve önler (He ve Beesley, 2005).

YPSK yöntemi ile enantiomer oranlarının belirlenmesi iki farklı metotla gerçekleştirilmektedir. Birincisi şıral hareketsiz veya hareketli fazları kullanarak ya da diastereomerlere türemeyele elde edilebilen kromatografik enantiomer ayırımı için uygulanır. İkincisi ise optik rotasyon ve UV absorpsiyonunun eşzamanlı dedekte edilmesine dayanan bir metottur. İkinci metotta açıkça ifade edilen, *d*- ve *l*- tip optik rotasyonların toplamı ve toplam UV absorpsiyon miktarı sırasıyla polarimetrik dedektör ve UV dedektörle tespit edilmektedir. *d/l* oranı, *d*- ve *l*- izomerlerin polarimetrede ve UV dedektörde bilinen miktarları için verdiği yanıt ile belirlediğimiz kalibrasyon eğrisinden elde edebiliriz. *d/l* nin "1" olduğunu farzederek polarimetreden elde edilen sonuç "0" olur. Oysa UV dedektör ile elde edilen değer toplam miktarla açıkça orantılıdır. Bu metodun birinci metoda göre avantajı optik izomerlerin kromatografik ayırımının gerekli olmamasıdır. Bu nedenle enantiomerlerin ayırımı zor olduğunda bu metot daha kullanışlıdır. Bu nedenle permetik asit pentafluorobenzyl esterlerinin, *d,l*-epinefrinin, piretroitlerin, aminoasitlerin ve DP-1904' ün enantiomerlerinin oranlarının belirlenmesinde bu strateji kullanılmıştır (Bounoshita ve ark.,1993).

GEREÇLER

Kullanılan Maddeler

Bitkisel Materyal

Çizelge 1. Tez çalışmalarında kullanılan bitki türlerine ait veriler

BİTKİ ADI	TOPLANDIĞI YER
<i>Ammi visnaga</i>	Antalya Çakallık Mevki (12.07.07)
<i>Matricaria chamomilla</i>	T.M.O. bahçesi Eskişehir (31.05.1994)
<i>Juniperus sabina</i>	Kazakistan (13.03.2001)
<i>Widringtonia whytei</i> (Mulanje Sediri)	Nyasaland (05.11.96)

Kimyasal Maddeler

Deneysel çalışmalarda kullanılan tüm kimyasal maddeler analitik kalitede, kullanılan su ultra saf bidistile sudur (18 megaohm).

Kullanılan Cihazlar

- Clevenger apareyi (1 mL ölçekli)
- Çalkalayıcı (Eppendorf)
- Etüv (Binder)
- Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi (Agilent 5975 GC-MSD ve Agilent 6890N GC-FID)
- Gaz Kromatografisi/Gerstel Preparatif Fraksiyon Toplayıcı (Agilent 7890A/PFT)
- Nükleer Manyetik Rezenans Spektroskopisi Sistemi (NMR) (Varian-NMR Mercury-400BB, 400 MHz)
- Polarimetre (Krüss P-8000T)
- Ultrasonik banyo (Bandalin Sonorex)
- Vorteks karıştırıcı (Heildolph)
- Steril Kabin (Esco EN1822)

YÖNTEMLER

Yapılan Deneysel Çalışmalar

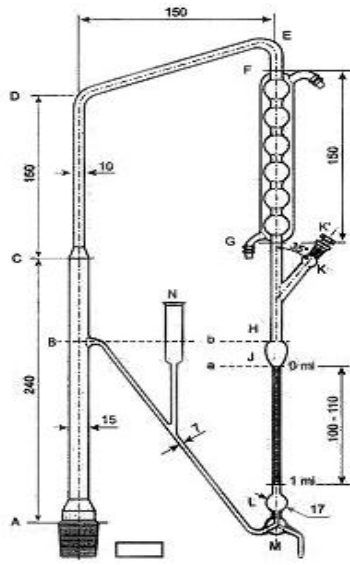
Bu bölümde **Çizelge 1**'de belirtilen bitki türlerinin uçucu yağlarının eldesi, analitik çalışmalar, uçucu yağlardan ana bileşenlerin izolasyonları ve bu uçucu bileşenler ile yapılan antibakteriyel ve antikandidal aktivite çalışmaları hakkında bilgi verilmektedir

Distilasyon işlemleri

Bitkisel materyallerden uçucu yağ elde edilmesi için laboratuvarında Clevenger apareyinde su distilasyonu işlemi yapıldı.

Su distilasyonu

Laboratuvarında Clevenger aпаратыnde yapılan su distilasyonu işleminde **Çizelge 1** de belirtilen bitki türlerinden *A. visnaga*'dan 105 g, *M. chamomilla*'dan 98 g tartılarak 2 litrelik balona dolduruldu. Balonun 2/3'ne kadar distile su ilave edilerek 3 saat süreyle distilasyon işlemi yapıldı. Üç saatin sonunda elde edilen uçucu yağ alındı. Susuz sodyum sülfat ile suyundan uzaklaştırıldıktan sonra analiz ve izolasyon çalışmalarına kadar +4°C de buzdolabında muhafaza edildi. Bitki türlerinden *J. sabina* ve *W. whytei*'nin uçucu yağları çizelge 1'de belirtilen tarih ve yerlerden bölümümüze getirilmiştir. Deneysel çalışmalarda elde edilen ve temin edilen bu yağlar kullanıldı. Su distilasyonu için kullanılan Clevenger aпараты **Şekil 6**'da gösterilmiştir.



Şekil 6. Clevenger aпараты
(Türk Farmakopesi, 2004)

Analitik çalışmalar

- Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi Sistemi (GK/KS) ve Gaz Kromatografisi (GK-FID) ile uçucu yağların kimyasal analizi
- Gaz Kromatografisi/Preparatif Fraksiyon Toplayıcı Sistemi (GK/PFT) ile uçucu yağlardan ana bileşenlerin izolasyonları
- Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) yöntemi ile *Ammi visnaga* L. (Lam.) bitkisinde bulunan A kodlu bileşiğin tayini
- Uçucu yağların ve uçucu yağlardan izole edilen ana bileşenlerin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi
- Enantiomerik maddelerin optik çevirme açılarının ölçülmesi
- Enantiomerik maddelerin şiral kolon ile GK/KS sisteminde analizleri

Gaz kromatografisi/Kütle spektrometrisi (GK/KS) ve Gaz kromatografisi (GK/FID) ile uçucu yağların kimyasal analizi

Elde edilen uçucu yağların eş zamanlı gaz kromatografisi ve gaz kromatografisi/kütle spektrometrisi sistemi ile analizleri gerçekleştirildi. GK sisteminde kolonda ayrılan bileşikler FID dedektör ile tespit edilerek bileşiklerin bağlı yüzdeleri belirlendi. GK/KS (Şekil 7) sistemine ait kolonda ayrılan bileşiklerin kütle spektrometrisi kısmında tek tek kütle spektrumları alındı. Değerlendirme işlemleri "Başer Uçucu Yağ Bileşenleri Kütüphanesi" yanı sıra Wiley GK/KS, Adams ve MassFinder 2.1 Kütüphane Tarama Yazılımları kullanılarak yapıldı.



Şekil 7. Gaz kromatografisi/Kütle spektrometrisi (GK/KS)

GK Analiz Koşulları

Sistem: Agilent 6890N GC

Kolon: HP-Innowax (60 m x 0.25 mm Ø, 0.25 µm film kalınlığı)

Taşıyıcı Gaz: Helyum (0.8 mL/dk.)

Sıcaklıklar

Enjeksiyon: 250 °C

Kolon : 60 °C'de 0 dk., 20 °C /dk. artışla 240 °C'ye, 240 °C'de 6 dk.,
Toplam 15 dk.

Split Oranı: Splitsiz

Detektör: 300 °C, FID (Alev iyonlaşma dedektörü)

GK/KS Analiz Koşulları

Sistem: Agilent 5975 GC-MSD

Kolon: HP-Innowax (60 m x 0.25 mm Ø, 0.25 µm film kalınlığı)

Taşıyıcı Gaz: Helyum (0.5 mL/dk.)

Sıcaklıklar

Enjeksiyon: 250 °C

Kolon : 60 °C'de 0 dk., 20 °C/dk. artışla 240 °C'ye, 240 °C'de 6 dk.,
Toplam 15 dk.

Split Oranı: Splitsiz

Elektron Enerjisi: 70 eV

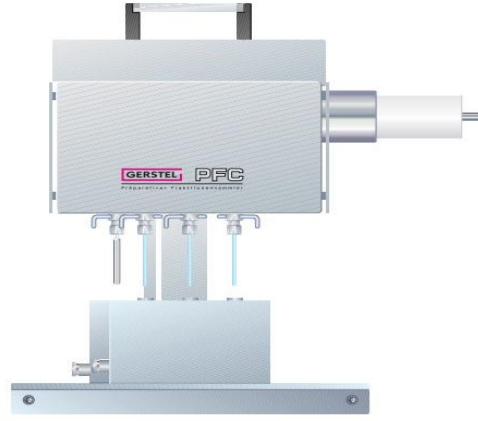
Kütle Aralığı: 35-450 *m/z*

Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi

Ammi visnaga uçucu yağında tespit edilen A kodlu bileşik tayini Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi ile yapıldı. ¹H NMR (400 Mhz) , ¹³C NMR (100 Mhz) ayrıca iki boyutlu spektrumların ölçümleri, Varian-NMR Mercury-400BB sistemi ile ABD Tarım Bölümü, Tarımsal Araştırma Servisi, Doğal Ürünler Kullanımı Araştırma Birimi'nde yapılmıştır. NMR çözücüsü olarak dötoro-kloroform (CDCl₃) kullanılmıştır. Kimyasal kayma değerleri ppm olarak verilmiş kalibrasyon çözücü pikine göre yapılmıştır.

Gaz Kromatografisi/Preparatif Fraksiyon Toplayıcı Sistemi (GK/PFT) İle Uçucu Yağlardan Ana Bileşenlerin İzolasyonları

Preparatif Fraksiyon Toplayıcı (PFT) (Şekil 8) sistemi gaz kromatografisi ayrımı sonucu kolondaki tutunma zamanları belirlenen maddeleri otomatik olarak toplayabilen bir sistemdir. PFT'nin 6 örnek toplayıcı tuzağı ve 1 atık tuzağı bulunmaktadır. Tuzaklar toplanacak fraksiyonun miktarına göre 1µl veya 100 µl olarak ayarlanabilmektedir. En uygun madde kazanımı için, PFT isteğe bağlı olarak LN2 tuzak soğutma veya krayostatik (cryostatic) tuzak soğutma sistemleri ile donatılabilmektedir. PFT bir bileşiğin, bir dizi bileşiğin veya belirli sınıflardaki bileşiklerin toplanabilmesine olanak sağlamaktadır. Mikroişlemci kontrolü sayesinde, tuzaklara 0.01 dakikalık zaman periyotlarında yönlendirme yapılabilmektedir. Bu özelliği sayesinde kromatografik olarak birbirlerine çok yakın gelen maddelerin de hassas ve güvenli bir şekilde toplanmasını sağlar. PFT'nin güvenilirliği ve tekrarlanabilirliği, bileşiklerin ard arda yüzlerce kez enjeksiyonunu mümkün kılmaktadır (http-3).

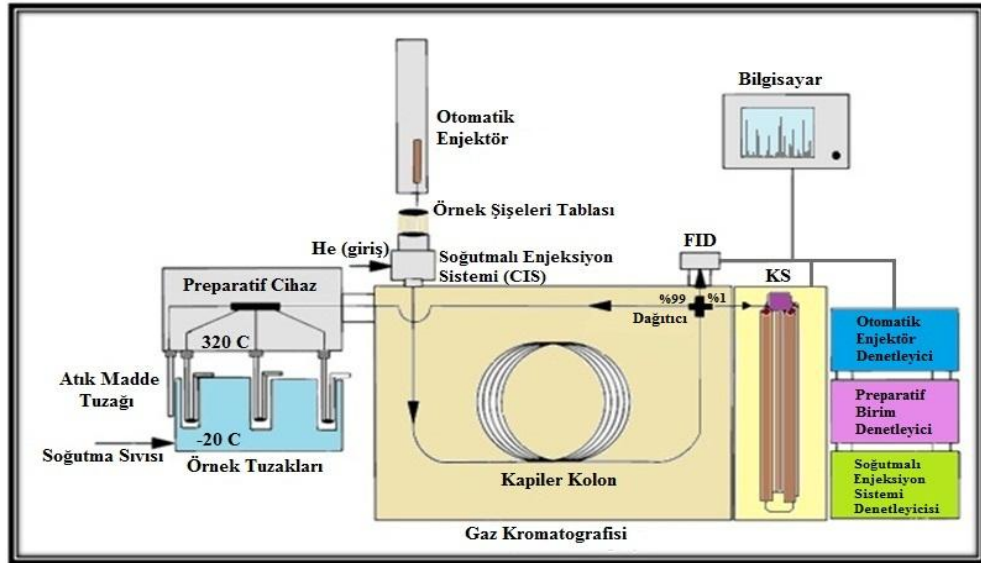


Şekil 8. Preparatif Fraksiyon Toplayıcı (Gerstel)

Laboratuvarda elde edilen uçucu yağların analitik çalışmaları yapıldıktan sonra ana bileşenleri tespit edildi. Daha sonra uçucu yağlar Gerstel Preparatif Fraksiyon Toplayıcı (PFT) ile eş zamanlı çalışan Agilent 7890A Gaz Kromatografi-GK/PFT sistemine (Şekil 9) enjekte edildi. Enjeksiyon tamamlandıktan sonra izole edilecek maddelerin kromatografik olarak ayırım yerleri tespit edildi. Maddeler bu zaman aralıkları süresince PFT’da toplandı. Ardı ardına yapılan enjeksiyonlar sonunda toplanan maddelerin miktarları belirlendi. Yeterli miktara ulaşıldıktan sonra elde edilen maddeler tekrar GK/KS sistemine enjekte edildi. Saflıkları belirlendi. İstenen saflıkta izole edilen maddeler aktivite çalışmalarında kullanılmak üzere koyu renkli şişelerde, +4°C de buzdolabında saklandı.



Şekil 9. Gaz kromatografisi/Preparatif Fraksiyon Toplayıcı (GK/PFT)



Şekil 10. Gaz kromatografisi/Preparatif Fraksiyon Toplayıcı (GK/PFT) şematik görünümü

GK/PFT Sistemi Analiz Koşulları

***Ammi visnaga* (L.) Lam. uçucu yağından A kodlu bileşiğin izolasyonu**

İşleme alınan yağ : *Ammi visnaga*
Kolon : HP Innowax (30 m x 0.53 mm x 1.0 µm film kalınlığı)
Enjeksiyon miktarı : 4 µL

Kullanılan metod

Sıcaklık prg. : 100°C'de 0 dk.; 60°C/dk artışla 230°C'ye ; 230°C'de
9.8333 dk. ; Toplam 12 dk.

Akış prg. : Helyum, 8 mL/dk. ile 12 dk. (ort. hız: 60.849 cm/sn)

Split oranı : Splitsiz

Preparatif Fraksiyon Toplayıcı (PFT) parametreleri

PFT transfer : 230°C

PFT dağıtım : 220°C

PFT tuzak : -30°C

Alınan fraksiyon : A kodlu bileşik (% 97.7)

Rt seçim aralığı : 7.80-9.70 dk.

Fraksiyon kazanım : 2.0 mg/5 enj.

***Matricaria chamomilla* (L.) uçucu yağından Bisabolon oksit izolasyonu**

İşleme alınan yağ : *Matricaria chamomilla*
Kolon : HP Innowax (30 m x 0.53 mm x 1.0 µm film kalınlığı)
Enjeksiyon miktarı : 3 µL

Kullanılan metod

Sıcaklık prg. : 100°C'de 0 dk.; 12°C/dk artışla 230°C'ye ; 230°C'de
8.167 dk. ; Toplam 19 dk.

Akış prg. : Helyum, 10 mL/dk. ile 19 dk. (ort. hız: 72.908 cm/sn)

Split oranı : Splitsiz

Preparatif Fraksiyon Toplayıcı (PFT) parametreleri

PFT transfer : 230°C

PFT dağıtım : 220°C

PFT tuzak : -30°C

Alınan fraksiyon : Bisabolon oksit (% 98.6)

Rt seçim aralığı : 11.10-11.61 dk.

Fraksiyon kazanım : 0.3 mg/enj.

***Matricaria chamomilla* (L.) uçucu yağından α -Bisabolol oksit A izolasyonu**

İşleme alınan yağ : *Matricaria chamomilla*

Kolon : HP Innowax (30 m x 0.53 mm x 1.0 μ m film kalınlığı)

Enjeksiyon miktarı : 3 μ L

Kullanılan metod

Sıcaklık prg. : 100°C'de 0 dk.; 12°C/dk artışla 230°C'ye ; 230°C'de
8.167 dk. ; Toplam 19 dk.

Akış prg. : Helyum, 10 mL/dk. ile 19 dk. (ort. hız: 72.908 cm/sn)

Split oranı : Splitsiz

Preparatif Fraksiyon Toplayıcı (PFT) parametreleri

PFT transfer : 230°C

PFT dağıtım : 220°C

PFT tuzak : -30°C

Alınan fraksiyon : α -Bisabolol oksit A (% 95)

Rt seçim aralığı : 13.10-14.08 dk.

Fraksiyon kazanım : 0.4 mg/enj.

***Juniperus sabina* (L.) uçucu yağından Sabinen izolasyonu**

İşleme alınan yağ : *Juniperus sabina*

Kolon : HP Innowax (30 m x 0.53 mm x 1.0 μ m film kalınlığı)

Enjeksiyon miktarı : 3 μ L

Kullanılan metod

Sıcaklık prg. : 90°C'de 0 dk.; 15°C/dk artışla 230°C'ye ; 230°C'de
2.6667 dk. ; Toplam 12 dk.

Akış prg. : Helyum, 7 mL/dk. ile 12 dk. (ort. hız: 53.397 cm/sn)

Split oranı : Splitsiz

Preparatif Fraksiyon Toplayıcı (PFT) parametreleri

PFT transfer : 230°C

PFT dağıtım : 220°C

PFT tuzak : -30°C

Alınan fraksiyon : Sabinen (% 97.5)

Rt seçim aralığı : 3.00-3.35 dk.

Fraksiyon kazanım : 2 mg/5 enj.

***Juniperus sabina* (L.) uçucu yağından Sabinil asetat izolasyonu**

İşleme alınan yağ : *Juniperus sabina*

Kolon : HP Innowax (30 m x 0.53 mm x 1.0 µm film kalınlığı)

Enjeksiyon miktarı : 3 µL

Kullanılan metod

Sıcaklık prg. : 90°C'de 0 dk.; 15°C/dk artışla 230°C'ye ; 230°C'de
2.6667 dk. ; Toplam 12 dk.

Akış prg. : Helyum, 7 mL/dk. ile 12 dk. (ort. hız: 53.397 cm/sn)

Split oranı : Splitsiz

Preparatif Fraksiyon Toplayıcı (PFT) parametreleri

PFT transfer : 230°C

PFT dağıtım : 220°C

PFT tuzak : -30°C

Alınan fraksiyon : Sabinil asetat (% 97.2)

Rt seçim aralığı : 6.80-7.30 dk.

Fraksiyon kazanım : 1.9 mg/5 enj.

***Widdringtonia whytei* Rendle. uçucu yağından Vidren (Tuyopsen) izolasyonu**

İşleme alınan yağ : *Widdringtonia whytei*

Kolon : HP Innowax (30 m x 0.53 mm x 1.0 µm film kalınlığı)

Enjeksiyon miktarı : 3 µL

Kullanılan metod

Sıcaklık prg. : 100°C'de 0 dk.; 10°C/dk artışla 190°C'ye ; 190°C'de 0
dk.; 80°C/dk. artışla 230°C'ye; 230°C'de 6.5 dk.; Toplam
16 dk.

Akış prg. : Helyum, 8 mL/dk. ile 16 dk. (ort. hız: 60.849 cm/sn)

Split oranı : Splitsiz

Preparatif Fraksiyon Toplayıcı (PFT) parametreleri

PFT transfer : 230°C

PFT dağıtım : 220°C

PFT tuzak : -30°C

Alınan fraksiyon : Vidren (% 95)

Rt seçim aralığı : 7.90-8.78 dk.

Fraksiyon kazanım : 0.5 mg/enj.

Enantiomer Maddelerin Şıral Kolon İle GK/KS Sisteminde Analizleri

Uçucu yağlardan izole edilen maddelerden enantiomerik özelliğe sahip olanlar belirlendi. Bu maddeler enantiomerik ayrımların gerçekleştirildiği Lipodex G şıral kolon ile GK/KS sistemine enjekte edilerek kromatografik analizleri yapıldı.

Enantiomer Maddelerin Optik Çevirme Açılarının Ölçülmesi

Enantiomer maddelerin spesifik optik çevirme açıları **Eşitlik 1**'deki formüle göre hesaplandı. Örneklerin optik çevirme ölçümleri DMSO içerisinde farklı konsantrasyonlarda yapılmıştır.

$$[\alpha]_D^t = \alpha \times 100 / l \times c \quad \text{(Eşitlik 1)}$$

Burada, α : cihazdan okunan çevirme açısı; l: örnek tüpünün uzunluğu (dm); c: konsantrasyon (g/100mL); t: sıcaklık; D: polarize ışığın dalga uzunluğudur.

Şıral Kolon İle GK/KS Sistemi Analiz Koşulları

Şıral kolonda Sabinen'in kromatografik ayrımı

GK Analiz Koşulları

Sistem : Agilent 7890A GC

Kolon : Lipodex G (25 m x 0.25 mm x 0.13 µm film kalınlığı)

Enjeksiyon miktarı : 1 µL

Taşıyıcı Gaz : Helyum (0.8 mL/dk.)

Kullanılan metod

Sıcaklık prg. : 60 °C'de 50 dk., Toplam 50 dk.

Akış prg. : Helyum, 1 mL/dk. ile 50 dk. (ort. hız: 27.114 cm/sn)

Split oranı : 50:1

Detektör: 250 °C, FID (Alev iyonlaşma dedektörü)

GK/KS Analiz Koşulları

Sistem: Agilent 5975C GC-MSD

Kolon: Lipodex G (25 m x 0.25 mm Ø, 0.13 µm film kalınlığı)

Taşıyıcı Gaz: Helyum (0.5 mL/dk.)

Sıcaklıklar

Enjeksiyon: 250 °C

Kolon : 60 °C'de 50 dk., Toplam 50 dk.

Split Oranı: 50:1

Elektron Enerjisi: 70 eV

Kütle Aralığı: 35-450 m/z

Şiral kolonda Sabinil asetat'ın kromatografik ayrımı

GK Analiz Koşulları

Sistem : Agilent 7890A GC
Kolon : Lipodex G (25 m x 0.25 mm x 0.13 μm film kalınlığı)
Enjeksiyon miktarı : 1 μL
Taşıyıcı Gaz : Helyum (0.8 mL/dk.)

Kullanılan metod

Sıcaklık prg. : 60°C'de 0 dk.; 5°C/dk artışla 180°C'ye ; 180°C'de
36 dk. ; Toplam 60 dk.
Akış prg. : Helyum, 1 mL/dk. ile 60 dk. (ort. hız: 27.114 cm/sn)
Split oranı : 50:1

Detektör: 250 °C, FID (Alev iyonlaşma dedektörü)

GK/KS Analiz Koşulları

Sistem: Agilent 5975C GC-MSD
Kolon: Lipodex G (25 m x 0.25 mm Ø, 0.13 μm film kalınlığı)
Taşıyıcı Gaz: Helyum (0.5 mL/dk.)
Sıcaklıklar
Enjeksiyon: 250 °C
Kolon : 60°C'de 0 dk.; 5°C/dk. artışla 180°C'ye ; 180°C'de 36 dk. ;
Toplam 60 dk.

Split Oranı: 50:1

Elektron Enerjisi: 70 eV

Kütle Aralığı: 35-450 m/z

Şiral kolonda Vidren'in kromatografik ayrımı

GK Analiz Koşulları

Sistem : Agilent 7890A GC
Kolon : Lipodex G (25 m x 0.25 mm x 0.13 μm film kalınlığı)
Enjeksiyon miktarı : 1 μL
Taşıyıcı Gaz : Helyum (0.8 mL/dk.)

Kullanılan metod

Sıcaklık prg. : 60°C'de 0 dk.; 5°C/dk artışla 180°C'ye ; 180°C'de
36 dk. ; Toplam 60 dk.

Akış prg. : Helyum, 1 mL/dk. ile 60 dk. (ort. hız: 27.114 cm/sn)
Split oranı : 50:1

Detektör: 250 °C, FID (Alev iyonlaşma dedektörü)

GK/KS Analiz Koşulları

Sistem: Agilent 5975C GC-MSD

Kolon: Lipodex G (25 m x 0.25 mm Ø, 0.13 µm film kalınlığı)

Taşıyıcı Gaz: Helyum (0.5 mL/dk.)

Sıcaklıklar

Enjeksiyon: 250 °C

Kolon : 60°C'de 0 dk.; 5°C/dk artışla 180°C'ye ; 180°C'de 36 dk. ;
Toplam 60 dk.

Split Oranı: 50:1

Elektron Enerjisi: 70 eV

Kütle Aralığı: 35-450 *m/z*

Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi

Mikroorganizmaların Canlandırılması

Liyofilize kültürler halinde bulunan bakteri ve funguslar, buldukları tüplerden steril şartlar altında çıkarıldı ve canlandırılmak üzere Nutrient Broth tüplerine aktarıldı. *Saccharomyces cerevisiae* (26-28°C) hariç diğer mikroorganizmalar 37°C de 24 saat inkübasyona bırakılıp, bu süre sonunda, kültürlerin Mueller Hinton Agar (MHA) plakalarına öze yardımıyla tek koloni ekimi yapıldı ve tekrar inkübasyona bırakıldı. Deneyler için ekimi yapılan bu mikroorganizmalar **Çizelge 2**'de verilmiştir.

Çizelge 2. Antimikrobiyal Aktivite Tayininde Kullanılan Mikroorganizmalar

No	Adı	Kaynak
1	<i>Escherichia coli</i>	NRRL B-3008
2	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538
3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
4	<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC 13311
5	<i>Bacillus cereus</i>	NRRL B3711
6	<i>S.aureus</i> (Metisiline Dirençli)	Klinik izolat
7	<i>Candida albicans</i>	NRRL Y-12983
10	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ATCC 9763

Mikrobroth Dilüsyon Tekniği ile Antimikrobiyal Etkinin Belirlenmesi

Çizelge 2'de listelenen bakteri ve *Candida* kültürleri canlandırılmak üzere -85°C'den 1 gün önce çıkarılarak içinde MHA bulunan petrilere öze ile ekildi ve 37°C'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda besi yerinde gelişen koloniler öze yardımı ile alınarak içerisinde 10 mL Mueller Hinton Broth (MHB) bulunan tüplere aktarıldı ve tekrar 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. 24 saat sonunda sıvı besi yerinde gelişen kültürlerden, yeni hazırlanmış MHB tüplerine belirli miktarlarda aktararak bulanıklıkları Mc Farland No: 0.5 standardına göre ayarlandı. Bu şekilde yaklaşık 10^8 CFU/ml'lik bakteri konsantrasyonu elde edildi.

Aktivitesi denenecek olan uçucu bileşenler, 4-8 mg olmak üzere steril flakonlara tartıldı ve herbiri üzerine 1'er mL steril dimetilsülfoksit (DMSO), eklenip çözülerek stok çözeltileri hazırlandı. Elde edilen stok çözeltilerinden başlayarak uçucu bileşenlerin, içinde MHB bulunan mikro-reaksiyon tüplerinde dilüsyonları hazırlanarak, uçucu bileşenlerin 4mg/mL'den 31.25 µg/mL'ye kadar seri konsantrasyonları elde edildi.

Deney için 96 "U tipi" kuyucuklara sahip mikrotitrasyon petrilere kullanıldı (**Şekil 11**). Seyreltilmiş karışımlardan sırasıyla her bir kuyucuk sütun serisine mikropipetör yardımıyla 100'er µL aktarıldı. Test edilecek uçucu bileşenlerin yanı sıra çözücü kontrolü için DMSO, ayrıca standart antibiyotik olan kloramfenikol bakteriler için, standart antifungal madde olan ketokanazol de funguslar için pozitif kontrol olarak test edildi. Son sütun mikroorganizma kontrolü için boş bırakılıp sadece 100 µL MHB konuldu. Tüm konsantrasyonlar kuyucuklara alındıktan sonra, mikroorganizmaların eklenmesine geçildi. Bunun için bulanıklığı önceden Mc Farland No: 0.5'e göre ayarlanan mikroorganizma kültürleri multikanal otomatik pipetörlere göre imal edilmiş rezervuarlara aktarıldı ve daha sonra bu pipetörler yardımıyla her bir kuyucuk satırına bir mikroorganizma gelecek şekilde 100'er µL eklendi. Son sütun mikroorganizma kontrolüne ayrıldığı gibi son satır da test maddesinin kontrolüne ayrılarak mikroorganizma eklenmedi. Bu işlemlerden sonra mikrotitrasyon petrilерinin kapakları kapatılarak 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda kuyucuklarda üremenin varlığının ya da yokluğunun daha iyi gözlemlenebilmesi için her kuyucuğa trifenil tetrazolyum klorit (TTC) çözeltilerinden 25'şer µL ilave edildi. Daha sonra renklenme için 37°C'de 3 saat daha inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda renklenmeyen alanlar üremenin olmadığı konsantrasyonlar olarak belirlendi ve bu sonuca göre minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) belirlendi. Deneyler çift paralel olarak yapıldı, MİK değerleri ortalama olarak verildi (İşcan, 2002; Beşe, 1989; Elof, 1998; Hadacek ve Greger, 2000; Koneman ve ark., 1997; Vanden Berge ve Vlietinck, 1991).



Şekil 11. Mikrodilüsyon Tekniğinde Kullanılan 96 (well) Kuyucuklu Mikrotitrasyon Petrisi

BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu bölümde Çizelge 1’de belirtilen bitki türlerinin uçucu yağlarının kompozisyonları, bu yağlardan izole edilen ana bileşikler ve bu bileşiklerin saflık değerleri, *Ammi visnaga* uçucu yağından izole edilen A kodlu bileşiğin Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi ölçüm sonuçları, uçucu yağların ve bu yağlardan izole edilen ana bileşiklerin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için yapılan çalışmaların sonuçları verilmiştir.

Uçucu Yağların Kimyasal Kompozisyonları, Uçucu yağlardan İzole Edilen Uçucu Bileşenler ve Saflık Dereceleri

Clevenger aparatı ile yapılan distilasyon işlemleri sonucunda *A. visnaga* dövülmüş meyvelerinden %0.143 ve *M. chamomilla* çiçeklerinden ise %0.382 verimle uçucu yağ elde edilmiştir.

Uçucu yağların kimyasal kompozisyonları, Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GK/KS) analizi kullanılarak aydınlatılmış, kromatogramları, kimyasal bileşenleri ve yüzde oranları aşağıda tablolar/şekiller halinde verilmiştir.

Uçucu yağlardan Preparatif Fraksiyon Toplayıcı (PFT) ile izole edilen uçucu bileşenler daha sonra GK/KS sistemine enjekte edilerek yüzde saflık dereceleri belirlenmiştir (Çizelge 3). İzole edilen uçucu bileşenlerin gaz kromatografik analizleri ve spektrumları aşağıda verilmiştir.

Ammi visnaga uçucu yağından izole edilen A kodlu bileşiğin tayini NMR yöntemi ile yapılmıştır. NMR spektroskopisi ölçüm sonuçları aşağıda verilmiştir.

Çizelge 3. Uçucu yağlardan izole edilen uçucu bileşenler ve saflık dereceleri

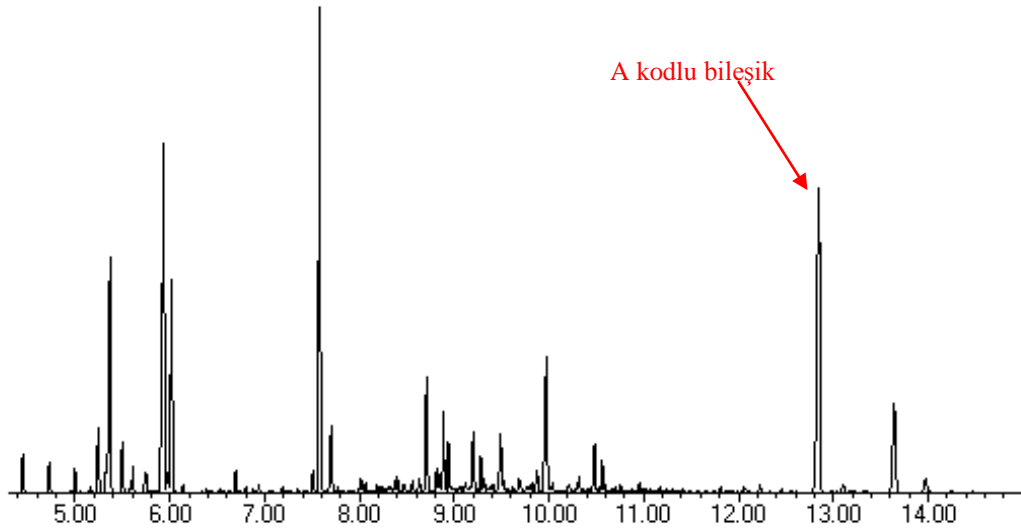
Uçucu Yağın Elde Edildiği Bitki	İzole Edilen Uçucu Bileşen	%
<i>Ammi visnaga</i> (L.) Lam.	A kodlu bileşik	97.7
<i>Matricaria chamomilla</i> L.	Bisabolon oksit	98.6
	α -Bisabolol oksit A	95.0
<i>Juniperus sabina</i> L.	Sabinen	97.5
	Sabinil asetat	97.2
<i>Widdringtonia whytei</i> Rendle	Vidren (Tuyopsen)	95.0

***Ammi visnaga* (L.) Lam.**

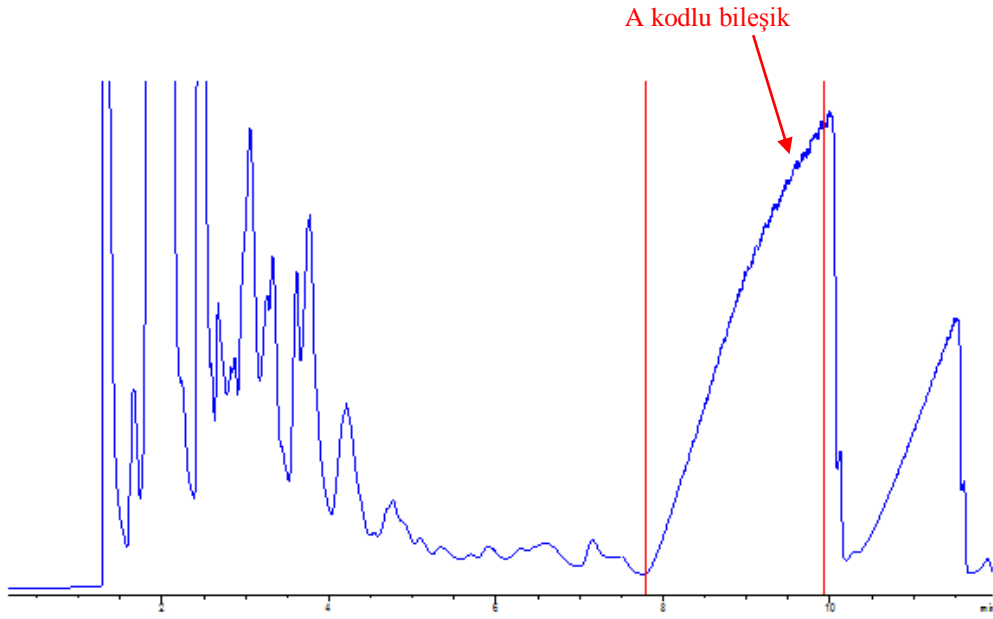
Çizelge 4. *Ammi visnaga*'nın Uçucu Yağ Bileşimi

RRI	Bileşik [#]	%
1100	İzobutil izobutirat	1.2
1185	İzobutil 2-metilbutirat	1.8
1203	2-Metilbutil izobutirat	9.6
1246	(Z)-β-Osime	2.9
1266	(E)-β-Osime	3.0
1286	2-Metilbutil 2-metilbutirat	9.4
1299	2-Metilbutil izovalerat	5.4
1553	Linalol	22.1
1726	Germakren D	1.2
1729	Sitronellil propionat	1.7
1830	2,6-Dimetil-3(E),5(E),7-oktatrien-2-ol	1.0
2519	A kodlu bileşik	16.5

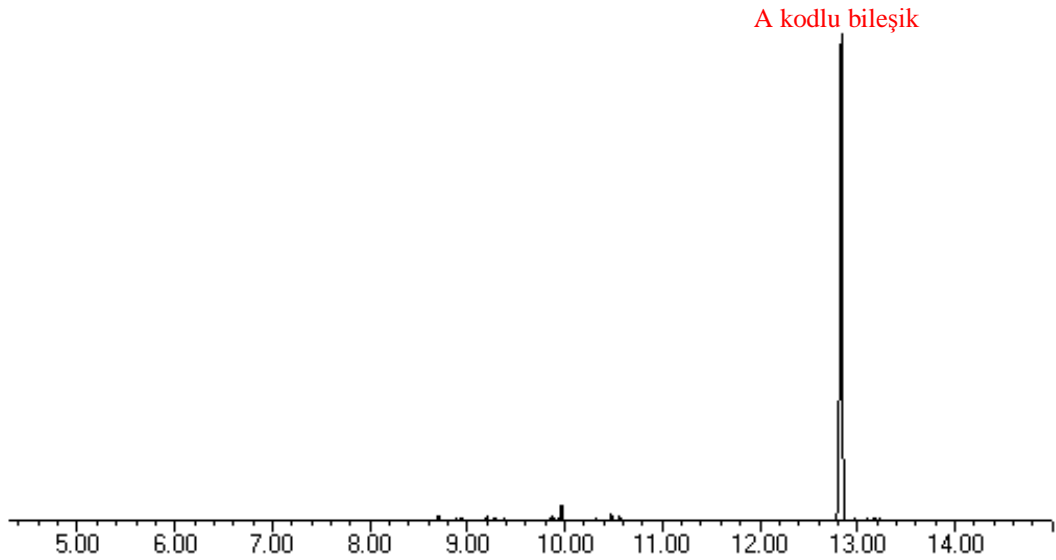
%1'den büyük bileşikler



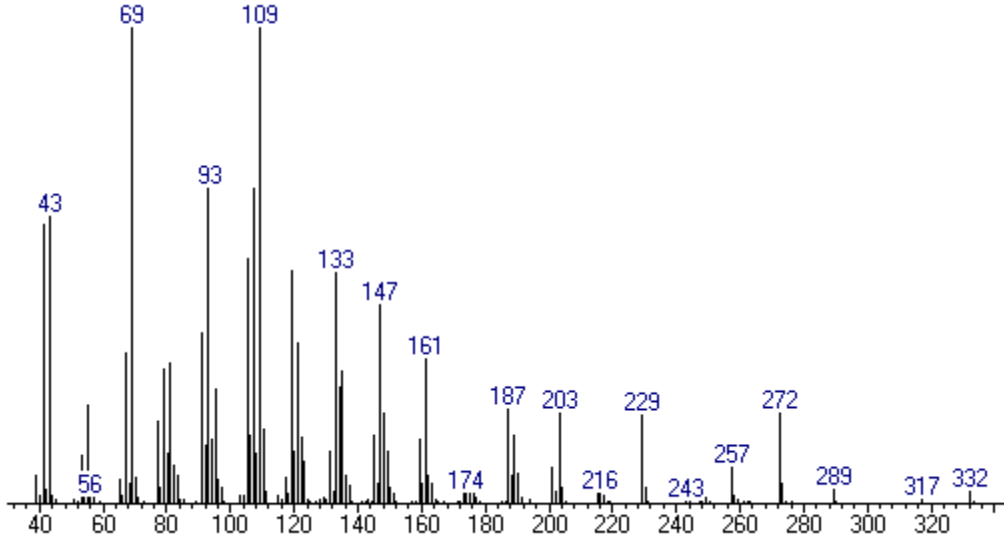
Şekil 12. *Ammi visnaga* uçucu yağının Gaz Kromatogramı



Şekil 13. *Ammi visnaga* uçucu yağının GK/PFT Sistemindeki Gaz Kromatogramı ve A Kodlu Bileşiğin Tespiti



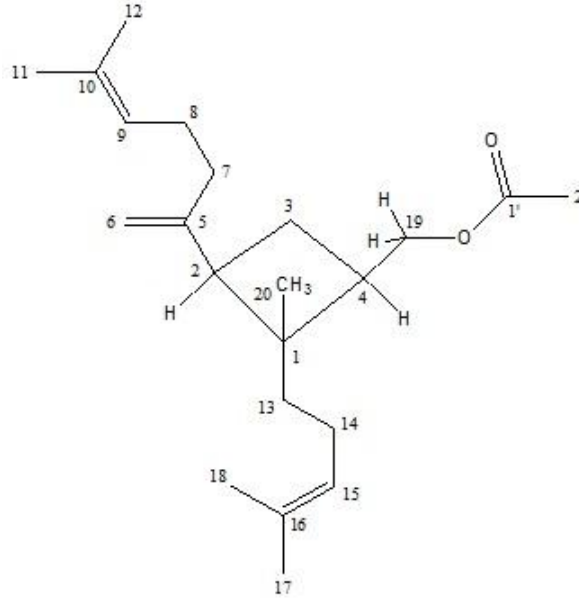
Şekil 14. *Ammi visnaga* uçucu yağından izole edilen A kodlu bileşiğin Gaz Kromatogramı (A Kodlu Bileşik %97.7)



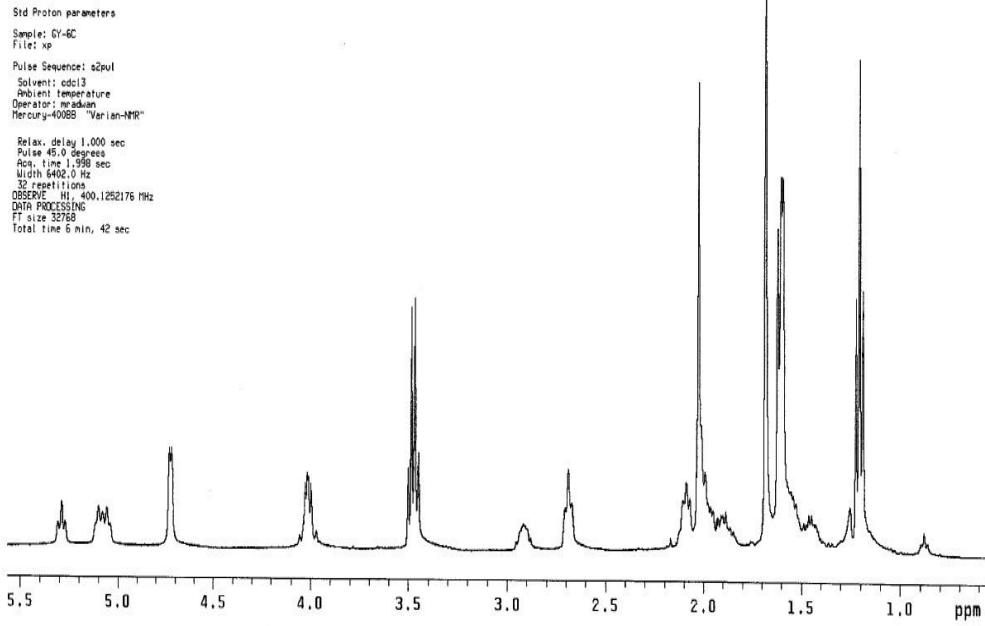
Şekil 15. *Ammi visnaga* uçucu yağından izole edilen A kodlu bileşik kütle spektrumu

Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Ölçüm Sonuçları

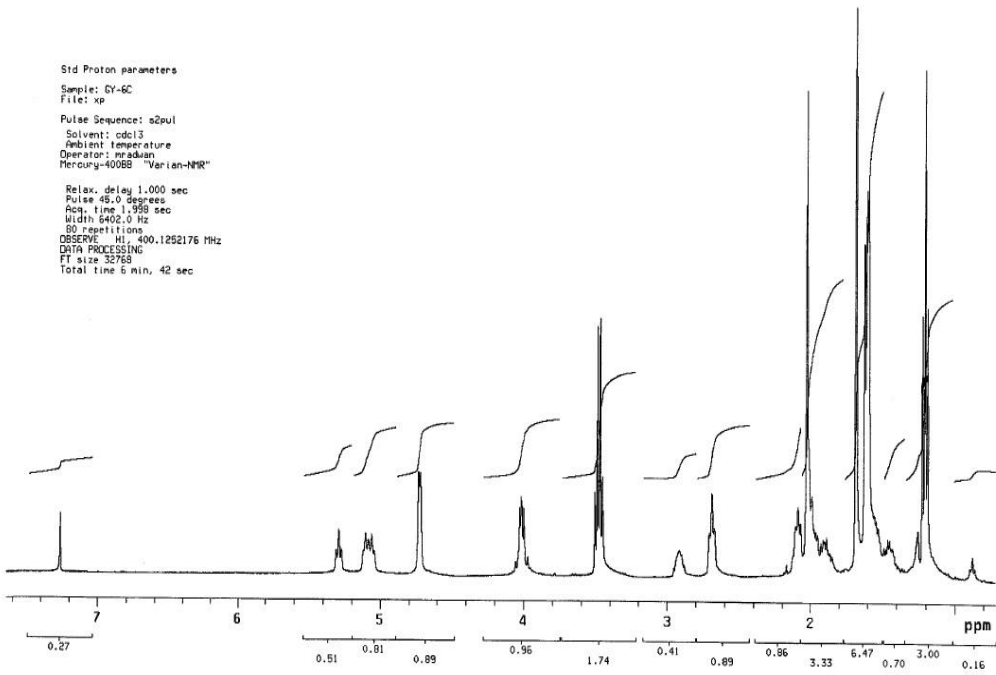
Ammi visnaga uçucu yağından izole edilen A kodlu bileşiğin NMR ölçümleri sonucunda, 1985'te Stahl ve Sinnwell'in *Ammi visnaga* uçucu yağında tespit ettikleri madde ile aynı sonuçları verdiği görülmüştür (Stahl ve Sinnwell, 1985).Yapılan ^1H , ^{13}C , DEPT, HMQC, COSY ve HMBC NMR ölçüm sonuçlarına göre A kodlu bileşiğin açık formülünün 4-asetoksimetil-2-[(5-metil-1-metilen)-heks-4-enil]-1-metil-1-(4-metil-pent-3-enil)-siklobütan (Şekil 17) olduğu, kapalı formülünün $\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{O}_2$ olduğu, molekül ağırlığının ise 332 olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 16. *Ammi visnaga*'dan izole edilen 4-asetoksimetil-2-[(5-metil-1-metilen)-heks-4-enil]-1-metil-1-(4-metil-pent-3-enil)-siklobütan (Stahl ve Sinnwell, 1985)

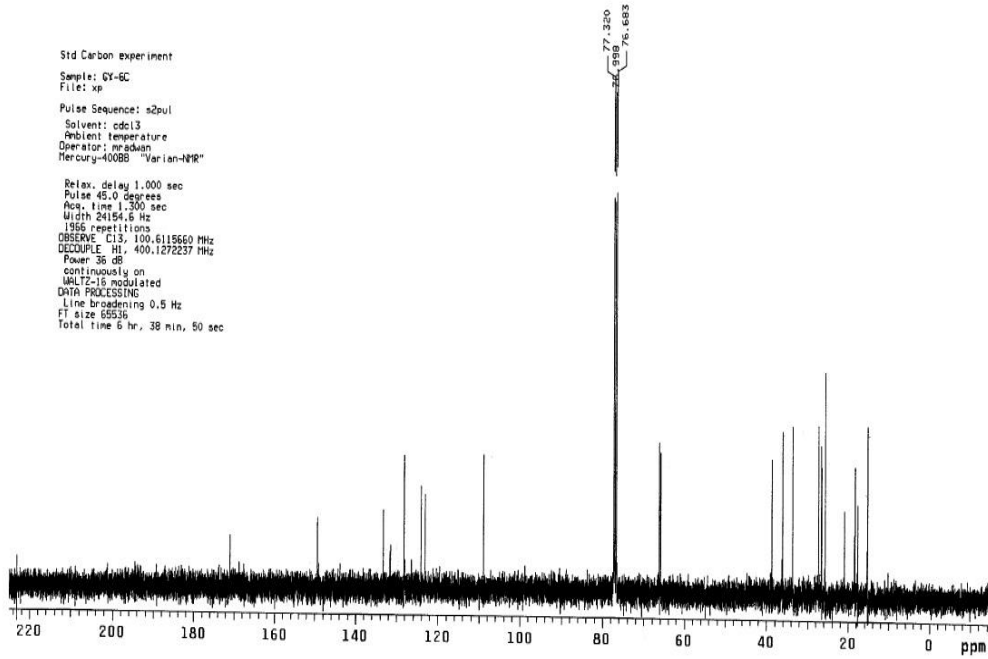


Şekil 17. *Ammi visnaga* uçucu yağındaki A kodlu bileşiğin ^1H NMR spektrumu (CDCl_3 400Mhz)



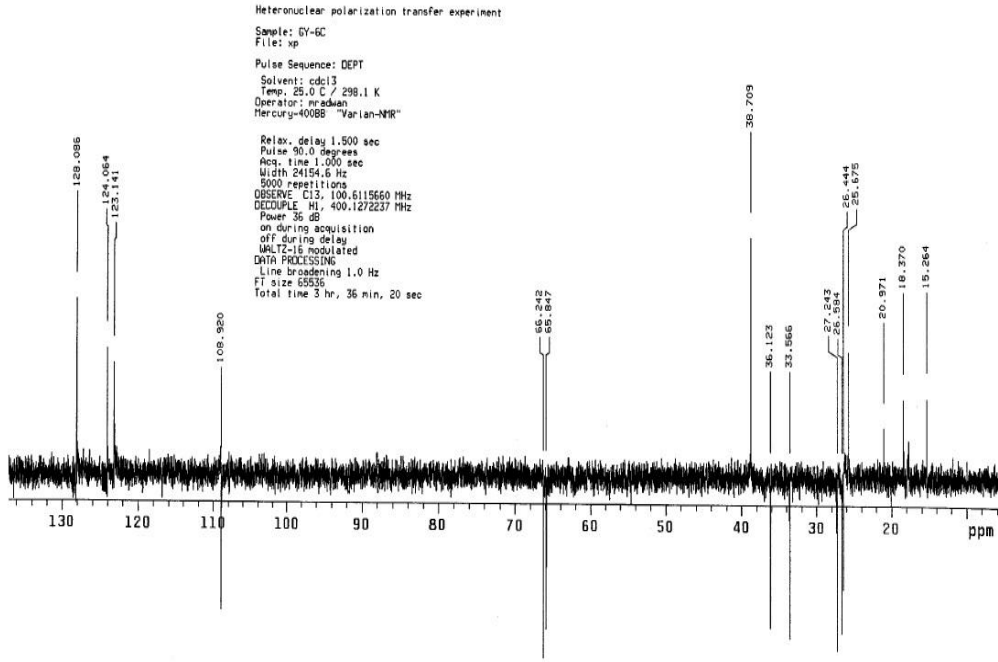
Şekil 18. *Ammi visnaga* uçucu yağındaki A kodlu bileşiğin ^1H NMR spektrumu (CDCl_3 400Mhz)

^1H -NMR (400MHz $\text{CDCl}_3/\text{CDCl}_3$): δ 1.20 (m, CH_3), δ 1.46 (m, CH_2), δ 1.59 (m, CH_3), δ 1.60 (m, CH_3), δ 1.61 (m, CH_3), δ 1.68 (m, CH_3), δ 1.86 (m, CH_2), δ 1.94 (m, CH_2), δ 2.02 (s, CH_3), δ 2.09 (m, CH_2), δ 2.70 (m, CH_2), δ 2.89 (bs, CH), δ 2.92 (m, CH), δ 4.01 (m, CH_2), δ 4.78 (d, CH_2), δ 5.06 (m, CH), δ 5.30 (t, CH)

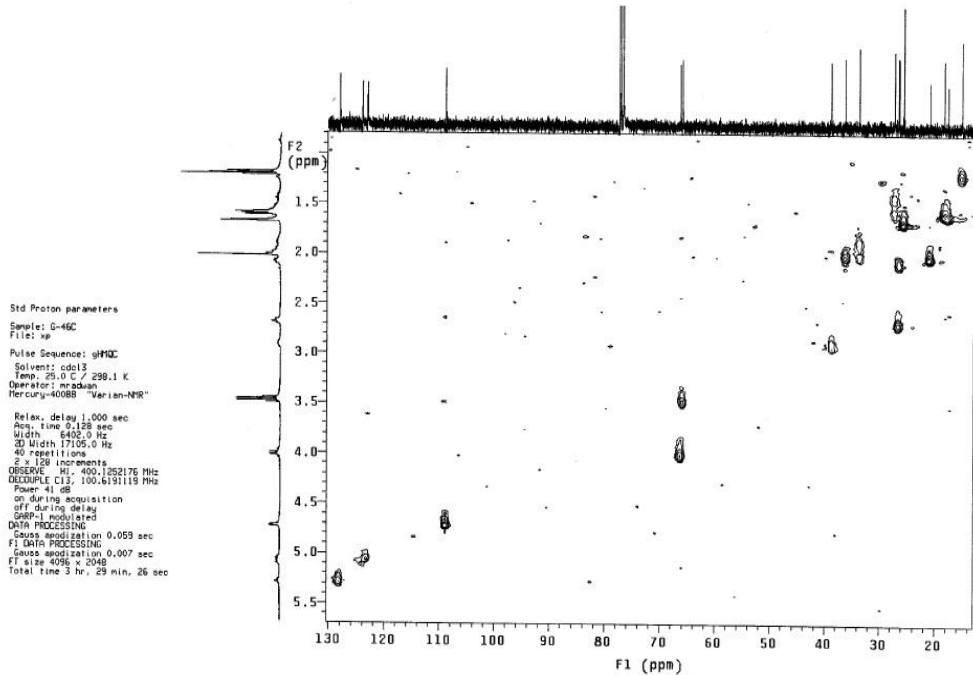


Şekil 19. *Ammi visnaga* uçucu yağındaki A kodlu bileşiğin ^{13}C NMR spektrumu (CDCl₃ 100Mhz)

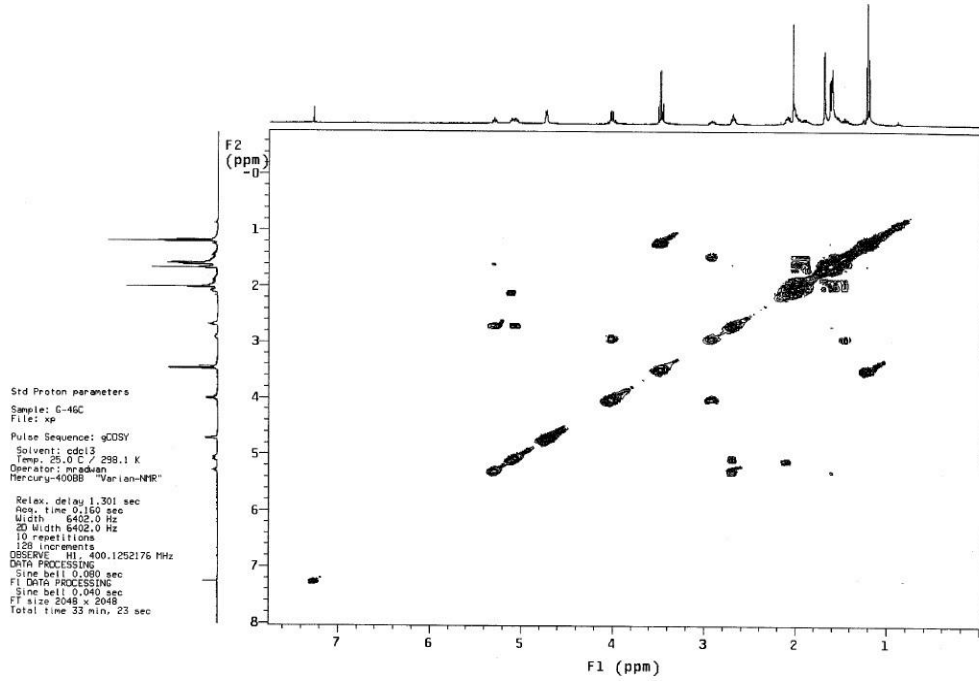
^{13}C -NMR (100 MHz CDCl₃/CDCl₃): δ 25.7 (C-1), δ 171.1 (C-1'), δ 38.7 (C-2), δ 21.0 (C-2'), δ 26.6 (C-3), δ 38.7 (C-4), δ 149.4 (C-5), δ 108.9 (C-6), δ 33.6 (C-7), δ 27.2 (C-8), δ 123.1 (C-9), δ 131,6 (C-10), δ 25.7 (C-11), δ 18.4 (C-12), δ 36.1 (C-13), δ 26.4 (C-14), δ 128.1 (C-15), δ 131.4 (C-16), δ 17.7 (C-17), δ 17.6 (C-18), δ 66.2 (C-19), δ 15.3 (C-20)



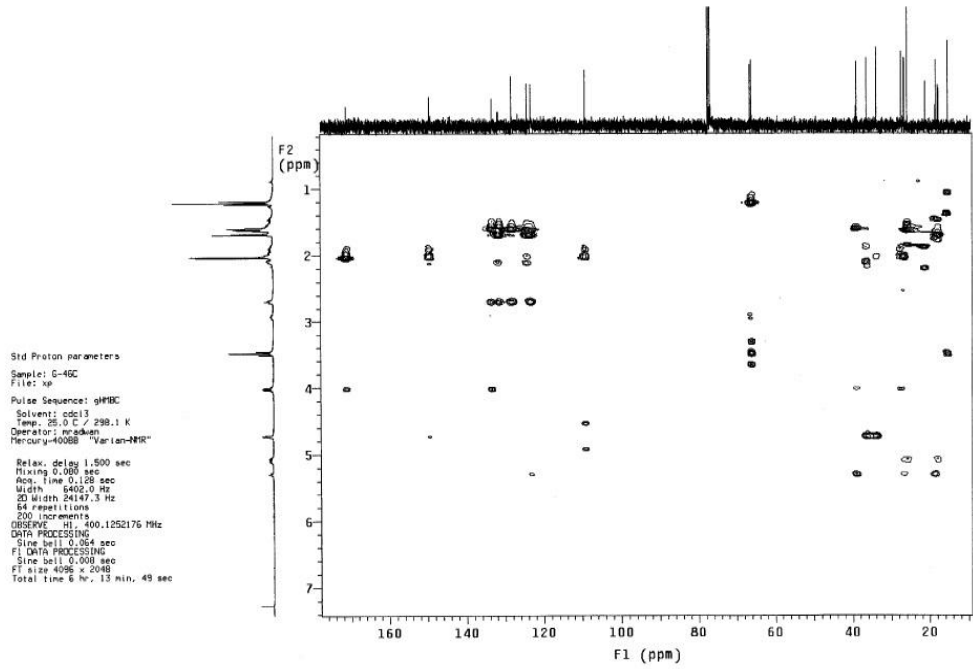
Şekil 20. *Ammi visnaga* uçucu yağındaki A kodlu bileşigin DEPT NMR spektrumu



Şekil 21. *Ammi visnaga* uçucu yağındaki A kodlu bileşigin HMQC NMR spektrumu



Şekil 22. *Ammi visnaga* uçucu yağındaki A kodlu bileşiğin COSY NMR spektrumu



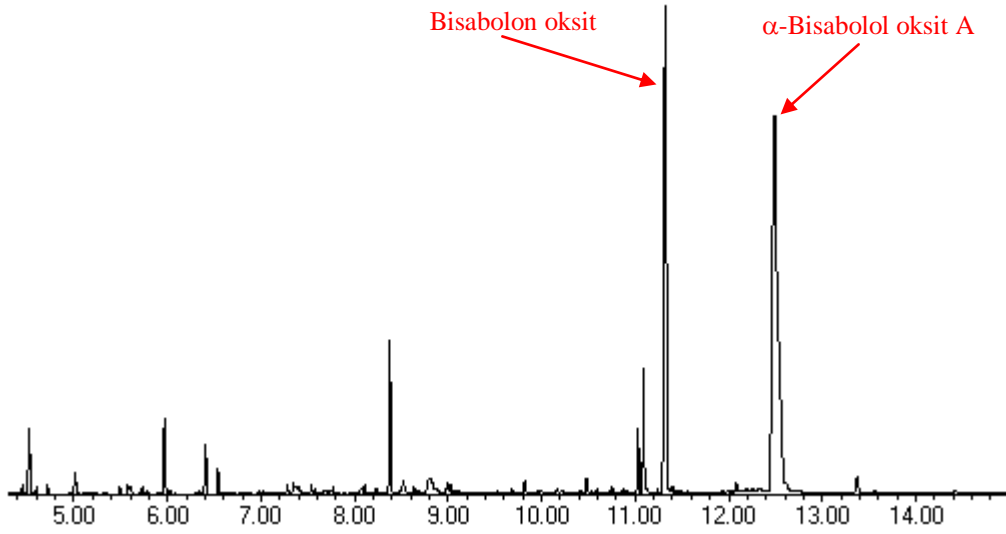
Şekil 23. *Ammi visnaga* uçucu yağındaki A kodlu bileşiğin HMBC NMR spektrumu

Matricaria chamomilla L.

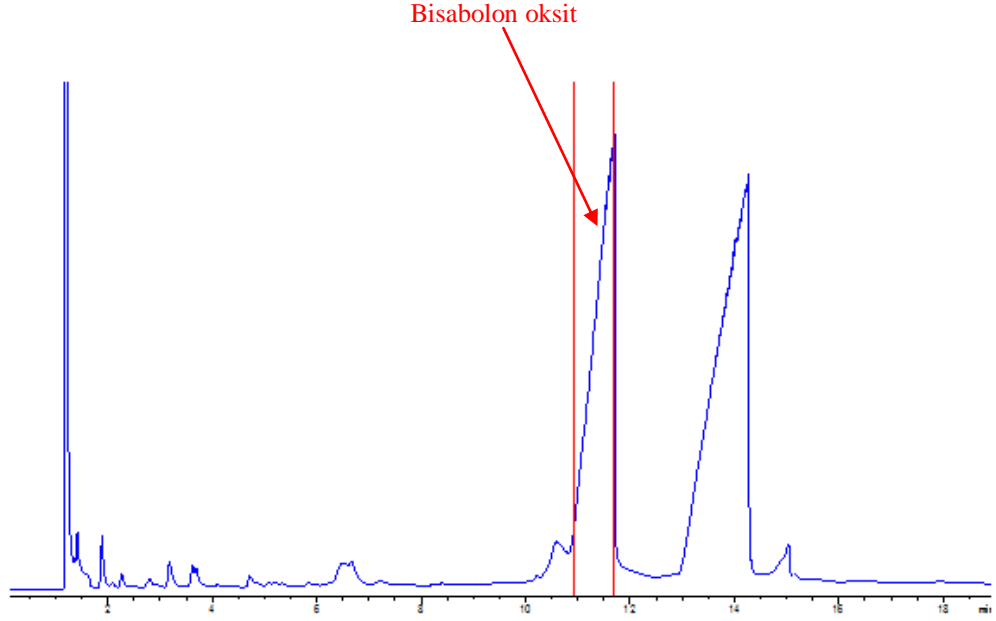
Çizelge 5. *Matricaria chamomilla*'nın Uçucu Yağ Bileşimi

RRI	Bileşik [#]	%
1668	(Z)- β -Farnesen	3.3
1755	Bisiklogermakren	1.1
2156	α -Bisabolol oksit B	3.5
2201	Bisabolon oksit	36.5
2434	α -Bisabolol oksit A	46.0

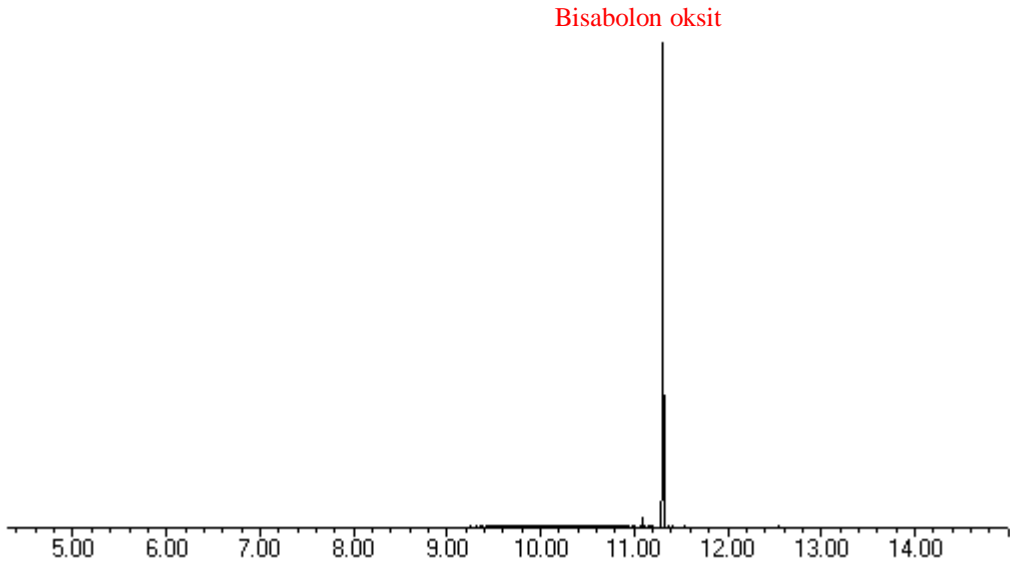
% 1'den büyük bileşikler



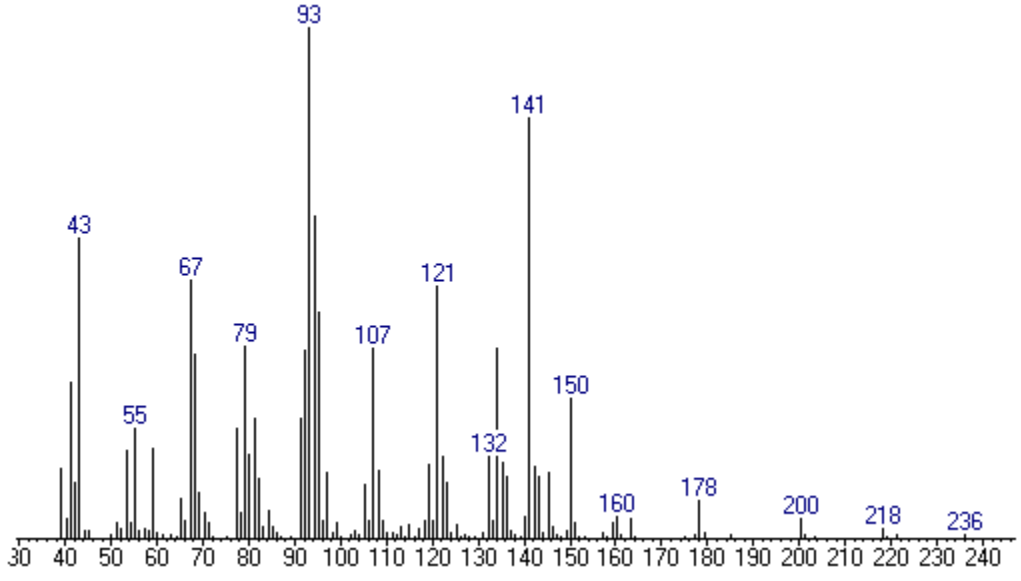
Şekil 24. *Matricaria chamomilla* uçucu yağının Gaz Kromatogramı



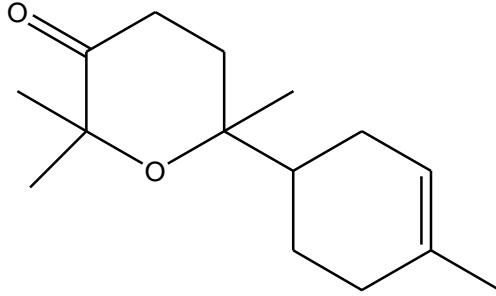
Şekil 25. *Matricaria chamomilla* uçucu yağının GK/PFT Sistemindeki Gaz Kromatogramı ve Bisabolon oksit'in Tespiti



Şekil 26. *Matricaria chamomilla* uçucu yağından izole edilen Bisabolon oksit'in Gaz Kromatogramı (Bisabolon oksit %98.6)



Şekil 27. *Matricaria chamomilla* uçucu yağından izole edilen Bisabolon oksit'in kütle spektrumu

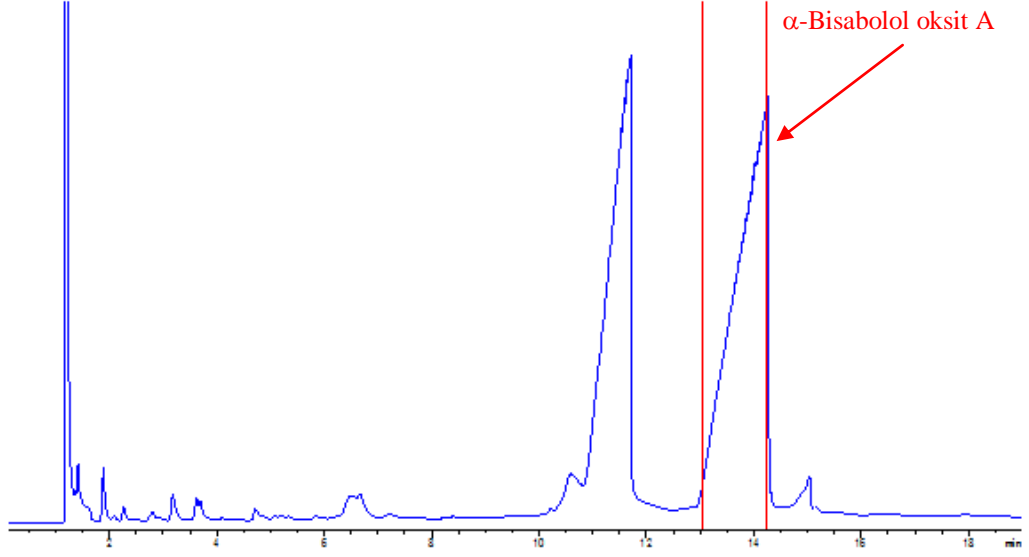


Şekil 28. Bisabolon oksit

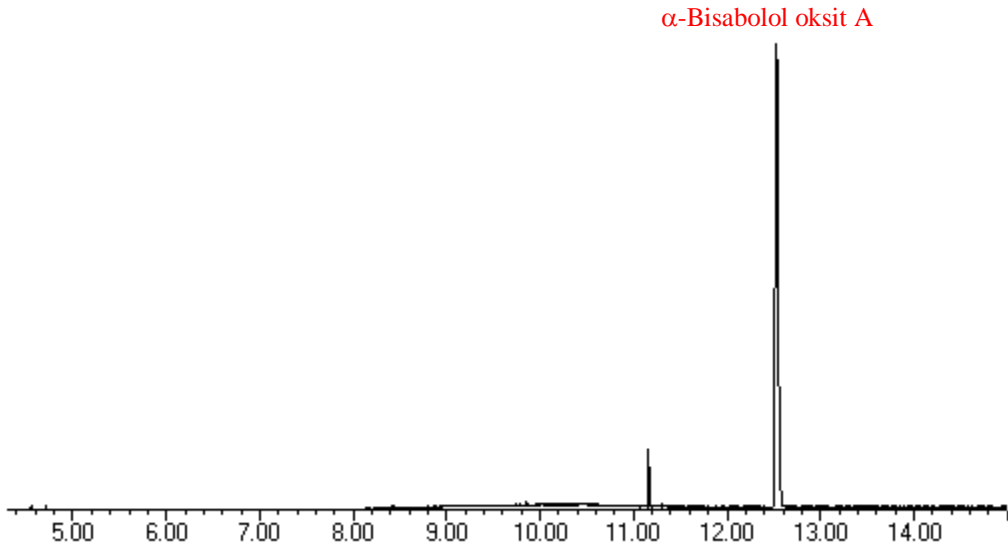
Sinonimi : 7,11-epoksi-2-bisabolen-10-on

Molekül formülü : C₁₅H₂₄O₂

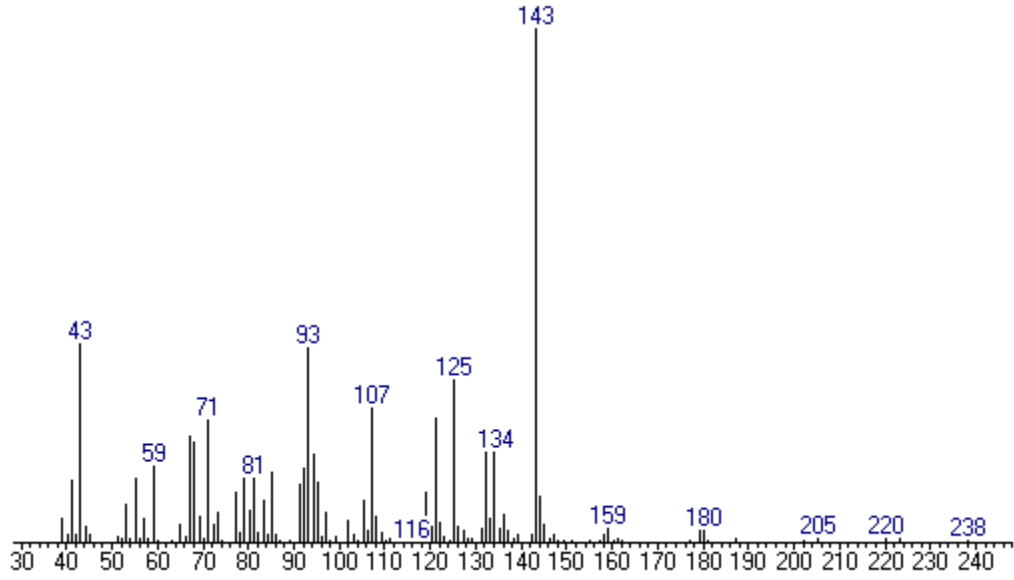
Molekül ağırlığı : 236.353



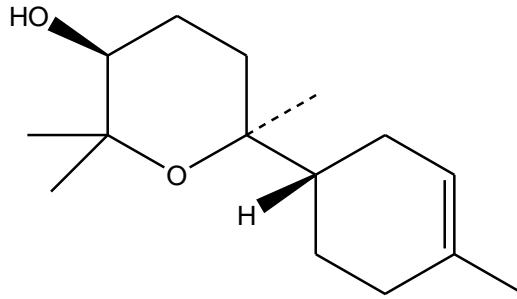
Şekil 29. *Matricaria chamomilla* uçucu yağının GK/PFT Sistemindeki Gaz Kromatogramı ve α -Bisabolol oksit A'nın Tespiti



Şekil 30. *Matricaria chamomilla* uçucu yağından izole edilen α -Bisabolol oksit A'nın Gaz Kromatogramı (α -Bisabolol oksit A %95)



Şekil 31. *Matricaria chamomilla* uçucu yağından izole edilen α -Bisabolol oksit A'nın kütle spektrumu



Şekil 32. α -Bisabolol oksit A

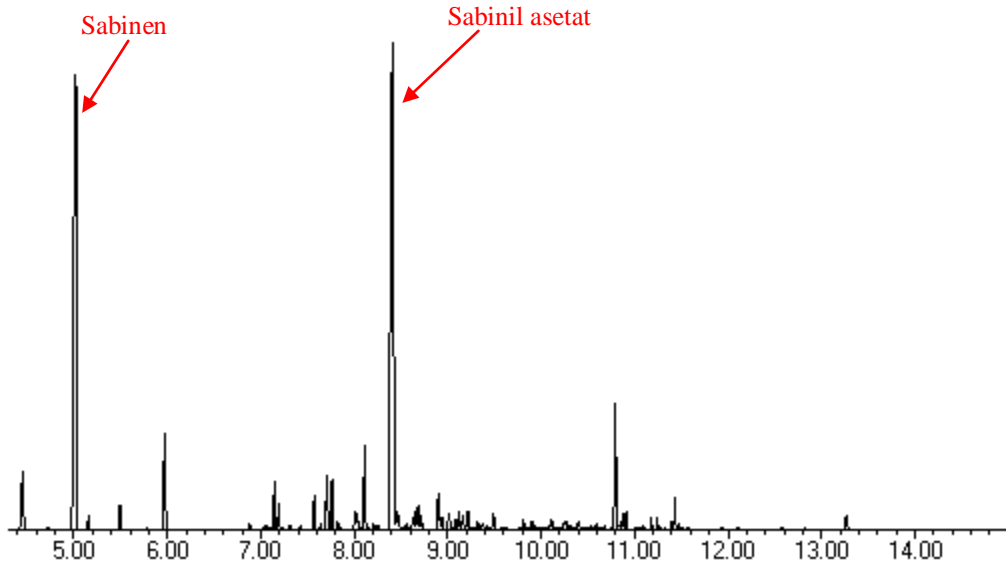
Sinonimi : 7,11-Epoksi-2-bisabolen-10-ol
Molekül formülü : $C_{15}H_{26}O_2$
Molekül ağırlığı : 238.369

Juniperus sabina L.

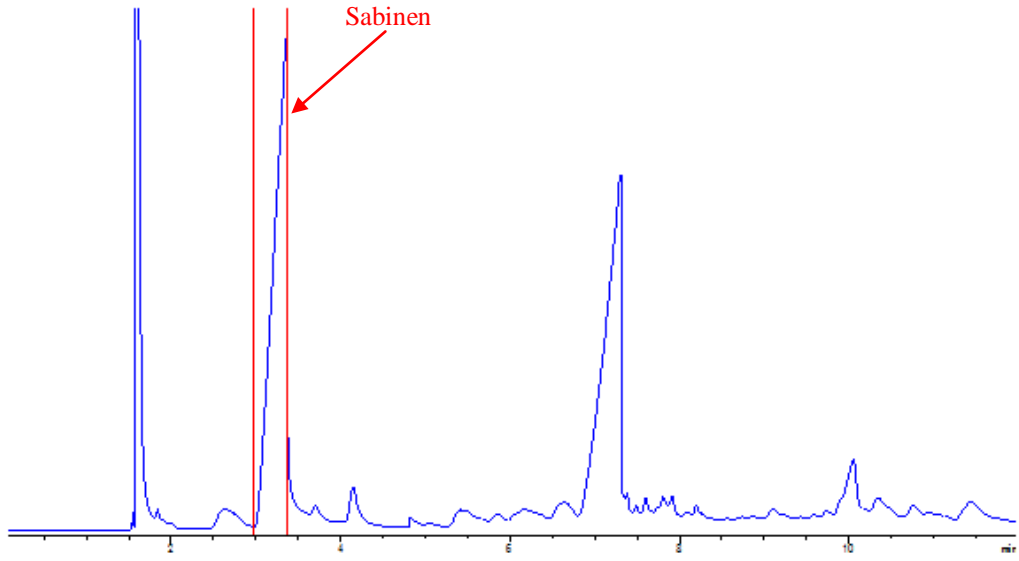
Çizelge 6. *Juniperus sabina*'nın Uçucu Yağ Bileşimi

RRI	Bileşik [#]	%
1132	Sabinen	9.2
1174	Mirsen	1.1
1553	Linalol	1.2
1570	Metil sitronellat	1.7
1611	Terpinen-4-ol	5.0
1658	Sabinil asetat	39.3
1709	α -Terpinil asetat	1.2
1772	Sitronellol	1.8
1773	δ -Kadinen	2.1
2075	1(10),5-Germakradien-4 β -ol	7.0
2096	Elemol	11.8
2187	T-Kadinol	1.1
2255	α -Kadinol	3.2

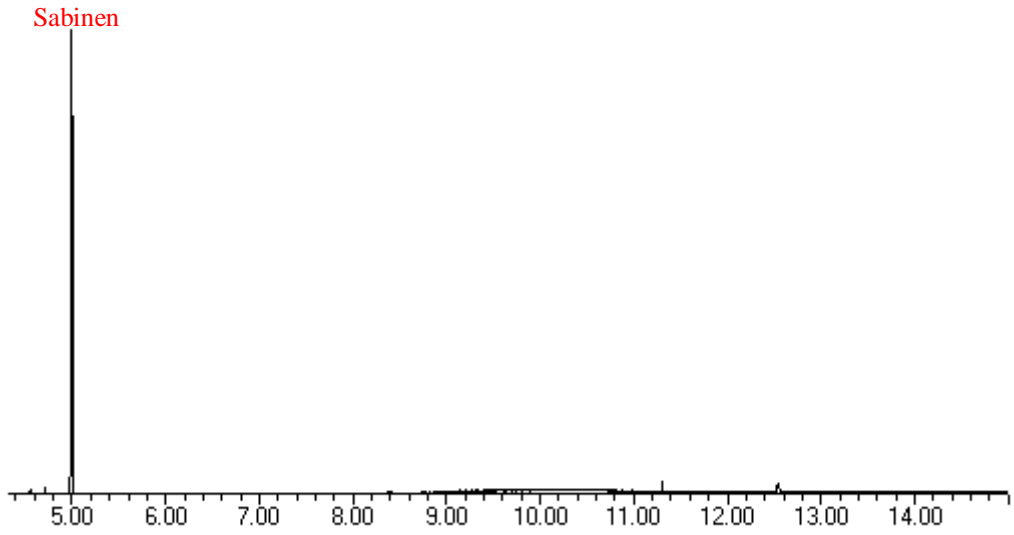
% 1'den büyük bileşikler



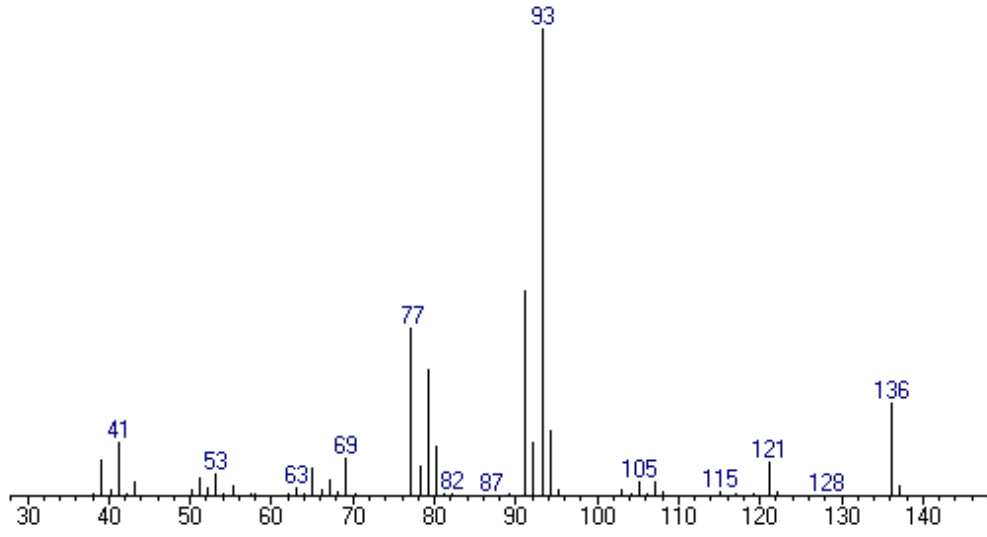
Şekil 33. *Juniperus sabina* uçucu yağının Gaz Kromatogramı



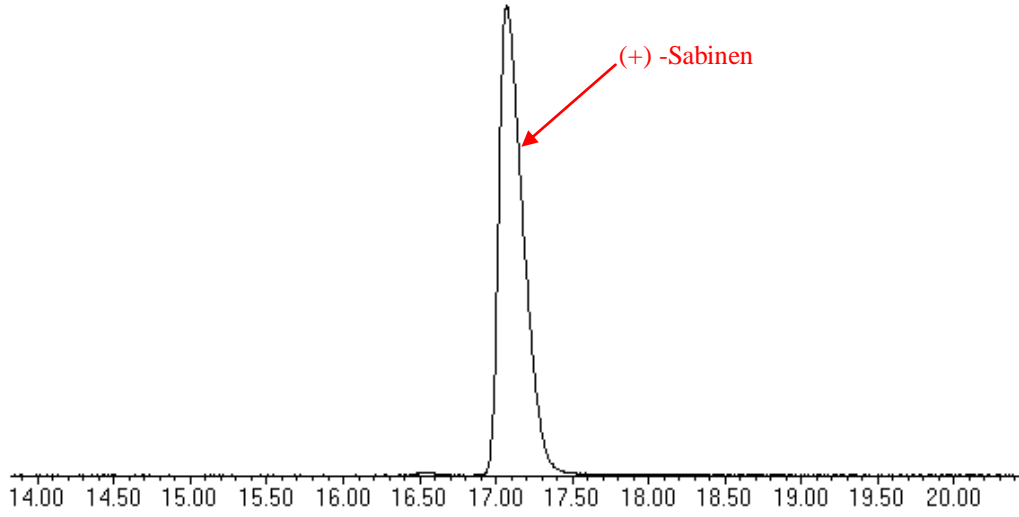
Şekil 34. *Juniperus sabina* uçucu yağının GK/PFT Sistemindeki Gaz Kromatogramı ve Sabinen'in Tespiti



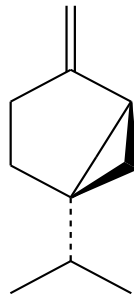
Şekil 35. *Juniperus sabina* uçucu yağından izole edilen Sabinen'in Gaz Kromatogramı (Sabinen %97.5)



Şekil 36. *Juniperus sabina* uçucu yağından izole edilen Sabinen'in kütle spektrumu

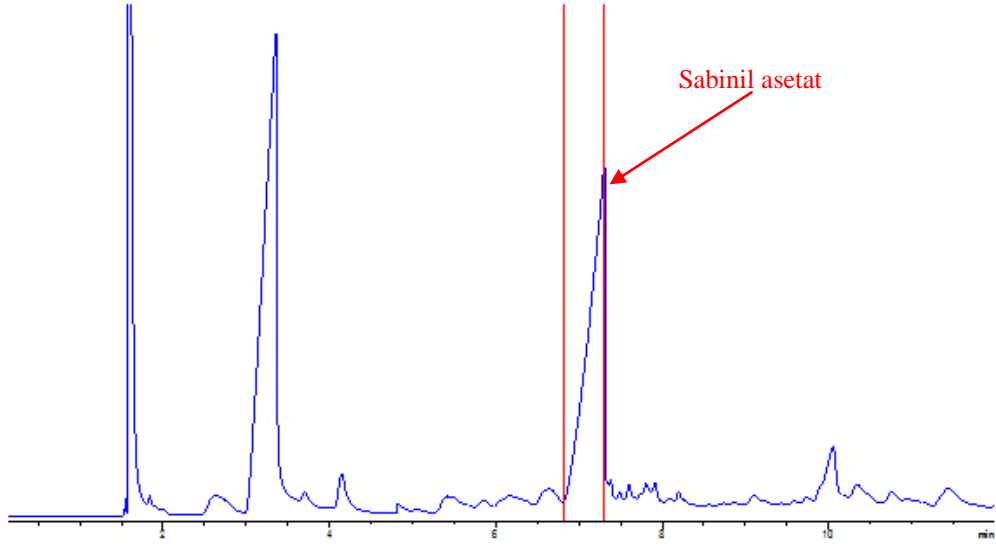


Şekil 37. (+)-Sabinen'in Şıral Kolondaki Gaz Kromatogramı

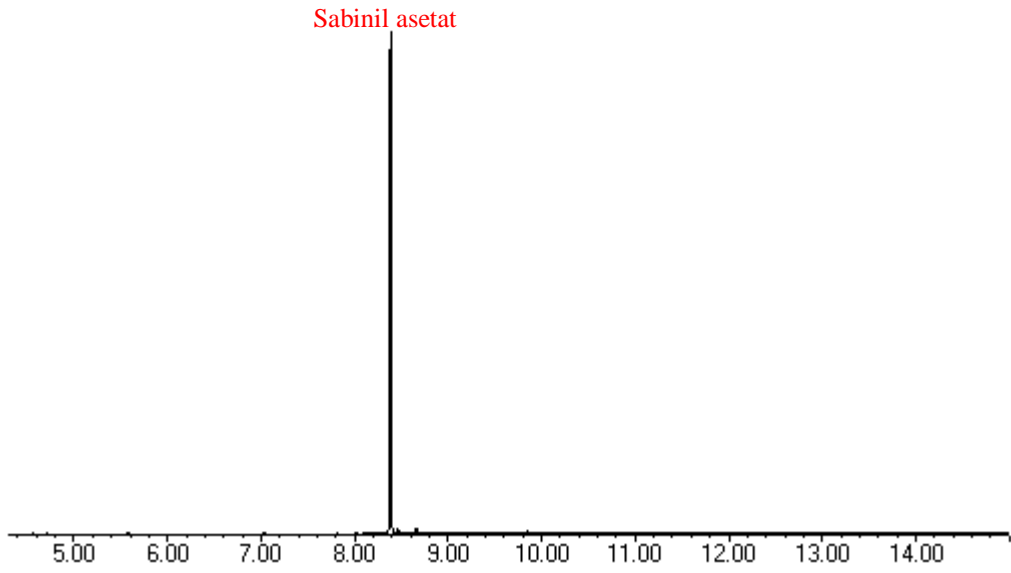


Şekil 38. (+)-Sabinen

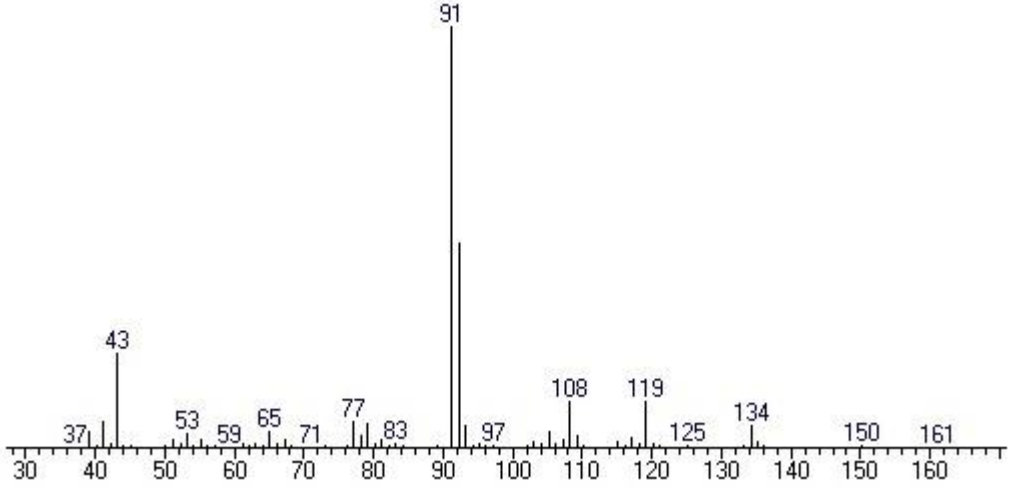
Sinonim	: 4-Metilen-1-(1-metiletil)bisiklo[3.1.0]heksan,9Cl. 1- Isopropil-4-metilenbisiklo[3.1.0]heksan
Molekül formülü	: C ₁₀ H ₁₆
Molekül ağırlığı	: 136.236
[α] ²⁰ _D	: +20 (2.225 mg/mL, DMSO)



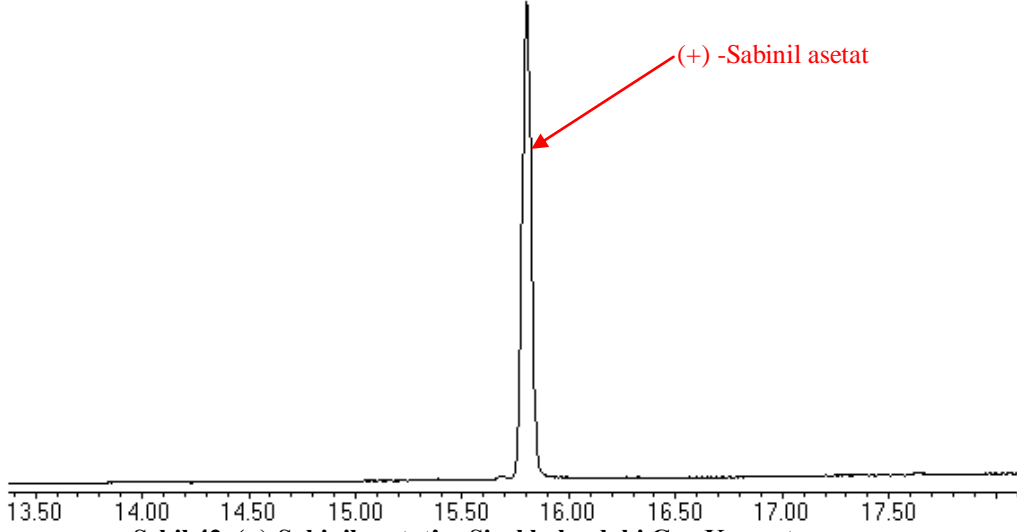
Şekil 39. *Juniperus sabina* uçucu yağının GK/PFT Sistemindeki Gaz Kromatogramı ve Sabinil asetat'ın Tespiti



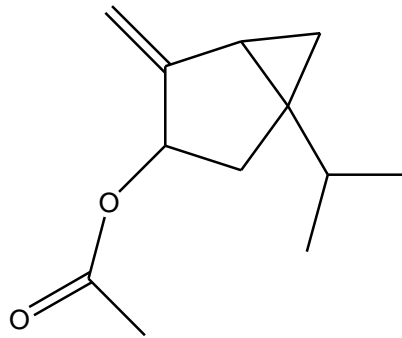
Şekil 40. *Juniperus sabina* uçucu yağından izole edilen Sabinil asetat'ın Gaz Kromatogramı (Sabinil asetat %97.2)



Şekil 41. *Juniperus sabina* uçucu yağından izole edilen Sabinil asetat'ın kütle spektrumu



Şekil 42. (+)-Sabinil asetat'ın Şiral kolondaki Gaz Kromatogramı



Şekil 43. (+)-Sabinil asetat

Sinonim	: 4-metilen-1-(1-metil etil) bisiklo(3.1.0)heksan-3-ol asetat
Molekül formülü	: $C_{12}H_{18}O_2$
Molekül ağırlığı	: 194.273
$[\alpha]_D^{20}$: +12 (2.724 mg/mL, DMSO)

Widdringtonia whytei Rendle.

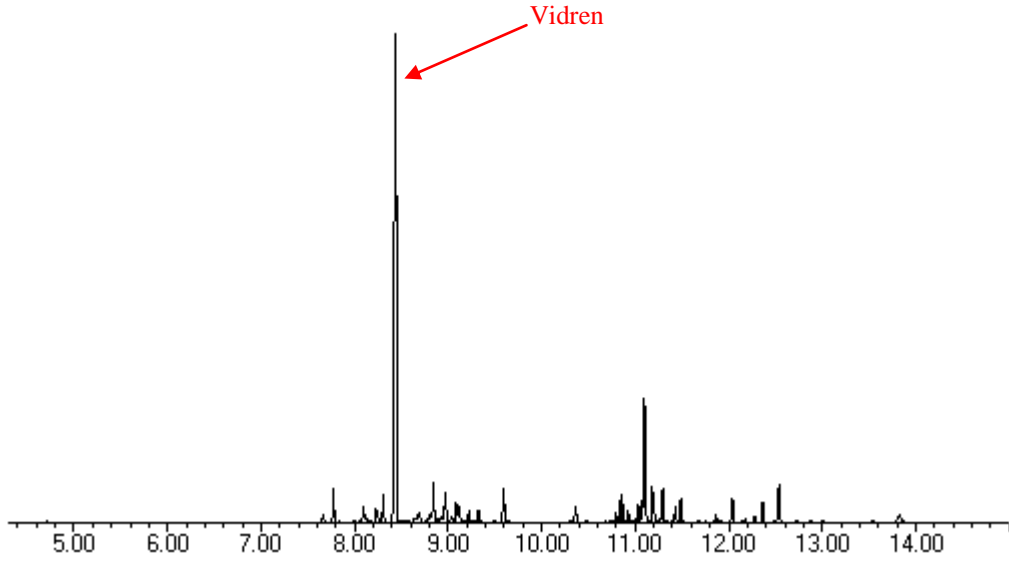
Çizelge 7. Widdringtonia whytei'nin Uçucu Yağ Bileşimi

RRI	Bileşik[#]	%
1569	<i>trans</i> - α -Bergamoten	2.1
1577	α -Sedren	1.0
1613	β -Sedren	1.3
1644	Tuyopsen (=vidren)	28.3
1741	β -Bisabolen	2.3
1763	α -Alasken	1.8
1769	α -Kuprenen	1.0
1849	Kuparen	1.2
2096	Elemol	2.2
2099	epi-Kubebol izomer	1.7
2119	Tuyopsan-2 α -ol*	1.8
2143	Sedrol	12.8
2158	α -Akorenol	1.4
2178	Vidrol	2.8
2185	γ -Ödesmol	2.9
2232	α -Bisabolol	5.7
2250	α -Ödesmol	1.4
2257	β -Ödesmol	2.8
2332	Tuyopsenal	3.7
2385	Eremofilon	1.0
2401	1,7-Germakra-1(10),4-dien-15-al**	2.8

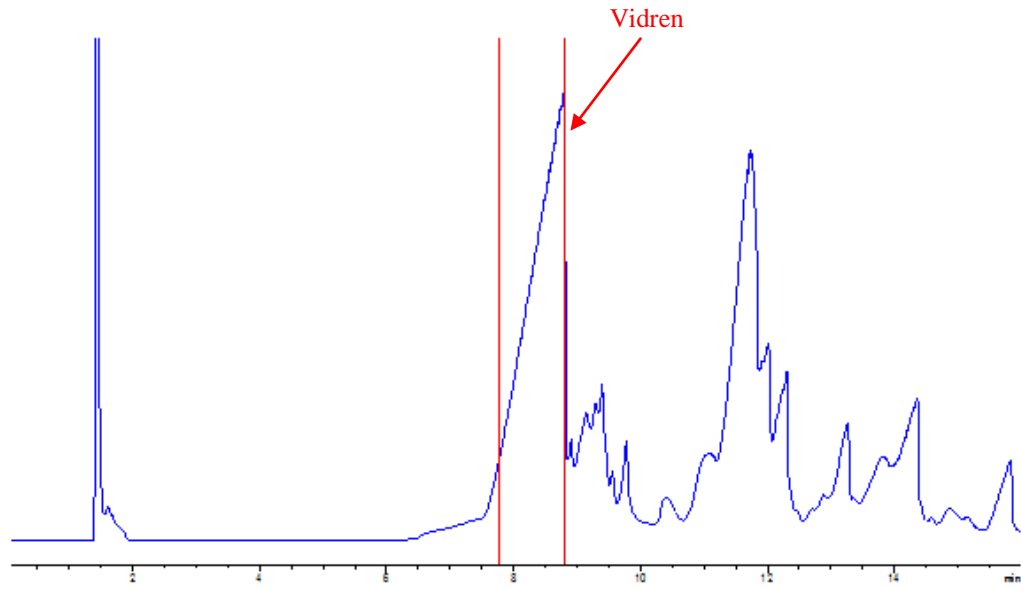
*Maddenin tayini MassFinder software 3.0 (Dr. Hochmuth Scientific Consulting, Hamburg) kütüphanesi aracılığıyla yapıldı

**Maddenin tayini Wiley GC/MS Library (Wiley, New York, NY, USA), MassFinder software 3.0 (Dr. Hochmuth Scientific Consulting, Hamburg), Adams Library, NIST Library aracılığıyla yapıldı

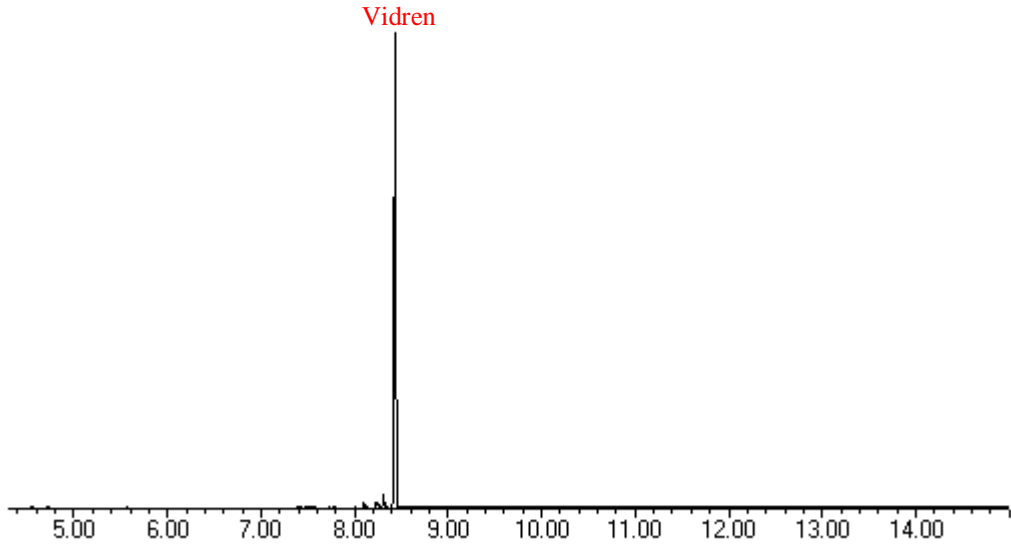
% 1'den büyük bileşikler



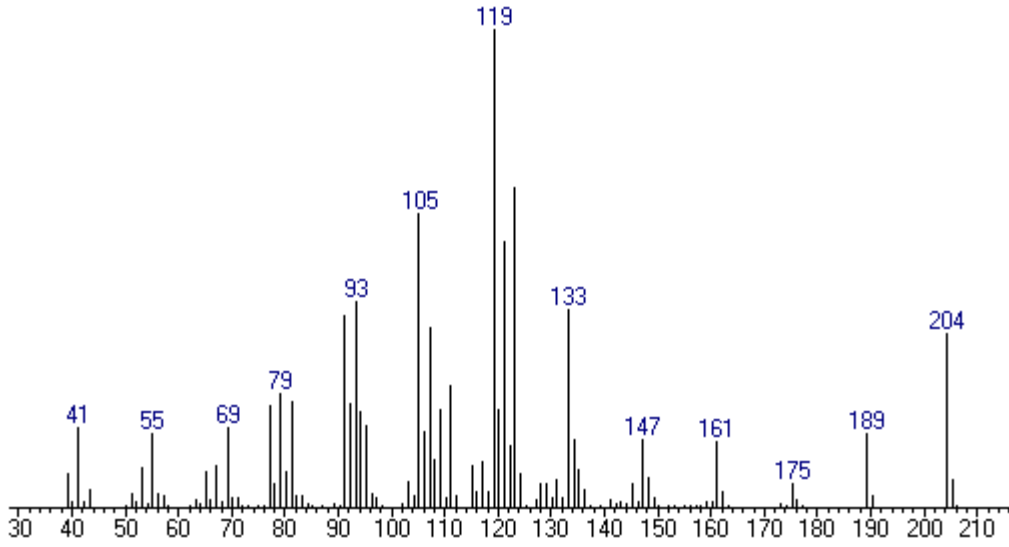
Şekil 44. *Widdringtonia whytei* (Mulanje Sediri) uçucu yağının Gaz Kromatogramı



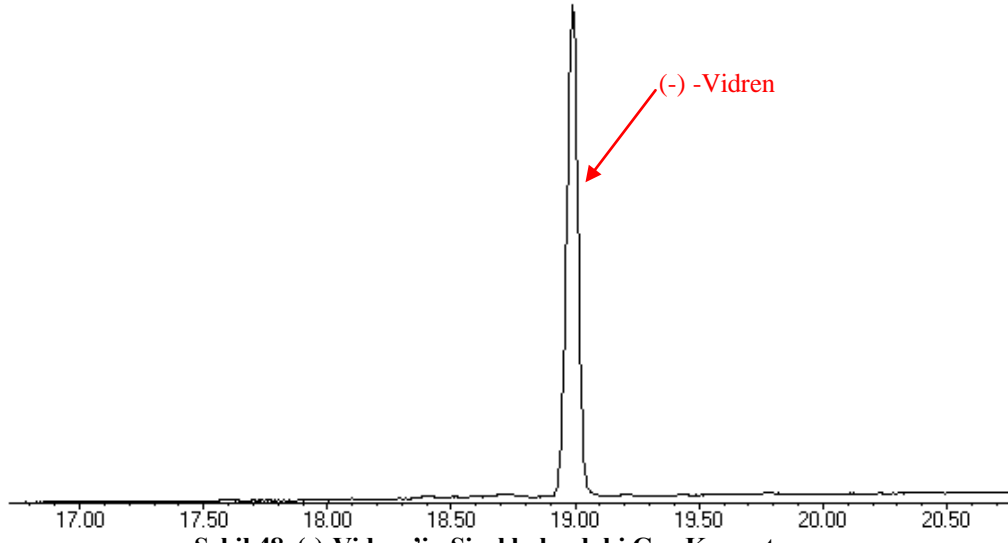
Şekil 45. *Widdringtonia whytei* uçucu yağının GK/PFT Sistemindeki Gaz Kromatogramı ve Vidren'in Tespiti



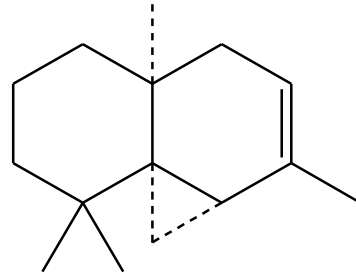
Şekil 46. *Widdringtonia whytei* uçucu yağından izole edilen Vidren'in Gaz Kromatogramı (Vidren %95)



Şekil 47. *Widdringtonia whytei* uçucu yağından izole edilen Vidren'in kütle spektrumu



Şekil 48. (-)-Vidren'in Şiral kolondaki Gaz Kromatogramı



Şekil 49. (-)-Vidren (Tuyopsen)

Sinonimi	: (1 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,10 <i>S</i>)-2,2,6,9-Tetrametiltrisiklo[8.1.0.0 ^{1,6}]undek-8-en
Molekül formülü	: C ₁₅ H ₂₄
Molekül ağırlığı	: 204.355
[α] _D ²⁰	: -390 (1.175 mg/mL, DMSO)

Uçucu Yağların Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Yapılan çalışmalarda Çizelge 1’de verilen bitki örneklerinden elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal özelliklerinin araştırılmasında Mikrobroth Dilüsyon metodu kullanılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen değerler **Çizelge 8’**de verilmiştir.

Çizelge 8’de görüldüğü gibi standart maddeler olan kloramfenikol (antibakteriyal), ketokonazol (antifungal) ile karşılaştırıldıklarında tüm uçucu yağların kullanılan mikroorganizmalara karşı orta derecede etki gösterdikleri görülmüştür. Tüm uçucu yağların 0.16875 µg/ mL’den 1.25 µg/ mL’ye kadar değişen konsantrasyonlarda antibakteriyal etki gösterdiği bulunmuştur.

Ammi visnaga bitkisine ait uçucu yağın 0.3375 µg/ mL’lik konsantrasyonla *Pseudomonas aeruginosa* bakterisine karşı kloramfenikol’e oranla daha etkili olduğu, 0.16875 µg/ mL’lik konsantrasyonda da ketokonazol’e oranla daha az antifungal etkisi olduğu görülmüştür.

Matricaria chamomilla bitkisine ait uçucu yağın 0.625 ve 1.25 µg/ mL’lik konsantrasyonlarda antibakteriyal ve 0.625 µg/ mL’lik konsantrasyonlarda antifungal etkisi olduğu, standartlarla karşılaştırıldığında bu etkinin zayıf olduğu görülmüştür.

Juniperus sabina bitkisi uçucu yağının 0.3125 µg/ mL’den 1.25 µg/ mL’ye kadar değişen konsantrasyonlarla standartlara oranla daha az antibakteriyal ve antifungal etkilere sahip olduğu görülmüştür.

Widdringtonia whytei bitkisi uçucu yağının ise 0.625 ve 1.25 µg/ mL’lik konsantrasyonlarla etkili olabilmektedir.

Çizelge 8. Uçucu Yağların Minimal İnhibe Edici Konsantrasyonları (MİK-µg/mL)

Mikroorganizma / Maddeler	A	B	C	D	Kontrol
<i>Escherichia coli</i>	0.3375	1.25	1.25	1.25	0.03125*
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.3375	0.625	0.625	0.625	0.03125*
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.3375	1.25	1.25	1.25	0.5*
<i>Salmonella typhimurium</i>	0.3375	1.25	1.25	1.25	0.0156*
<i>Bacillus cereus</i>	0.3375	0.625	0.3125	0.625	0.0156*
<i>Meth. Resist. S. aureus MRSA</i>	0.16875	0.625	0.625	0.625	0.03125*
<i>Candida albicans</i>	0.16875	0.625	0.625	0.625	0.125**
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0.16875	0.625	0.625	0.625	0.125**

A: *Ammi visnaga*, B: *Matricaria chamomilla*, C: *Juniperus sabina*, D: *Widdringtonia whytei*
Kontrol: Kloramfenikol*, Ketokonazol**

Uçucu Yağlardan İzole Edilen Uçucu Bileşenlerin Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Yapılan çalışmalarda **Çizelge 1**'de verilen bitki örneklerinin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağlardan izole edilen uçucu bileşenlerin antimikrobiyal özelliklerinin araştırılmasında uçucu yağlarda olduğu gibi Mikrobrot Dilyasyon metodu kullanıldı. Çalışma sonucunda elde edilen değerler **Çizelge 9**'de verildi.

Çizelge 9'da görüldüğü gibi standart maddeler olan kloramfenikol (antibakteriyel), ketokonazol (antifungal) ile karşılaştırıldıklarında izole edilen tüm uçucu bileşenlerin kullanılan mikroorganizmalara karşı orta derecede etki gösterdikleri görüldü. Tüm uçucu bileşenlerin 0.1093 µg/ mL'den 1.362 µg/ mL'ye kadar değişen konsantrasyonlarda etki gösterdiği görüldü.

Ammi visnaga bitkisi uçucu yağından izole edilen A kodlu bileşiğin 0.437 µg/ mL'lik konsantrasyonla kloramfenikol'e oranla *Pseudomonas aeruginosa* bakterisine karşı daha çok etkili antibakteriyel olduğu ve 0.1093 µg/ mL'lik konsantrasyonla da ketakonazol'e oranla *Candida albicans* fungusuna karşı daha etkili bir antifungal olduğu görüldü.

Juniperus sabina bitkisi uçucu yağından izole edilen sabinen uçucu bileşeninin 1,1125 µg/ mL ve daha yüksek konsantrasyonlarda zayıf antibakteriyel etkili olduğu, 1,1125 ve 0.5562 µg/ mL' lik konsantrasyonlarda da zayıf antifungal etkili olduğu görüldü. Aynı uçucu yağdan izole edilen sabinil asetat uçucu bileşeninin 1.362 µg/ mL ve daha yüksek konsantrasyonlarda zayıf antibakteriyel etkili, 1.362 ve 0.6812 µg/ mL'lik konsantrasyonlarda da zayıf antifungal etkili olduğu görüldü.

Widdringtonia whytei bitkisi uçucu yağından izole edilen vidren (tuyopsen) uçucu bileşeninin 0.5875 µg/ mL ve daha yüksek konsantrasyonlarda antibakteriyel etkisinin zayıf olduğu, 0.5875 ve 0.1469 µg/ mL'lik konsantrasyonlarda da zayıf antifungal etkiye sahip olduğu görüldü.

Matricaria chamomilla bitkisi uçucu yağından izole edilen bisabolon oksit uçucu bileşeninin 0.4 µg/ mL konsantrasyonda kloramfenikol'e oranla *P. aeruginosa* bakterisine karşı daha yüksek antibakteriyel etkili olduğu görülürken, 0.4 ve 0.2 µg/ mL'lik konsantrasyonlarda zayıf antifungal etkiye sahip olduğu görüldü. Aynı uçucu yağdan izole edilen α-bisabolol oksit A uçucu bileşeninin ise 0.65 µg/ mL'lik konsantrasyonda zayıf antibakteriyel etkiye sahip olduğu ve 0.65 ve 0.325 µg/ mL'lik konsantrasyonlarda da antifungal etkisinin de zayıf olduğu görüldü.

Çizelge 9. Uçucu Bileşenlerin Minimal İnhibe Edici Konsantrasyonları (Mik- µg/mL)

Mikroorganizma / Maddeler	Ab	Sb	Sa	Vd	Bo	Boa	Std
<i>Escherichia coli</i>	0.437	>1.1125	>1.362	0.5875	>0.4	0.65	0.0635*
<i>Staphylococcus aureus</i>	>0.437	>1.1125	>1.362	>0.5875	>0.4	0.65	0.03125*
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.437	1.1125	1.362	0.5875	0.4	0.65	0.5*
<i>Salmonella typhimurium</i>	0.437	>1.1125	>1.362	>0.5875	>0.4	0.65	0.0625*
<i>Bacillus cereus</i>	>0.437	>1.1125	>1.362	>0.5875	>0.4	0.65	0.03125*
<i>Meth. Resist. S. aureus MRSA</i>	0.437	1.1125	1.362	>0.5875	0.4	0.65	0.0156*
<i>Candida albicans</i>	0.1093	1.1125	1.362	0.5875	0.4	0.65	0.125**
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0.2187	0.5562	0.6812	0.1469	0.2	0.325	0.125**

Ab: A kodlu bileşik Sb: Sabinen Sa: Sabinil asetat Vd: Vidren Bo: Bisabolon oksit

Boa: α -Bisabolol oksit Std: Kloramfenikol *, Ketokonazol**

SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, uçucu yağlardaki bileşiklerin belirlenmesi amacıyla daha önceden genel analizleri yapılmış uçucu yağların taranması ve bu yağların içerdikleri bileşiklerin başta tanımlanamayan bileşikler olmak üzere aktivite çalışmaları yapılabilmesi amacıyla önemli bileşiklerin preparatif fraksiyonlama sistemi ile izole edilmesi amaçlanmıştır.

Çalışma kapsamında, *Ammi visnaga* (L.) Lam. (Diş otu), *Matricaria chamomilla* L. (Mayıs papatyası), *Juniperus sabina* L. (Sabin ardıcı) ve *Widdringtonia whytei* Rendle. (Mulanje sediri) türlerinin Clevenger apareyinde su distilasyonu yöntemi ile uçucu yağları elde edildi.

Elde edilen uçucu yağlar öncelikle genel bileşimlerinin durumunu belirlemek amacıyla GK ve GK/KS ile analizleri yapıldı. Yapılan analizler sonucunda *A. visnaga* uçucu yağında A kodlu bileşik (% 16.5), *M. chamomilla* uçucu yağında bisabolon oksit (% 36.5) ve α -bisabolol oksit A (% 46), *J. sabina* uçucu yağında sabinen (% 9.2) ve sabinil asetat (% 39.3), *W. whytei* uçucu yağında ise vidren (% 28.3) önemli ana bileşikler olarak tespit edildi.

A kodlu bileşiğin yapısının aydınlatılması amacıyla kütle spektrum bilgileri yanında NMR ölçümleri de gerçekleştirildi. Ölçümler sonucunda A kodlu bileşiğin açık formülünün 4-acetoxymethyl-2-[(5-methyl-1-methylene)-hex-4-enyl]-1-methyl-1-(4-methyl-pent-3-enyl)-cyclobutane olduğu tespit edildi. Bu maddenin, 1985'te Stahl ve Sinnwell'in *Ammi visnaga* uçucu yağında tespit ettikleri madde ile aynı sonuçları verdiği görüldü (Stahl ve Sinnwell, 1985). Alınan sonuçlar neticesinde maddenin farklı steryoizomer yapıya sahip olabilirdiği anlaşılmıştır. Maddenin sahip olduğu tüm steryoizomerik yapıların daha ayrıntılı tespitinin ileriki çalışmalarda yapılması planlanmış, bu çalışmada sadece genel yapı açıklanmıştır.

GK sisteminde tespit edilen bütün bileşenler Gerstel Preparatif Fraksiyon Topayıcı (PFT) ile eş zamanlı çalışan Agilent 7890A Gaz Kromatografi-GK/PFT sistemine enjekte edilerek preparatif uygulama ile her bir hedef madde için istenilen kromatografik ayrımlarının sağlandığı parametreler belirlendi. Bu parametreler doğrultusunda yeterli miktara ulaşmaya kadar tekrarlanarak PFT’da toplandı. Yeterli miktara ulaşıldıktan sonra elde edilen maddeler tekrar GK/KS sistemine enjekte edilerek kontrolleri yapıldı. Çalışmalar sonunda A kodlu bileşik % 97.7, Bisabolon oksit % 98.6, a-Bisabolol oksit A % 95, Sabinen % 97.5, Sabinil asetat % 97.2 ve Vidren % 95 saflıkta izole edildi.

Enantiomerik özelliği olduğu tespit edilen Sabinen, Sabinil asetat ve Vidren’in optik çevirme açısı ölçümleri yanı sıra GK/KS sistemine şiral kolon takılarak kromatografik analizleri de yapılarak enantiomerik durumları belirlendi.

İzole edilen tüm bileşenlerin antimikrobiyal ve antifungal aktivite çalışmaları yapıldı. Antimikrobiyal ve antifungal aktivitelerin araştırılmasında Mikrobroth Dilüsyon metodu kullanıldı ve yağlar standart maddeler olan kloramfenikol (antibakteriyel), ketokonazol (antifungal) ile karşılaştırıldı. *A. visnaga* uçucu yağının 0.3375 µg/mL’lik konsantrasyonda, bu yağdan izole edilen A kodlu bileşiğin 0.437 µg/mL’lik konsantrasyonda ve *M. chamomilla* uçucu yağından izole edilen Bisabolon oksit’in 0.4 µg/ml’lik konsantrasyonda *Pseudomonas aeruginosa* bakterisine karşı antibakteriyel etkili olduğu bulundu. *A. visnaga*’dan izole edilen A kodlu bileşiğin 0.1093 µg/mL’lik konsantrasyonda *Candida albicans*’a karşı antifungal etkili olduğu da görüldü. Diğer bitki türlerine ait uçucu yağların ve izole edilen diğer bileşiklerin antibakteriyel ve antifungal etkilerinin zayıf olduğu görüldü.

Ammi visnaga uçucu yağı ve bu yağdan izole edilen A kodlu bileşiğin ve *Matricaria chamomilla* uçucu yağından izole edilen Bisabolon oksit uçucu bileşiğinin *P. aeruginosa*’ya karşı olan yüksek antibakteriyel etkisi insan sağlığı açısından önemlidir.

P. aeruginosa, non-spesifik veya spesifik bağışıklık sistem defekti olan kişilerde enfeksiyonlara sebep olur. *P. aeruginosa* özellikle hastane ortamlarında çok önemlidir. Nemli ortamlarda her türlü koşulda kolaylıkla üreyebilmesi nedeniyle çok çeşitli enfeksiyon kaynakları söz konusudur. Bu kaynakların başında, lavabolar, tuvaletler, kozmetikler, nem cihazları, solunum cihazları, inhalatörler, narkoz aygıtları, diyaliz makinaları gelmektedir. Bu türün sebep olduğu en önemli enfeksiyonların kistik fibrozlu ve solunum yetmezliği olan hastalarda pnömoni, yanık yara enfeksiyonları, ameliyat sonrası yara enfeksiyonları, kronik piyelonefrit, ilaç bağımlılarında endokardit, septisemi, malign dış kulak iltihabı olduğu bilinmektedir (Kayser ve ark., 1992).

Ürdün tıbbi bitkileri üzerine yapılan bir çalışmada *A. visnaga* türünün *E. coli* patojen bakterisine karşı yüksek inhibe edici etkiye (800ppm) sahip olduğu bulunmuştur (Dababneh, 2008).

Fas florasında yetişen *A. visnaga* türü üzerinde yapılan antimikrobiyal ve antimikotik çalışmalarda *A. visnaga*’nın 1/500 V/V konsantrasyonda *E. coli*’yi inhibe ettiği görülürken *B. subtilis* ve *S. aureus*’u 1/250 V/V konsantrasyon ve üzeri konsantrasyonlarda inhibe etmediği görülmüştür. Aynı çalışmada 1/100 V/V

konsantrasyonda *A. visnaga*'nın kullanılan tüm fungusları inhibe ettiği görülmüştür (Satrani ve ark., 2004).

Vajinal candidiasis hastalığının tedavisinde kullanılan bazı türlerin antimikrobiyal aktivitelerinin araştırıldığı bir çalışmada *M. chamomilla* türünün ve kullanılan diğer türlerin gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere ve *C. albicans*'a karşı yüksek antimikrobiyal etkiye sahip oldukları görülmüştür (Kondratyeva, 2007).

Bazı uçucu yağların *B. subtilis* ve *B. cereus* mikroorganizmalarına karşı biyolojik aktivitelerinin araştırıldığı bir çalışmada, *M. chamomilla*'nın toprak basili suşları olan *B. subtilis* ve *B. cereus*'e karşı düşük antimikrobiyal etki (MIC \leq 0.2) gösterdiği görülmüştür (Gurguluva, 2006).

Tedavi amacıyla kullanılan bitkilerin uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitelerinin araştırıldığı bir çalışmada, *M. chamomilla* uçucu yağının 7.0-10.0 µg/mL'lik konsantrasyonlarda standart madde streptomisinden daha düşük antimikrobiyal etki gösterdiği görülmüştür (Sokovic ve ark., 2010)

İran bitkilerinin antimikrobiyal aktivitelerinin araştırıldığı bir çalışmada, bu bitkilerden *J. sabina*'nın kullanılan *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus cereus* bakterilerine karşı önemli antibakteriyel etkisinin olduğu görülmüştür (Bazzaz, 2008).

İran florasında yetişen *J. sabina* ve *J. foetidissima* türlerinin kimyasal ve antimikrobiyal aktivitelerinin araştırıldığı bir çalışmada, *J. sabina*'nın *B. subtilis*, *C. albicans*, *E. coli* ve *S. aureus* mikroorganizmalarına karşı zayıf antimikrobiyal etkiye sahip olduğu, *P. aeruginosa*'ya karşı hiçbir etki göstermediği görülmüştür (Asili ve ark., 2010).

Uçucu yağlar içerdikleri bileşikler açısından önemli bir yere sahiptir. Ülkemizde aromatik bitkilerin kullanımı ve bu konudaki araştırmalar ne yazık ki yeterli düzeyde değildir. Bu nedenle bu yağlardan doğal bileşiklerin izole edilerek değerlendirilmesi ülkemiz için olduğu kadar dünya piyasaları açısından da önemlidir.

Uçucu yağlardan uçucu bileşenlerin Preparatif Fraksiyon Toplayıcı sistemi ile izolasyonu ülkemizde ilk defa "Uçucu Yağlardaki Enantiomerlerin Taranması, İzolasyonu ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları" adı altında 107T498 numaralı TÜBİTAK projesi ile gerçekleştirilmiştir. Bu tez çalışması ile PFT sistemi ile çalışmalar pekiştirilmiştir. Tez çalışmasında kullanılan uçucu yağlardan izole edilen maddeler, ülkemizde ilk defa bu çalışmada PFT sistemi ile izole edildi ve aktivite çalışmaları gerçekleştirildi. Enantiomerik özelliğe sahip olan sabinen, sabinil asetat ve vidren bileşiklerinin şiral kolon ile kromatografik analizleri ülkemizde ilk defa bu çalışmada yapıldı.

Bu çalışma, uçucu yağların içerdiği önemli ve nadir olan bileşiklerin, enantiomerik madde izolasyonu, aktivite ve biotransformasyon çalışmalarına yönelik yeni bilimsel çalışmaların alt yapısını oluşturacak nitelikte olduğunu göstermesi bakımından önemlidir. PFT sisteminin GK sistemiyle birlikte kontrollü olarak kullanım kolaylığı bulunmaktadır. Benzer tarzda yapılacak çalışmalar için PFT sisteminin güvenilir bir uygulama olarak kullanılabileceği deneysel olarak da görülmüştür.

KAYNAKLAR

- Adams, R. P., Pandey, R. N., Analysis of *Juniperus communis* and its varieties based on DNA fingerprinting, *Biochemical Systematics and Ecology*, 31, 1271-1278 (2003).
- Adams, R. P., The leaf essential oils and chemotaxonomy of *Juniperus* sect. *Juniperus*, *Biochemical Systematics and Ecology*, 26, 637-645 (1998).
- Akçoşkun, Ö., Eskişehir İli Apiaceae (Umbelliferae) Familyası Üzerine Sistemik ve Korolojik Bir Çalışma, Yüksek Lisans Tezi, Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye, (2010).
- Al-Douri, N. A., A Survey of Medicinal Plants and Their Traditional Uses in Iraq, *Pharmaceutical Biology*, 38(1), 74-79 (2000).
- Arabacı, T., Türkiye’de Yetişen *Achillea* L. (Asteraceae) Cinsinin Revizyonu, Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya, Türkiye (2006).
- Arıdoğan, B. C., Baydar, H., Kaya, S., Demirci, M., Özbaşar, D., Mumcu, E., Antimicrobial Activity and Chemical Composition of Some Essential Oils. *Arch. Pharm. Res.*, 25(6), 860-864 (2002).
- Asili, J., Emami, S. A., Rahimizadeh, M., Fazly-Bazzaz, B. S., Hassanzadeh, M. K., Chemical and Antimicrobial Studies of *Juniperus sabina* L. and *Juniperus foetidissima* Willd. Essential Oils, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 13(1), 25-36 (2010).
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. ve Idaomar, M., Biological effects of essential oils – A review, *Food and Chemical Toxicology*, 46, 446–475 (2008).
- Başer, K. H. C., Aromatic plants as a source of botanicals, *Acta Horticulturae*, 720, 27-33 (2006).
- Başer, K. H. C., Kırimer, N., Koşar, M., Tunalier, Z, Bitkisel drogların kimyasal incelenmesi, *Farmakognozi III Uygulamaları El Kitabı*, Eskişehir, 13-15 (2005).
- Başer, K. H. C., Uçucu Yağlar ve Aromaterapi, *Fitomed Dergisi*, 7, 8-16 (2009).
- Bayliss, J., Makungwa, S., Hecht, J., Nangoma, D., Bruessow, C., Saving the Island in the Sky: the plight of the Mount Mulanje cedar *Widdringtonia whytei* in Malawi, *Oryx*, 41(1), 64-69 (2007).
- Bayram, E., Kırıcı, S., Tansı, S., Yılmaz, G., Arabacı, O., Kızıl, S., Telci, İ., Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Üretiminin Arttırılması Olanakları, *Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Paneli*, İzmir, (2008).
- Baytop, T., Therapy with medicinal plants in Turkey (Past and Present), Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul (1999).
- Baytop, T., Uçucu yağlar, *Farmakognozi Cilt 2*, İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul, 146-151, (1986).
- Bazzaz, B. S. F., Azadbakht, M., Doust M. S., Antibacterial Activity of Essential Oils of Iranian Plants (Mazandaran Province), *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 11(4), 436-442 (2008).

- Benchaar, C., Calsamiglia, S., Chaves, A.V., Fraser, G. R., Colombatto, D., McAllister, T. A., Beauchemin, K. A., A Review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Science and Technology*, 145, 209-228 (2008).
- Beşe, M., Mikrobiyolojide kullanılan antibiyotik duyarlılık ve deneme yöntemleri, Kardeşler Basımevi, İstanbul, 13-25 (1989).
- Bıçakçı, A., Tosunoğlu, A., Altunoğlu, M. K., Çelenk, S., Erkan, P., Canitez, Y., Malyer, H., Sapan, N., Allerjenik *Cupressaceae* (servi, ardıç ağacı) polenlerinin Türkiye'deki dağılımları, *Asthma Allergy Immunol*, 8, 1-12 (2010).
- Bounoshita, M., Hibi, K., and Nakamura, H., Determination of Enantiomer Ratios of d,l-Carvone in Supercritical Fluid Extracts from Caraway Seeds and Spearmint Leaves by High-Performance Liquid Chromatography with Polarimetric and Ultraviolet Spectrophotometric Detection. *Analytical Sciences*, 9, 425-428 (1993).
- Burt, A., S., Essential Oils: their antibacterial properties and potential applications in foods, *International Journal of Food Microbiology* 94, 223-253 (2004).
- Ceylan, A., Tıbbi Bitkiler II Uçucu Yağ Bitkileri, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Bornova, İzmir, 110-123 (1996).
- Cronquist, A., An Integrated System of Classification of Flowering Plants, Columbia University Press, New York, 1021-1028 (1981).
- Çelik, E., Çelik, G. Y., Bitki Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Özellikleri, *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 5(2), 1-6 (2007).
- Dababneh, B. F., Antimicrobial activity of selected Jordanian medicinal plant extracts against pathogenic microorganisms, *Journal of Food Agriculture & Environment*, 6(2), 134-139 (2008).
- Davis, P. H., Flora of Turkey and The East Aegean Islands, Edinburgh University Press, Edinburgh, 4, 265-266 (1972).
- Davis, P. H., Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Edinburgh University Press, Edinburgh, 5, (1975).
- Demirçakmak, B., *Cedrus libani* Uçucu Yağının Bileşimi, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye (1994).
- Dorman, H. J. D., Deans, S. G., Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils, *J. Appl. Microbiol.* 88, 308–316 (2000).
- Eddouks, M., Maghrani, M., Lemhadri, A., Ouahidi, M. L., Jouhad, H., Ethnopharmacological survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes mellitus, hypertension and cardiac diseases in the south-east region of Morocco (Tafilalet), *Journal of Ethnopharmacology*, 82, 97-103 (2002).
- Elof, J.N., A sensitive quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria, *Planta Med.*, 64, 711-713 (1998).
- Erdem, S., Eren, P. A., Tedavi Amacıyla Kullanılan Bitkiler ve Bitkisel Ürünlerin Yan Etkileri, *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 66 (3): 133-141 (2009).

Erkan, I., *Ammi visnaga* ve *Ammi majus* (Umbelliferae)'un Biyokimyasal Analizi ve Rapt-Pcr Yöntemi ile Polimorfizm ve Filogenetik İlişkisi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye (2008).

Evans, W. C., Trease and Evans Pharmacognosy, 15th edition, University of Nottingham, W. B. Saunders Company, Nottingham, UK. (2008).

Gil-Av, E., Feibush, B., Charles-Sigler, R. Separation of enantiomers by gas-liquid chromatography with an optically active stationary phase. *Tetrahedron Lett.* 7(10), 1009-1015 (1967).

Gurguluva, K., Nenchev, P., Zhelyazkova, I., Pavlov, D., Study on biological activity of some essential oils to microorganisms *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis*, *Zhivotnovodni Nauki*, 43(5), 42-45 (2006).

Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T., Başer, K. H. C., Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Edinburgh Univ. Press, Edinburgh, 11, 578-582 (2000).

Hadacek, F., and Greger, H., Testing of antifungal natural products; methodologies, comparability of results assay choice, *Phytochem. Anal.*, 11, 137-147 (2000).

Handa, S. S., An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and Aromatic Plants In: Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants, S. S. Handa et al. (Eds.), UNIDO, Vienna (2008).

He, L., and Beesley, T. E., Applications of enantiomeric gas chromatography: A review. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 28, 1075-1114 (2005).

Heath, H. B., Source Book of Flavors, The Avi Publishing Company Inc., Connecticut, 84-95 (1981).

http-1 Bitkiler Alemi,

<http://eogrenme.anadolu.edu.tr/Portal/Ders.aspx?dersKodu=2281> (26.07.2010).

http-2 Mulañe cedar (*Widdringtonia whytei*), <http://www.arkive.org/mulanje-cedar/widdringtonia-whytei/info.html> (27.07.2010).

http-3 Gerstel PFC, <http://www.gerstel.com/en/preparative-gc-fraction-collection.htm> (16.12.2010)

İşcan, G., Umbelliferae familyasına ait bazı bitki türlerinin uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye (2002).

Jarrahi, M., An Experimental Study of the Effects of *Matricaria chamomilla* Extract on Cutaneous Burn Wound Healing in Albino Rats, *Natural Product Research*, 22(5), 423-428 (2008).

Kan, Y., Ülkemizde Kültürü Yapılan Antiaging Etkili Tıbbi Bitkiler, *Türkiye Klinikleri J. Med. Sci.*, 28, 170-174 (2008).

Karamanoğlu, K., Farmasötik Botanik, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara, 44, 227-228 (1977).

- Kayser, F. H., Bienz, K. A., Eckert, J., Lindenmann, J., Tıbbi Mikrobiyoloji-İmmunoloji, Bakteriyoloji, Mikoloji, Viroloji, Parazitoloji. Nobel Tıp Kitabevleri, 8. Baskı, İstanbul, Türkiye, 231-232 (1992).
- Kırımer, N., Arslandere, Ö., Başer, K. H. C., Yağaltı sularının kimyasal bileşimi, 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı (2002).
- Kocakulak, E., *Juniperus drupacea* Lab. uçucu yağı üzerinde araştırmalar, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye (2007).
- Koltuksuz, G., *Actinolema macrolema* Boiss. (Apiaceae) uçucu yağı üzerinde araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye (2007).
- Kondratyeva, N. A., Odegova, T. F., Blinova, O. A., Ivanov, A. I., Korostelev, S. A., Antimicrobial activity of species for the treatment of vaginal candidiasis, Farmatsiya (Moscow), 8, 36-37 (2007).
- Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Winn W.C., Color atlas and textbook of diagnostic microbiology, Lippincott-Raven Pub, Philadelphia, USA, 785-856 (1997).
- Lawrence, B. M., The Isolation of Aromatic Materials from Natural Plant Products In: A Manual on the Essential Oils and Aroma Chemicals Industries, K. Tuley de Silva (Eds.), UNIDO, Vienna (1995).
- Makungwa, S. D., Inventory Results of Mulanje Cedar Resources on Mulanje Mountain, Mulanje Mountain Conservation Trust, Malawi (2004).
- Oflaz, S., Ticari *Origanum* türlerinin farmakognozik araştırması, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye (2001).
- Pauw, C. A., Linder, H. P., Tropical African cedars (*Widdringtonia*, Cupressaceae): systematics, ecology and conservation status, Botanical Journal of the Linnean Society, 123, 297-319 (1997).
- Pimenov, M. G., and Leonov, M. V., The Asian Umbelliferae Biodiversity Database (ASIUM) with Particular Reference to South-West Asian Taxa, Turk J. Bot., 28, 139-145 (2004).
- Rekka, E. A., Kourounakis, A. P., Kourounakis, P. N., Investigation of the Effect of Chamazulene on Lipid Peroxidation and Free Radical Processes, Res Commun Mol Pathol Pharmacol., 92(3), 361-364 (1996).
- Ristorcelli, D., Tomi, F., Casanova, J., 13C-NMR as a tool for identification and enantiomeric differentiation of major terpenes exemplified by the essential oil of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas*. Flavour and Fragrance Journal, 13, 154-158 (1998).
- Saday, S., *Jurinea* Cass. (Compositae) Üzerinde Morfolojik, Palinolojik ve Anatomi Araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye (2005).

- Satrani, B., Farah, A., Fechtal, M., Talbi, M., Bouamrani, M. L., Chemical composition and antibacterial and antimycotic activity of the essential oil of *Ammi visnaga* (L.) Lam. from Morocco, *Acta Botanica Gallica*, 151(1), 65-71 (2004).
- Schemppa, H., Weiserb, D., Kelber, O., Radical Scavenging and Antiinflammatory Properties of STW 5 (Iberogasts) and Its Components. *Phytomedicine*, 13, 36-44 (2006).
- Sokovic, M., Glamoclija, J., Marin, P. D., Brkic, D., Van Griensven, L. J. L. D., Antibacterial Effects of the Essential Oils of Commonly Consumed Medicinal Herbs Using an In Vitro Model, *Molecules*, 15, 7532-7546 (2010).
- Stahl E, Sinnwell V., A Volatile Diterpenoid from Ammi-Visnaga Fruits. In: 'Brunke, E.-J. (Ed.). *Progress in Essential Oil Research; International Symposium, Holzminden/Neuhaus, West Germany, September 18-21 (1985)*
- Tan, M., Koç, A., Zengin, H., Türkiye'nin Çayır ve Mera Bitkileri, T. C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Üretim ve Geliştirme Genel Müdürlüğü, Çayır, Mera, Yem Bitkileri ve Havza Geliştirme Daire Başkanlığı (2008).
- Tanker, M., Tanker, N., *Farmakognozi Ders Kitabı*, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 65, 269-270, Ankara (1998a).
- Tanker, M., Tanker, N., Uçucu yağlar, *Farmakognozi Cilt 2*, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 269-297 (1985).
- Tanker, N., Koyuncu, M., Coşkun, M., *Farmasötik Botanik*, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara, 360-361 (1998b).
- Toroğlu, S., Çenet, M., Tedavi Amaçlı Kullanılan Bazı Bitkilerin Kullanım Alanları ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi İçin Kullanılan Metodlar, *KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi*, 9(2), 12-20 (2006).
- Tümen, İ., Türkiye'de yetişen *Juniperus* ssp. türlerinin iğne yaprak, meyve ve kozalaklarının kimyasal bileşenleri, Doktora Tezi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Zonguldak, Türkiye (2005).
- Tür, L., Karbon tetraklorür ile karaciğer hasarı oluşturulan ratlarda *Matricaria chamomilla* L. nin karaciğer üzerine koruyucu etkilerinin araştırılması, Doktora Tezi, Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar, Türkiye (2008).
- Türk Farmakopesi I, Avrupa Farmakopesi Adaptasyonu, Sağlık Bakanlığı, Ankara, p. 118, (2004).
- Tyler, V. E., Broady, L. R., Robbers, J. E., *Pharmacognosy 9nd Ed.*, Lea and Febiger, Philadelphia, 103-110 (1988).
- Umdü, Ü., Bazı *Pilosella* Hill. (Compositae) Türlerinin Morfolojik ve Anatomik Yönden İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, Türkiye (2000).
- Vanden Berge, D.A., Vlietinck, A. J., Screening methods for antimicrobial and antiviral agents from higher plants, *methods in plant biochemistry*, Academic Press, London, England, 37-53 (1991).

Yaltrık, F., Dendroloji Ders Kitabı I: Gymnospermae, İstanbul Üniversitesi Yayınları No:3443, İstanbul, (1993).

Yılmaz, B. S., Tedavide Kullanılan Bitkiler “FFD Monografları”: *Matricaria chamomilla*-Papatya. Nobel Tıp Kitapevleri Yayınları, Ankara, Türkiye 21, 159-164 (2007).

Zanoli, U. P., Avallone, R., Baraldi, M., Behavioral Characterisation of the Flavonoids Apigenin and Chrysin. *Fitoterapia* 71, 117-123 (2000).