

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI



**ÇUHA ÇİÇEĞİNİN YAĞ BİLEŞENLERİNİN TESPİTİ VE BAZI
BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

MEHMET OĞUZ İPEKÇİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Baki ÇİÇEK..... (Tez Danışmanı)
Öğr. Gör. Dr. Ümit ÇALIŞIR..... (Eş Danışman)
Prof. Dr. Ümit ÇAKIR
Prof. Dr. Gani KOZA

BALIKESİR, HAZİRAN - 2024

ETİK BEYAN

Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak tarafımda hazırlanan “**Çuha Çiçeğinin Yağ Bileşenlerinin Tespiti ve Bazı Biyolojik Özelliklerinin İncelenmesi**” başlıklı tezde;

- Tüm bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Kullanılan veriler ve sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Tüm bilgi ve sonuçları bilimsel araştırma ve etik ilkelere uygun şekilde sunduğumu,
- Yararlandığım eserlere atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,

beyan eder, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Mehmet Oğuz İPEKÇİ

ÖZET

**ÇUHA ÇİÇEĞİNİN YAĞ BİLEŞENLERİNİN TESPİTİ VE BAZI BİYOLOJİK
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
MEHMET OĞUZ İPEKÇİ
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. BAKİ ÇİÇEK)
(EŞ DANIŞMAN: ÖĞR. GÖR. DR. ÜMİT ÇALIŞIR)**

BALIKESİR, HAZİRAN - 2024

Bitkilerden elde edilen ve fitokimyasallar olarak adlandırılan kimyasalları inceleyen bilim dalına fitokimya denir. Çuha çiçeği latince *Primula vulgaris* ismiyle bilinir ve Primulaceae familyasına ait çok yıllık bir bitkidir. Çuha çiçeği sabit yağlarının antioksidan özellikleri sayesinde birçok medikal ve kozmetikte kullanım alanına sahiptir. Bu yağlar kozmetik alanlarında yaygın olarak kullanıldığı bilinmektedir. Bu çalışmada kullanılan çuha çiçeği numuneleri Çorum'un İskilip ilçesine bağlı Yalak Köyü civarında bulunan Yalak Yaylası bölgesinden 11 Mart 2023 tarihinde hasat edildi. Çuha çiçeğinin kök, yaprak ve çiçek kısmından elde edilen sabit yağlar hegzan kullanılarak Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilmiştir. Kök, yaprak ve çiçek kısımlarında elde edilen sabit yağların antioksidan özellikleri DPPH analizi, CUPRAC tayini, toplam fenolik madde analizi ve toplam flavonoid analizi ile belirlenmiştir. Ayrıca DNA koruma aktivitesi tüm bileşenler için tespit edilmiştir. Son olarak GC-MS kullanılarak kimyasal yağ bileşimi belirlenmiştir. GC-MS'le yapılan kimyasal bileşim analizinde kök yağ numunesinde %58,85 oleik asit metil esteri, %27,74 palmitik asit metil esteri ve %6,03 cis-10-heptadenoik asit metil esteri; yaprak yağ numunesinde %48,71 stearik asit metil esteri, %23,91 oleik asit metil esteri, %15,12 palmitik asit metil esteri ve çiçek yağ numunesinde %26,57 γ -linolenik asit metil esteri, %25,18 oleik asit metil esteri, %19,63 palmitik asit metil esteri tespit edilmiştir. Elde edilen yağ numunelerinin FTIR ile yapı-fonksiyonel grup analizleri gerçekleştirilmiştir. DPPH yöntemine göre antioksidan aktiviteleri kök sabit yağı için 0,0407 μ g troloks eşdeğeri/ μ l, CUPRAC tayinine göre antioksidan aktiviteleri kök sabit yağı için 0,2309 μ g askorbik asit eşdeğeri/ μ l, toplam fenolik madde analizine göre antioksidan aktiviteleri kök sabit yağı için 0,0099 μ g gallik asit eşdeğeri/ μ l, toplam flavonoid analizi yöntemine göre antioksidan aktiviteleri yaprak sabit yağı için 0,2327 μ g kuersetin eşdeğeri/ μ l olarak belirlenmiştir. Elde edilen yağ numunelerinin DNA koruma aktivitesi tayini gerçekleştirilmiştir ve DNA plazmite herhangi bir etki oluşturmadığı ve DNA plazmitin fenton tarafından kırınımına da herhangi bir koruma aktivitesi göstermediği tespit edilmiştir.

ANAHTAR KELİMELELER: *Primula vulgaris*, Sabit yağ, Hegzan, Soxhlet ekstraksiyonu, DNA koruma aktivitesi, Antioksidan, GC-MS.

Bilim Kod / Kodları : 20114, 20107

Sayfa Sayısı: 96

ABSTRACT

DETERMINATION OF OIL COMPONENTS OF PRIMROSE AND INVESTIGATION OF SOME BIOLOGICAL PROPERTIES

MSC THESIS

MEHMET OĞUZ İPEKÇİ

BALIKESİR UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

CHEMISTRY

(SUPERVISOR: PROF. DR. BAKİ ÇİÇEK)

(CO-SUPERVISOR: LECTURER DR. ÜMİT ÇALIŞIR)

BALIKESİR, JUNE - 2024

The branch of science that studies chemicals obtained from plants and called phytochemicals is called phytochemistry. Primrose is known as *Primula vulgaris* in Latin and is a perennial plant belonging to the Primulaceae family. Thanks to the antioxidant properties of primrose essential oils, it has many uses in medicine and cosmetics. These oils are known to be widely used in cosmetic fields. The primrose samples used in this study were harvested on March 11, 2023, from the Yalak Plateau region located around Yalak Village in Iskilip district of Çorum. Essential oils obtained from the root, leaf and flower parts of primrose were obtained by Soxhlet extraction using hexane. Antioxidant properties of essential oils obtained from root, leaf and flower parts were determined by DPPH analysis, CUPRAC determination, total phenolic substance analysis and total flavonoid analysis. Additionally, DNA protection activity was detected for all components. Finally, the chemical oil composition was determined using GC-MS. In the chemical composition analysis performed by GC-MS, the root oil sample contained 58,85% oleic acid methyl ester, 27,74% palmitic acid methyl ester and 6,03% cis-10-heptadecenoic acid methyl ester; 48,71% stearic acid methyl ester, 23,91% oleic acid methyl ester, 15,12% palmitic acid methyl ester in the leaf oil sample and 26,57% γ -linolenic acid methyl ester, 25,18% oleic acid methyl ester, 19,63% palmitic acid methyl ester in the flower oil sample were detected. Structure-functional group analyzes of the obtained oil samples were carried out with FTIR. According to the DPPH method, the antioxidant activities for the root essential oil are 0.0407 μg trolox equivalent/ μl , according to the CUPRAC determination, the antioxidant activities are 0.2309 μg ascorbic acid equivalent/ μl for the root essential oil, according to the total phenolic substance analysis, the antioxidant activities are 0 for the root essential oil, According to the total flavonoid analysis method, antioxidant activities were determined as 0.2327 μg quercetin equivalent/ μl for leaf essential oil. The DNA protection activity of the oil samples obtained was determined and it was determined that it did not have any effect on the DNA plasmid and did not show any protection activity on the breaking of the DNA plasmid by Fenton.

KEYWORDS: *Primula vulgaris*, Essential oil, Hexane, Soxhlet extraction, DNA protection activity, Antioxidant, GC-MS.

Science Code / Codes : 20114, 20107

Page Number : 96

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ	v
TABLO LİSTESİ	viii
SEMBOL LİSTESİ	ix
ÖNSÖZ	x
1. GİRİŞ	1
1.1 Çuha Çiçeği.....	2
1.1.1 Genel Bilgi	2
1.1.2 Çuha Çiçeği Üzerine Çalışmalar	3
1.1.2.1 Çuha Çiçeğinin Ekstraktının Kullanıldığı Bazı Çalışmalar	3
1.1.2.2 Çuha Çiçeği Sabit Yağ Çalışmaları	4
1.1.2.3 Çuha Çiçeği Uçucu Yağ Çalışmaları.....	5
2. SABİT YAĞLAR ve UÇUCU YAĞLAR	7
2.1 Sabit Yağlar	7
2.1.1 Sabit Yağların Genel Özellikleri.....	8
2.1.2 Sabit Yağların Kullanım Alanları	8
2.1.3 Sabit Yağların Elde Edilme Yöntemleri	10
2.1.3.1 Soğuk Baskı.....	10
2.1.3.2 Çözücü Ekstraksiyonu	10
2.1.3.3 Anfloraj (Yağ Ekstraksiyonu)	11
2.1.3.4 Maserasyon.....	12
2.2 Uçucu Yağlar	12
2.2.1 Uçucu Yağların Genel Özellikleri.....	14
2.2.2 Uçucu Yağların Kullanım Alanları	15
2.2.3 Uçucu Yağların Elde Edilme Yöntemleri	15
2.2.3.1 Buhar Distilasyonu	15
2.2.3.2 Hidrodüfüzyon.....	16
2.2.3.3 Mikrodalga Ekstraksiyonu	16
2.3 Esansiyel Yağların ve Uçucu Yağların Bileşenleri:.....	17
2.3.1 Terpenler	17
2.3.2 Oksijenli Bileşikler	18
2.3.2.1 Aldehitler.....	18
2.3.2.2 Esansiyel Yağ Asitleri	18
2.3.2.3 Alkoller.....	20
2.3.2.4 Ketonlar	21
2.3.2.5 Fenoller.....	21
2.4 Uçucu Yağ ve Sabit Yağlarda GC-MS Kullanımı	22
2.5 Antioksidanlar.....	25
2.5.1 Sabit Yağlarda Antioksidanlar	25
2.5.2 Uçucu Yağlarda Antioksidanlar	26
2.6 DNA Koruma Aktivitesi	27

3. DENEYSSEL ÇALIŞMALAR	29
3.1 Materyaller	29
3.1.1 Kimyasal Maddeler	29
3.1.2 Kullanılan Alet ve Cihazlar.....	29
3.2 Çuha Çiçeğinin Toplanması ve Familyasının Belirlenmesi.....	29
3.3 Sabit Yağların Eldesi	32
3.4 Uçucu Yağların Eldesi	35
3.5 % Azot, % Kül ve % Toplam Yağ Tayini	35
3.6 GC-MS (Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi) Analizi.....	36
3.7 FTIR İle Yağların Karakterizasyonu	37
3.8 Toplam Antioksidan Tayini	38
3.8.1 Toplam Antioksidan Aktivitesi (DPPH)	38
3.8.2 Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Yöntemi.....	38
3.8.3 Toplam Flavonoid Miktarı	39
3.8.4 Toplam Fenolik Bileşik Analizi	39
3.9 DNA Koruma Aktivitesi Tayini.....	39
4. BULGULAR	41
4.1 Çuha Çiçeği Materyalinden Elde Edilen Sabit Yağlar	41
4.2 % Azot, % Kül ve % Toplam Yağ Tayini	41
4.3 GC-MS Analizi	42
4.3.1 <i>Primula vulgaris</i> Çiçek Numunesi Hegzan Ekstraktı GC-MS Kromatogramları.....	42
4.3.2 <i>Primula vulgaris</i> Yaprak Numunesi Hegzan Ekstraktı GC-MS Kromatogramları ...	50
4.3.3 <i>Primula vulgaris</i> Kök Numunesi Hegzan Ekstraktı GC-MS Kromatogramları	58
4.3.4 <i>Primula vulgaris</i> Çiçek, Yaprak ve Kök Numuneleri Hegzan Ekstraktı (Sabit Yağ) GC-MS Bileşenleri.....	65
4.4 FTIR Analizi	71
4.5 DPPH Analizi.....	72
4.6 Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Tayini	73
4.7 Toplam Fenolik Madde Analizi	73
4.8 Toplam Flavonoid Analizi	74
4.9 Elde Edilen Kök, Yaprak ve Çiçek Sabit Yağ Numunelerinin DNA Koruma Etkilerinin Bulguları	75
5. SONUÇ ve TARTIŞMA	76
6. KAYNAKLAR	83
ÖZGEÇMİŞ	96

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1: <i>Primula vulgaris</i> (Çuha çiçeği).	2
Şekil 2.1: Soxhlet ekstraktörü.	8
Şekil 2.2: Clevenger ekstraktörü.	14
Şekil 2.3: Linoleik asidin açık formül gösterimi.	19
Şekil 2.4: Alfa-linolenik asidin açık formül gösterimi.	19
Şekil 2.5: Oleik asidin açık formül gösterimi.	19
Şekil 2.6: Petroselinik asidin açık formül gösterimi.	20
Şekil 2.7: Linoleik asidin açık formül gösterimi.	20
Şekil 2.8: Linaloolün açık formül gösterimi	20
Şekil 2.9: Terpinen-4-olün açık formül gösterimi	20
Şekil 2.10: Timolün açık formül gösterimi.	21
Şekil 2.11: β -Sitronellolün açık formül gösterimi.	21
Şekil 2.12: Flavon omurgasının açık formül gösterimi (2-fenil-1,4-benzopiron).	21
Şekil 2.13: Bir flavonoid türü olan Chalcone'un açık formül yapısı.	22
Şekil 2.14: Nonan-2-on'un açık formül gösterimi.	24
Şekil 3.1: Kurutulmuş <i>Primula vulgaris</i> yaprakları.	30
Şekil 3.2: Kurutulmuş <i>Primula vulgaris</i> kökleri.	30
Şekil 3.3: Kurutulmuş <i>Primula vulgaris</i> çiçekleri.	30
Şekil 3.4: RETSCH ZM200 marka öğütme cihazı.	31
Şekil 3.5: Öğütülmüş <i>Primula vulgaris</i> yaprağı.	31
Şekil 3.6: Öğütülmüş <i>Primula vulgaris</i> kökü.	32
Şekil 3.7: Öğütülmüş <i>Primula vulgaris</i> çiçekleri.	32
Şekil 3.8: Hazırlanan Soxhlet cihazı düzeneği.	33
Şekil 3.9: DPPH• radikalinin indirgenmesi ile serbest radikal giderimi.	38
Şekil 4.1: <i>Primula vulgaris</i> çiçek numunesi hegzan ekstraktı GC-MS kromatogramı.	42
Şekil 4.2: <i>Primula vulgaris</i> çiçek numunesi hegzan ekstraktı 3-Hegzanol bileşeni GC-MS kromatogramı.	43
Şekil 4.3: <i>Primula vulgaris</i> çiçek numunesi hegzan ekstraktı dodekanoik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.	43
Şekil 4.4: <i>Primula vulgaris</i> çiçek numunesi hegzan ekstraktı tetradekanoik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.	44
Şekil 4.5: <i>Primula vulgaris</i> çiçek numunesi hegzan ekstraktı dokosan ya da 3-metileikosan bileşeni GC-MS kromatogramı.	45
Şekil 4.6: <i>Primula vulgaris</i> çiçek numunesi hegzan ekstraktı trikosan bileşeni GC-MS kromatogramı.	46
Şekil 4.7: <i>Primula vulgaris</i> çiçek numunesi hegzan ekstraktı tetrakosan bileşeni GC-MS kromatogramı.	47
Şekil 4.8: <i>Primula vulgaris</i> çiçek numunesi hegzan ekstraktı 10-oktadekanoik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.	48
Şekil 4.9: <i>Primula vulgaris</i> çiçek numunesi hegzan ekstraktı oleik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.	49
Şekil 4.10: <i>Primula vulgaris</i> çiçek numunesi hegzan ekstraktı γ -Linolenik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.	50
Şekil 4.11: <i>Primula vulgaris</i> yaprak numunesi hegzan ekstraktı GC-MS kromatogramı. .	50
Şekil 4.12: <i>Primula vulgaris</i> yaprak numunesi hegzan ekstraktı 3-hegzanol bileşeni GC-MS kromatogramı.	51

Şekil 4.13: <i>Primula vulgaris</i> yaprak numunesi hegzan ekstraktı palmitik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.....	52
Şekil 4.14: <i>Primula vulgaris</i> yaprak numunesi hegzan ekstraktı palmitoleik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.....	53
Şekil 4.15: <i>Primula vulgaris</i> yaprak numunesi hegzan ekstraktı 2-hegzadekenoik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.....	54
Şekil 4.16: <i>Primula vulgaris</i> yaprak numunesi hegzan ekstraktı Cis-10-heptadekenoik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.....	55
Şekil 4.17: <i>Primula vulgaris</i> yaprak numunesi hegzan ekstraktı oleik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.....	56
Şekil 4.18: <i>Primula vulgaris</i> yaprak numunesi hegzan ekstraktı linoleik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.....	57
Şekil 4.19: <i>Primula vulgaris</i> yaprak numunesi hegzan ekstraktı stearik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.....	58
Şekil 4.20: <i>Primula vulgaris</i> kök numunesi hegzan ekstraktı GC-MS kromatogramı.....	58
Şekil 4.21: <i>Primula vulgaris</i> kök numunesi hegzan ekstraktı 3-hegzanol bileşeni GC-MS kromatogramı.....	59
Şekil 4.22: <i>Primula vulgaris</i> kök numunesi hegzan ekstraktı dodekanoik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.....	60
Şekil 4.23: <i>Primula vulgaris</i> kök numunesi hegzan ekstraktı palmitik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.....	61
Şekil 4.24: <i>Primula vulgaris</i> kök numunesi hegzan ekstraktı palmitoleik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.....	62
Şekil 4.25: <i>Primula vulgaris</i> kök numunesi hegzan ekstraktı Cis-10-heptadekenoik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.....	63
Şekil 4.26: <i>Primula vulgaris</i> kök numunesi hegzan ekstraktı oleik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.....	64
Şekil 4.27: <i>Primula vulgaris</i> kök numunesi hegzan ekstraktı araşidik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.....	65
Şekil 4.28: 3-hegzanolün açık formül gösterimi.....	67
Şekil 4.29: Dodekanoik asit metil esterinin açık formül gösterimi.....	67
Şekil 4.30: Tetradekanoik asit metil esterinin açık formül gösterimi.....	67
Şekil 4.31: Dokosanın açık formül gösterimi.....	67
Şekil 4.32: 3-metileikosanın açık formül gösterimi.....	67
Şekil 4.33: Palmitik asit metil esterinin açık formül gösterimi.....	67
Şekil 4.34: Palmitoleik asit metil esterinin açık formül gösterimi.....	68
Şekil 4.35: Trikosanın açık formül gösterimi.....	68
Şekil 4.36: 2-Hegzadekenoik asit metil esterinin açık formül gösterimi.....	68
Şekil 4.37: Tetrakosanın açık formül gösterimi.....	68
Şekil 4.38: Cis-10-heptadekenoik asit metil esterinin açık formül gösterimi.....	69
Şekil 4.39: 10-oktadekenoik asit metil esterinin açık formül gösterimi.....	69
Şekil 4.40: Oleik asit metil esterinin açık formül gösterimi.....	69
Şekil 4.41: Linoleik asit metil esterinin açık formül gösterimi.....	69
Şekil 4.42: γ -Linolenik asit metil esterinin açık formül gösterimi.....	70
Şekil 4.43: Stearik asit metil esterinin açık formül gösterimi.....	70
Şekil 4.44: Metil araşidonatın açık formül gösterimi.....	70
Şekil 4.45: <i>Primula vulgaris</i> çiçek yağ numunesi FTIR kromatogramı.....	71
Şekil 4.46: <i>Primula vulgaris</i> yaprak yağ numunesi FTIR kromatogramı.....	71
Şekil 4.47: <i>Primula vulgaris</i> kök yağ numunesi FTIR kromatogramı.....	72

Şekil 4.48: DPPH antioksidan analizinde kullanılan askorbik asit ve troloks için standart kalibrasyon eğrileri.	72
Şekil 4.49: CUPRAC yöntemi: Toplam antioksidan analizi askorbik asit ve troloks kalibrasyon eğrisi.	73
Şekil 4.50: Toplam fenolik madde analizi gallik asit standart kalibrasyon eğrisi.	73
Şekil 4.51: Toplam flavonoid analizi kuersetin standart kalibrasyon eğrisi.	74
Şekil 4.52: Agaroz jel elektroforezi ile H ₂ O ₂ kaynaklı Plazmid DNA hasarı analizinde çuha çiçeği kök, yaprak ve çiçek sabit yağlarının etkisi (1; 1 mg ml ⁻¹ çiçek, 2; 0.5 mg ml ⁻¹ çiçek, 3; 1 mg ml ⁻¹ yaprak, 4; 0.5 mg ml ⁻¹ yaprak, 5; 1 mg ml ⁻¹ kök, 6; 0.5 mg mL ⁻¹ kök, 7; 1 mg ml ⁻¹ çiçek + fenton, 8; 0.5 mg ml ⁻¹ çiçek + fenton, 9; 1 mg ml ⁻¹ yaprak + fenton, 10; 0.5 mg ml ⁻¹ yaprak + fenton, 11; 1 mg ml ⁻¹ kök + fenton, 12; 0.5 mg ml ⁻¹ kök + fenton, 13; negatif (plazmit + su), 14; pozitif (plazmit + su + fenton), 15; 1 mg ml ⁻¹ kuersetin, 16; 1 mg ml ⁻¹ kuersetin + fenton).	75

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1: <i>P. vulgaris subsp. vulgaris</i> sabit yağlarında tanımlanmış bileşenler.	4
Tablo 1.2: <i>P. vulgaris subsp. sibthorpii</i> 'nin sabit yağlarında tanımlanmış bileşenler.	5
Tablo 1.3: <i>Primula veris var.</i> esansiyel yağının fitokimyasal bileşimi (%).	5
Tablo 1.4: Orta Çin'deki <i>P. obconica</i> uçucu yağının kimyasal bileşimi.	6
Tablo 2.1: Çuha çiçeği yağındaki yağ asidi profili.	24
Tablo 3.1: Numunelerden elde edilen yağların miktarları.	34
Tablo 4.1: % Yağ verimi.	41
Tablo 4.2: Yüzde azot oranları.	41
Tablo 4.3: Yüzde kül miktarı oranları.	41
Tablo 4.4: Yüzde yağ oranları.	42
Tablo 4.5: <i>Primula vulgaris</i> çiçek, yaprak ve kök numuneleri hegzan ekstraktı (sabit yağ) GC-MS bileşenleri.	66
Tablo 4.6: Örneklerin DPPH yöntemi ile elde edilen antioksidan miktarları.	72
Tablo 4.7: Örneklerin antioksidan aktivitesi (Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite, CUPRAC).	73
Tablo 4.8: Örneklerin toplam fenolik madde miktarı, antioksidan miktarı.	74
Tablo 4.9: Örneklerin toplam flavonoid miktarı, antioksidan miktarı.	74

SEMBOL LİSTESİ

M.Ö.	: Milattan önce
°C	: Celcius
JAK/STAT	: Janus kinaz/Signal Transducer and Transcription Activator
HeLa	: Henrietta Lacks
BCL2	: B-cell Lymphoma Gene-2
MDR1	: Multi Drug Resistance 1
p53	: Tümör proteini
GC	: Gaz Kromatografisi
MS	: Kütle Spektroskopisi
GAE	: Gallik Asit Eşdeğeri
RI	: Retention Indices
hp	: Horse power (Beygir gücü)
kW	: Kilowatt
mm	: Milimetre
g	: Gravite
w/v	: kütle/hacim
v/w	: hacim /kütle
kg	: Kilogram
L	: Litre
g	: Gram
W	: Watt
ml	: Mililitre
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)
UV	: Ultraviolet
FID	: Flame Ionization Detector (Alev İyonizasyon Dedektörü)
kg	: Kilogram
R.T.	: Retention time (Saklama süresi)
TLC	: Thin Layer Chromatography (İnce Tabaka Kromatografisi)
mg	: Miligram
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
DNA	: Deoksiriboz Nükleik Asit
CDDP	: Sisplatin
ROS	: Reactive Oxygen Species (Reaktif Oksijen Türleri)
AChE	: Asetilkolinesteraz
hCA	: Karbonik Anhidraz
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (Fourier Transform Infrared Spectroscopy)
NMR	: Nuclear Magnetic Resonance (Nükleer Manyetik Rezonans)
M	: Molarite
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
mM	: Milimolar
CUPRAC	: Cupric Reducing Antioxidant Capacity (Bakır (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasitesi)
nm	: Nanometre
m	: Metre

ÖNSÖZ

Tez konumun belirlenmesinden itibaren, tez süresince yardımlarını ve desteğini esirgemeyen kıymetli hocam ve danışmanım Prof. Dr. Baki ÇİÇEK'e sevgilerimi, saygılarımı ve hürmetlerimi sunar, teşekkür ederim.

Tez süresince tüm çalışmalarımı takip eden ve yönlendirmeleriyle katkı sağlayan Öğr. Gör. Dr. Ümit ÇALIŞIR'a teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her alanında benden maddi ve manevi desteğini esirgemeyen ve her zaman yanımda olan, başta annem Emine ARIKOĞLU olmak üzere tüm aileme sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Balıkesir, 2024

Mehmet Oğuz İPEKÇİ

1. GİRİŞ

İnsanoğlu, ilk zamanlarda bitkileri korunma ve beslenme gibi yaşam faaliyetlerini devam ettirme ve temel gereksinimlerini giderme amacıyla kullanmışsalar da zamanla estetik ve görsel duygulara hitap etmek amacıyla da bitkileri yetiştirmeye başlamışlardır. 15. yüzyıldan itibaren sarayları ve bahçeleri süsleme amacıyla bitkileri kullanmışlardır [1].

İnsanlar, yara iyileştirme ve hastalıkları tedavi etme amacıyla bitkilerden faydalanma yoluna gitmişlerdir. M.Ö. 5000'lerde tedavi amacıyla kullanılan 250 farklı bitkinin var olduğu belirlenmiştir. Mısırlılar, Asurlar, Sümerler, Hititler ve Mezopotamya bölgesinde yaşayan insanlar yıllar boyu bitkiler vasıtasıyla tedavi yolunu seçmişlerdir. Zaman geçtikçe ilaçların üretilmesi, tıbbi aromatik bitkilerin kullanımının azalmasına sebep olmuştur. 1900'lü yıllardan sonra, insanlar sentetik ilaçların yan etkilerini keşfetmiş ve gıdalarda bulunan sentetik maddelerin insan sağlığına vermiş olduğu zararların farkındalığına varmış ve doğal ürünlere olan talep yükseliş göstermiştir [2].

Tıbbi ve aromatik özellik gösteren bitkiler, yüzyıllarca bütün dünyada kültürün ve günlük yaşamın vazgeçilmez bir unsuru haline gelmiştir. Besin halinde tüketilen aromatik ve tıbbi bitkilerin, dünya çapında 10.000'i aşkın sayıda olduğu belirlenmiştir. Bu bitkiler eczacılıkta, attarcılıkta, kozmetikte ve son zamanlarda antioksidan göreviyle gıda teknolojisinde yer almaktadır. Aromatik ve tıbbi bitkilerin ekim ve hasadı çağlar boyunca devam etmiştir [3].

Primula vulgaris (Çuha çiçeği), narin ve canlı çiçekleriyle tanınan çok yıllık otsu bir bitkidir. Çeşitli geleneklere dayanan bu tür, şifa ile ilişkili kültürel öneme sahiptir. Tarih boyunca antiinflamatuvar etkileri, cilt sağlığına faydaları ve hormonal dengeyi desteklemesi gibi potansiyel tıbbi özellikleri nedeniyle geleneksel tıpta kullanılmıştır. Son bilimsel araştırmalar, çuha çiçeği bitkisinin fitokimyasal bileşimini ve tedavi edici potansiyelini keşfetmeye odaklanmıştır [4].

Bütün dünyada olduğu gibi ülkemizde de doğal florasında bulunan bitkilerin halk arasında tedavi maksatlı, insektisit, hayvan hastalıklarının tedavisi, baharat, boya, çay, gıda, reçine, zamk, meşrubat, uçucu sabit yağlarından yararlanma ve kozmetik sanayinde kullanılması uzun yıllar boyu süregelen kültürel ve geleneksel zenginliğimizin bir parçası haline gelmiştir [5]. Süs bitkisi olarak da kullanılan çuha çiçeği ülkemizde de hem doğal alanlarından toplanan hem de tarımsal üretimi yapılabilen bitkilere örnektir [6]. Özellikle *Primula veris* L., *Primula elatior* (L.) Hill ve *Primula vulgaris* Huds. türlerinin

yapraklarında ve rizomlarından elde edilmiş özütler antispazmodik, diüretik, ağrı kesici, ateş düşürücü, öksürük giderici, balgam sökücü, sakinleştirici, uykusuzluk rahatsızlıklarını iyileştirici olarak ve soğuk algınlığıyla akut ve kronik bronşit rahatsızlıklarının tedavisinde eski zamanlardan beri yaygın şekilde kullanıldığı bilinmektedir [7].

1.1 Çuha Çiçeği

1.1.1 Genel Bilgi

Primula vulgaris çok geniş bir coğrafyaya sahip, çok yıllık endemik bir bitkidir. Çuha çiçeği ova bölgeleriyle birlikte ormanlık alanları tercih eden bir türdür. Dağılımı toprak nemi ve atmosferik nem ile bağlantılıdır. Gölgeye dayanıklıdır, ancak en çok gölgelik boşluklarında çiçek açar.

Primula vulgaris, esas olarak tohumlar yoluyla çoğalan bir hemikriptofittir. Bitkisel yayılma sınırlıdır ve ana bitkiden yalnızca çok kısa mesafelerde yeni bitkiler meydana gelir. İlk çiçeklenmenin gerçekleşmesi için geçen süre yaklaşık 20 aydır [8].

Primula vulgaris Huds. ılıman kışlar ve erken ilkbahar dikimleri için çiçekli saksı bitkisi olarak popülerdir. *P. vulgaris*'te çiçek açma dönemi, 4–10 °C'de birkaç hafta kadar sürmektedir [9].

Primula L. cinsi, Primulaceae ailesinin en büyük cinsi olmakla birlikte, dünya çapında *Primula* cinsine ait türlerde süs bitkisi olarak kullanılması için kültürü de yapılmaktadır [10]. Çoğunlukla çok yıllık bitkiler olan Primulaceae familyasının 22 cins ve 1000 türü dünya çapında dağılmıştır [11]. Çeşitlilik merkezi Himalayalar ve Çin'in batısında olmak üzere, Avrasya'nın kuzey yüksek enlemleri boyunca yaygın olarak dağılmıştır [12].



Şekil 1.1: *Primula vulgaris* (Çuha çiçeği).

1.1.2 Çuha Çiçeği Üzerine Çalışmalar

Bazı çalışmalarda *Primula* cinsine ait türlerin flavonoid kompozisyonu tanımlanmıştır. Çuha çiçeğinin toprak üstü kısımları flavonoidler açısından zengindir. Çuha çiçeği Anadolu Halk Hekimliğinde yaprak ve kökleri cilt hasarlarını ve iltihapları tedavi etmek için kullanılıyordu [13].

Çuha çiçeği yağının anti-enzim aktivitesiyle ilgili bir çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada enzim aktivitesi üzerine çuha çiçeği yağının etkilerinin ne olabileceği araştırılmıştır. Kullanılan enzimler asetilkolinesteraz ve I-II izoenzimleridir. Bu iki enzimin de inhibitörleri, ilaç olarak kullanılma potansiyeli barındırmaktadır. Bu nedenle çuha çiçeği yağının inhibisyon etkisi bu çalışmayla araştırılmıştır [14].

Çuha çiçeği yağının, multiple skleroz (kireçlenme) modeli gerçekleştirilmiş farelerdeki JAK/STAT sinyal yolları üzerine etkisi ile ilgili bir çalışma yapılmıştır. Multipl skleroz, merkezi sinir sistemi içinde inflamatuvar infiltrasyonlarla devam eden otoimmün demiyelinizan bir rahatsızlıktır. JAK-STAT sinyal yolunun düzensiz olması, otoimmün ensefalomyelitle indüklenmiş olan multipl skleroz modellerinin patogeneğinde son derece önemli bir rol oynamaktadır. Gerçekleştirilen bu çalışmada amaç, çuha çiçeği yağının tüketilmesinin, JAK-STAT sinyal yolu üzerinde terapötik etkilerini göstermektir [15].

Çuha çiçeği üzerine gerçekleştirilen çalışmalar bitki ekstresi, sabit yağlar, uçucu yağlar olarak sınıflandırılmıştır.

1.1.2.1 Çuha Çiçeğinin Ekstraktının Kullanıldığı Bazı Çalışmalar

Ekstrakt, en basit şekliyle bakıldığında bitkinin özü anlamını taşır. Kurutulmuş bitkilerin farklı ekstraksiyon metotlarını kullanarak elde edilmiş bitki özlerine ekstrakt denmektedir [16].

Bitkilerin özleri ve ekstraktları üzerinde bazı çalışmalara imza atılmış; bitkilerin, çeşitli hastalıkların tedavisini sağlayan, çeşitli biyolojik aktivitelere sahip çeşitli ürünlerin doğal kaynağı olduğu vurgulanmış ve bitki ekstraktlarının, antioksidan, antibiyotik, antiviral, antikanser, antiparazitik, antifungal, hipoglisemik, antihipertansif ve böcek öldürücü özelliklere sahip olabilen bileşiklerin karmaşık bir karışımı olduğuna değinilmiştir [17].

HeLa hücresi, transfer edilmesi ve saklanması kolay, hava vasıtasıyla taşınabilen, oldukça dirençli ve çalışmak için en ideal hücreler olarak bilinir [18]. HeLa epitel hücrelerinden ve adenokarsinomalardan türevlenmiş insan servikal kanser hücre hattıdır [19]. *Primula*

vulgaris ekstraktı üzerinde yüklü gümüş nanopartiküllerin BCL2, MDR1 ve p53 gen ekspresyon seviyeleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Sonuçta, yüklü gümüş nanopartiküllerin HeLa hücre hattı üzerinde bir dozla orantılı şekilde hücre ölümlerine sebep olduğu anlaşılmıştır. *Primula vulgaris* bitkisinin çiçek ekstraktı yüklü gümüş nanopartiküllerin dozundaki artışla orantılı şekilde MDR1 ve BCL2 gen ekspresyon seviyelerindeki yükselişler ilaç direncinin gelişimi yönünden değerlendirilmelidir [20].

Primula vulgaris ekstraktının HeLa hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini, MTT tahlili kullanılarak ortaya çıkarılan bir çalışma da mevcuttur. Ekstraktın sitotoksik etkisinde bulunan mekanizmalar ardından florometrik yöntemler kullanılarak mitokondriyal membran potansiyeli, apoptoz ve hücre döngüsü yönünden araştırılmıştır. Bu çalışma ile birlikte *P. vulgaris* ekstraktının, hücre döngüsünü S fazındayken durdurarak ve mitokondriyal membran potansiyelini konsantrasyona bağlı bir şekilde düşürerek normal fibroblast hücrelerine kıyasla apoptotik hücrelerin sayısını indükleyerek HeLa hücrelerine karşı seçici sitotoksik etkiler sergilediği görülmüştür [21].

1.1.2.2 Çuha Çiçeği Sabit Yağ Çalışmaları

Türkiye'de yetiştirilen *Primula vulgaris*'e ait iki alt türünün sabit yağlar, yağ asidi metil esterleri ve antimikrobiyal aktivitelerinin bileşimindeki yükseklik etkisinin araştırıldığı bir çalışmada Soxhlet ekstraktörü ve dietil eter eşliğinde ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. *P. vulgaris subsp. vulgaris* bitkisinin 300, 600, 700, 1100, 1600, 1700, 1900 ve 2100 m rakımdaki en yüksek bileşen miktarı Tablo 1.1'de verilmiştir [22].

Tablo 1.1: *P. vulgaris subsp. vulgaris* sabit yağlarında tanımlanmış bileşenler.

Bileşen	Rakım (m)	Yüzde (%)
Metil-4-metoksi salisilat	300	35,3
(Z,Z,Z)-7,10,13-Hegzadekatrienal	600	18,6
Metil-4-metoksi salisilat	700	21,6
Metil-4-metoksi salisilat	1100	24,1
Tetrakosan	1600	15,0
Dokosan	1700	18,9
(Z,Z,Z)-7,10,13-Hegzadekatrienal	1900	21,8
Metil-4-metoksi salisilat	2100	35,2

P. vulgaris subsp. vulgaris bitkisinin 300, 600, 700, 1100, 1600, 1700, 1900 ve 2100 m rakımdaki en yüksek bileşen miktarı Tablo 1.2'de verilmiştir [22].

Tablo 1.2: *P. vulgaris subsp. sibthorpii*'nin sabit yağlarında tanımlanmış bileşenler.

Bileşen	Rakım (m)	Yüzde (%)
Metil-4-metoksi salisilat	100	21,0
Metil-4-metoksi salisilat	300	37,2
Metil-4-metoksi salisilat	700	30,8
Flavon	1200	18,0
Flavon	1300	13,1

1.1.2.3 Çuha Çiçeği Uçucu Yağ Çalışmaları

Primula veris var.'in sabit yağ bileşimi ile ilgili bir çalışma yürütülmüştür. Bu cins içindeki sabit yağ bileşimine ilişkin sonuçlar, GC ve GC/MS analizleri ile belirlenmiş, toplam yağın %87,7'sini temsil eden 28 bileşik tanımlanmıştır. Toplam yağ verimi, numunelerin kuru ağırlığına dayalı olarak %0,03'tür. Yağ, yüksek konsantrasyonda pentakozan (%42,9), metil 4-metoksisalisilat (%17,2) ve benzoik asit, 2-hidroksimetil ester (%6,7) ile karakterize edildi (Tablo 1.3) [23].

Tablo 1.3: *Primula veris var.* esansiyel yağının fitokimyasal bileşimi (%).

Bileşen	RI	%	Bileşen	RI	%
α -Tujen	924	0,8	Spathunelol	1578	0,8
α -Pinen	935	0,2	Karyofilen oksit	1582	0,7
Linalool oksit	991	0,9	Hegzadekanoik asit	1959	3,7
Sabinen hidrat	1065	0,2	Eikosan	2000	0,2
Metil benzoat	1088	3,8	Heptadekanoik asit	2054	0,5
Linalool	1097	0,1	Heneikosan	2100	0,4
Allo-ocimen	1128	Tr.	Dokosan	2200	0,1
Borneol	1165	3,0	Trikosan	2300	0,5
Terpinen-4-ol	1174	2,1	Tetrakosan	2400	0,2
Metil 4-metoksisalisilat	1191	17,2	Pentakosan	2500	42,9
Mrytenol	1194	0,8	Hegzakosan	2600	0,2
Eujenol	1370	0,3	Heptakosan	2700	0,3
Aromadendren	1439	0,4	Oktakosan	2800	0,1
Benzoik asit, 2-hidroksimetil esteri	1455	6,7	Toplam		87,7
δ -kadinen	1522	0,5			

Orta Çin'deki *Primula obconica* uçucu yağının bileşimi ile ilgili bir çalışma yürütülmüştür. Yağın %93,49'unu oluşturan toplam 43 bileşiğin tanımlanması GC ve GC-MS kullanılarak yapılmıştır. Başlıca bileşikler metil 2,4-dihidroksi-5-metil benzoat (%30,41), metil 2,6-dihidroksi-4-metil benzoat (%29,27) ve hipnon (%8,92) olarak belirlenmiştir (Tablo 1.4) [24].

Tablo 1.4: Orta Çin'deki *P. obconica* uçucu yağının kimyasal bileşimi.

Sl.	Bileşen	Pik Bölgesi (%)	Tanımlama
1	1,3-dimetil benzen	0,0056	MS
2	α -pinen	0,0218	MS RI
3	Benzaldehit	0,1429	MS RI
4	Sabinen	0,0109	MS RI
5	Limonen	0,0056	MS RI
6	1-metil-3-izopropil benzen	0,0160	MS
7	β -tujien	0,0056	MS RI
8	Sineol	0,3574	MS RI
9	β -osimen	0,0065	MS RI
10	Salisiladehit	3,3844	MS RI
11	Hipnon	8,9219	MS RI
12	Linalool	0,0372	MS RI
13	Nonaldehit	0,0898	MS RI
14	1,3,4-Trietilsiklohegzan	0,1041	MS
15	Benzoik asit	0,1617	MS RI
16	4-hidroksi hipnon	4,8307	MS RI
17	α -terpineol	0,0268	MS RI
18	Naftalen	0,1074	MS RI
19	Metil salisilat	3,0441	MS
20	Siklohegzil etanol	0,0542	MS
21	3-hidroksi-4-metoksibenzaldehit	0,0234	MS
22	4-metoksi hipnon	0,0321	MS
23	Asetik asit desil ester	0,0861	MS
24	1,2-dimetoksi-4-(2-propentil)-benzen	0,0851	MS
25	β -karyofilen	1,0083	MS
26	Metil 2,4-dihidroksi-6-metil benzoate	30,4121	MS
27	2-hidroksi-4-metil hipnon	0,4350	MS
28	Metil 2,6-dihidroksi-4-metil benzoate	29,2671	MS
29	Tridekanoik asit	0,1503	MS RI
30	(-)-Elemol	0,1869	MS RI
31	(+)-Elemol	0,4017	MS RI
32	Metilelemol	0,2655	MS
33	3-pentil tetrahidropiran	0,1008	MS
34	Oktadekan	0,4320	MS RI
35	Difenil diketon	1,0367	MS
36	Diisobütil ftalat	0,1700	MS
37	Nonadekan	0,0628	MS
38	Dibutil ftalat	0,1614	MS
39	Hegzadekanoik asit	0,4002	MS
40	Bütil siklohegzil ftalat	0,3257	MS
41	Hegzadekanoik asit etil esteri	0,0181	MS
42	Eikosan	0,0505	MS
43	2-bromo-1,3-difenil-1,3-propandion	7,0453	MS

2. SABİT YAĞLAR ve UÇUCU YAĞLAR

2.1 Sabit Yağlar

Esansiyel yağlar, diğer bitki bileşenlerinden veya membranöz dokulardan fiziksel olarak ayrılabilen, moleküler ağırlığı 300'ün altında olan, lipofilik ikincil bitki metabolitlerinden oluşur [25].

Sabit yağlar hidroliz olduğunda yapılarındaki yağ asitlerine ve gliserole parçalanırlar [26]. Bitkilerin çiçek, meyve, yaprak, tohum, kabuk, dal ve kök kısımları sabit yağ açısından zengindir. Sabit yağların üretim metotları genellikle ekstraksiyon ve soğuk preslemedir [27].

Soxhlet ekstraksiyonu, analitin bir bütün olarak matrinden konsantre edildiği veya belirli müdahale edici maddelerden ayrıldığı hazırlık amaçları için çok yararlı bir araçtır. Yaygın olarak katı-sıvı ekstraksiyonu (aynı zamanda fizikokimyasal terminolojinin daha doğru kullanımında liç olarak da anılır) olarak bilinen katı numunelerin solvent ekstraksiyonu, katı numune ön işlemine yönelik en eski yöntemlerden biridir [28]. Solvent ekstraksiyonu olarak da bilinen Soxhlet ekstraksiyonu, yağlı tohumların sıvı bir solventle temas ettirilmesi yoluyla yağın tercihi çözünmesini ifade eder. Bu, yağlı tohumlardan yağın geri kazanılması için en etkili yöntemdir [29].

Soxhlet yöntemiyle yağ ekstraksiyonu, diğer yöntemlere kıyasla daha fazla miktarda yağ sağlar. Çünkü numune, buharlaşma ve yoğunlaşma yoluyla solvent ile temas halinde kalır. Bu yöntem, matrisi temas halinde olan bir solvent (hegzan veya petrol eteri) için inert bir malzemenin çözünür bileşenlerinin (yağ) transferini sağlar. Bu işlem tamamen fizikseldir. Çünkü çözücüye aktarılan yağ herhangi bir kimyasal reaksiyon olmadan geri kazanılır [30]. Ekstraksiyon kapalı kapta gerçekleştirilir. Bu şekilde basınç artış gösterir ve solvent, kaynama noktasının üzerindeki sıcaklıklara kadar ısıtılabilir. Birçok solvent için (aseton, diklorometan-aseton, aseton-hegzan gibi) kap içindeki sıcaklık, solventin kaynama sıcaklığının 2 ila 3 katıdır [31]. Konsantre bir ekstrakt elde etmek için kloroform, petrol eteri ve etanol de kullanılabilir [32].



Şekil 2.1: Soxhlet ekstraktörü.

Esansiyel yağlar temel olarak iki bileşen içerirler. Bunlar terpenler ve fenilpropenlerdir. Fenilpropenler şimik yolak vasıtasıyla sentezlenirken, terpenler mevalonik yolak vasıtası sayesinde sentezlenir [33].

2.1.1 Sabit Yağların Genel Özellikleri

Sabit yağlar hem içilerek hem de sürülerek kullanılabilir. Sabit yağlar buharlaşmazlar ve ana bileşenlerinden bazıları yağ asitleri, vakslar gibi yağlar ve A, D, E ve K vitamini gibi yağda çözünen vitaminlerdir. Sabit yağlar cilde sürüldüğünde uzun süreli kalıcı etki yaratır. Besleyici ve iyileştirici özelliğe sahiptir [34].

2.1.2 Sabit Yağların Kullanım Alanları

Sabit yağların uygulamaları çeşitlidir. Kozmetik ve parfümlerde yaygın olarak kullanılan bu maddeler, antimikrobiyal ve antioksidan etkileri nedeniyle tarımsal-gıda kullanımlarının yanı sıra tedavi edici özellikleri nedeniyle tıbbi uygulamalara da sahiptir

Sabit yağlar dünyanın tamamında farklı alanlarda kullanılmaktadır ve insanların günlük yaşantılarında ayrılmaz bir parça haline gelmiş doğal malzemelerdir. Esansiyel yağlara olan talep artıyor ve bu da taşış vakalarıyla sonuçlanıyor. Kimlik doğrulama bu nedenle tüketiciler ve kimya şirketleri için son derece kritik öneme sahip bir konudur [35].

Esansiyel yağlar bitkilerin yapısının yalnızca küçük bir kısmını oluşturur; ancak aromatik bitkilerin önemli özelliklerini belirlerler. Esansiyel yağlar, birkaç ila birkaç yüz bileşene, özellikle hidrokarbonlara (terpenler ve seskiterpenler) ve oksijenli bileşiklere (aldehitler, asitler, alkoller, fenoller, ketonlar, asetaller, laktonlar, oksitler, eterler ve esterler) sahip olan karmaşık bileşimlerinden dolayı bilinmektedir [36]. Avrupa Birliği'nde (AB) esansiyel yağların en büyük kullanımı gıda (tatlandırıcı olarak), parfüm (koku ve tıraş sonrası) ve farmasötik ürünlerdir (fonksiyonel özellikleri nedeniyle) [37]. Esansiyel yağlar, tüm dünyada geleneksel tıp sistemleri tarafından çeşitli sağlık sorunları için reçete edilmektedir. Bunlara antifungal, antibakteriyel, antimitojenik, antikanser, antiviral, antidiyabetik, antiprotozoal ve antiinflamatuvar özellikler gibi çeşitli farmasötik ve biyolojik aktiviteler atanır [38].

Günümüzde ana akım tıp ile birlikte alternatif ve tamamlayıcı tedavilerin kullanımı ivme kazanmıştır. Aromaterapi, çeşitli hastalıkların tedavisinde temel terapötik ajanlar olarak esansiyel yağların kullanıldığı tamamlayıcı tedavilerden biridir [39]. Doğal kökenli bileşikler arasında, aromatik ve tıbbi bitkilerden elde edilmiş esansiyel yağların biyolojik aktiviteleri gösterilmiş ve radikal temizleyici özelliklerinden dolayı özel ilgi görmüştür [40]. Bitkiler ile diğer tüm doğal kaynaklar çok çeşitli karmaşık ve yapısal bakımdan çeşitli bileşikler sağlayabilir. Bitki özleriyle yağlar, antiviral, antifungal ve antibakteriyel özelliklere sahiptir ve yeni antimikrobiyal bileşiklerin potansiyel kaynakları, gıdanın korunmasını teşvik eden maddeler ve bulaşıcı hastalıkların tedavisinde alternatifler olarak küresel ölçekte taranmıştır [41, 42]. Esansiyel yağların önemli antifungal, antiseptik, antiparazitik, antibakteriyel, antiviral, antioksidan ve böcek öldürücü aktivitelere sahip olduğu rapor edilmiştir [37, 43].

Çuha çiçeği tohumlarından elde edilen yağ, omega-6 (ω -6) serisinin esansiyel yağ asitlerini içerir. Sağlıklı bir denge ve kadın hastalıklarının yönetimi ile bağışıklık hücrelerini teşvik ettiği iyi bilinmektedir [44]. Çuha çiçeği yağı yaygın şekilde kullanılmakta olan alternatif bir terapidir ve zengin bir omega-6 esansiyel yağ asitleri kaynağıdır. Romatoid artrit ve atopik dermatit gibi kronik inflamasyonla işaretlenen sistemik hastalıkların tedavisinde kullanılmasıyla bilinir. Genellikle meme ağrısı, menopozal ve adet öncesi semptomlar, servikal olgunlaşma ve doğum indüksiyonu dahil olmak üzere çeşitli kadın sağlığı durumlarında kullanılır [45].

2.1.3 Sabit Yağların Elde Edilme Yöntemleri

Esansiyel yağlar, bitkilerden farklı metotlarla elde edilebilir. Farklı yöntemlerin kullanılıyor olmasının nedeniyse, bitkilerin kullanılan bölümlerinin, bitkilerin hassasiyetlerinin ve elde edilecek yağın miktarının değişken olmasından ileri gelmektedir. Bu sebeple çalışılacak bitkinin barındırdığı özelliklere göre aşağıda gösterilen yöntemler içerisinde en uygun olanı seçilebilir [46].

2.1.3.1 Soğuk Baskı

Soğuk baskı ekstraksiyonu, düşük enerji ihtiyacına sahip olduğundan ekonomik ve basit, solvent içermediğinden ötürü çevre dostu, ısıl işlem olmadan yüksek kalitede yağların elde edilebileceği mekanik ekstraksiyon yöntemlerinden biridir [47]. Soğuk baskı ekstraksiyonunda ürün içerisinde kimyasal kirletici özellik gösterecek organik çözücüler kullanılmamaktadır. Üretim tekniği olarak ele alındığında, yağlı tohum ham maddesinin içindeki yabancı maddelerin temizlenmesinin ardından çok fazla yüksek derecede ısıya maruz kalmadan (en çok 40 °C) preslerde sıkım işlemi gerçekleşir ve ardından basit bir filtrasyon işlemi yapılarak yağlar satışa sevk edilir [48].

Soğuk presle yağ eldesini içeren bir çalışmada, domates (*Lycopersicon esculentum L.*) tohum yağlarının duyu ve fizikokimyasal özellikleri araştırılmıştır. Bu çalışmada; soğuk sıkım tekniği laboratuvar terazili (12 kg tohum/saat kapasiteli, tek kafalı, 2 hp, 1,5 kW gücünde) soğuk pres makinası ile uygulanmıştır. Soğuk presleme prosedürü 10 mm'lik bir çıkış kalıbı ile ayarlanmış ve iki ürünü elde etmek için 40 °C çıkış sıcaklığıyla beraber 40 rpm vida dönüş hızı kullanılmıştır: Soğuk pres yağı (sıvı kısım) ve tohum pres keki veya küspesi (katı kısım). Preslemeden sonra, soğuk preslenmiş yağ, askıda kalan malzemeler olmadan berrak görümlü yağ elde etmek amacıyla 10 °C'de 10 dakika boyunca 6797g'de santrifüjlenmiştir [49].

2.1.3.2 Çözücü Ekstraksiyonu

Yağlı tohumlardan yağ elde etmek için geleneksel olarak kullanılmakta olan presleme metotlarının başlıca eksikliği olan düşük seviyedeki ekstraksiyon verimini artırmak için günümüzde çoğunlukla çözücü ekstraksiyonu ya da çözücü destekli presleme kullanılmaktadır. Diğer metotlara nazaran, çözücü destekli ekstraksiyon, yağ elde etme daha verimli gerçekleşmektedir. Bundan dolayı, teknolojinin de gelişmesiyle birlikte yeni ekstraksiyon metotları geliştirilmiş olsa da, çözücü destekli ekstraksiyon (Soxhlet vb.) gibi

geleneksel uygulamalar sağladığı yüksek verimle, yeni metotların ne kadar başarılı olabildiğinin göstergesi olmuştur [50].

Çözücü ekstraksiyonu, ağırlıkça %30'dan az yağ içeren yağlı malzemelerden yağın nihai olarak ayrılması için tercih edilen yöntemdir. Soya fasulyesi, pamuk tohumu, kuru işlem mısır tohumu ve pirinç kepeği gibi ağırlıkça %30'dan az yağ içeren yağlı malzemeler için malzeme mekanik ve termal olarak hazırlanır ve ardından yağın ayrılması için solvent ekstraksiyon işlemine gönderilir. Bu yaklaşıma genellikle doğrudan solvent ekstraksiyonu adı verilir [51].

Çay tohumu yağının süperkritik sıvı ekstraksiyonu ve bunun solvent (çözücü) ekstraksiyonu ile karşılaştırılmasıyla ilgili bir çalışma yürütülmüştür. Bu çalışmada, Soxhlet ekstraksiyonu için 2 g öğütülmüş çay tohumu tartılmış ve daha sonra 103 °C sıcaklıktaki bir fırında kurutulmuştur. Kurutulan numune bir ekstraksiyon yüksüğüne yerleştirilmiş ve daha sonra Soxhlet, 150 ml petrol benzeni (50-70 °C) kullanılarak 7,5 saat süreyle ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyondan sonra solvent buharlaştırılmış ve ekstrakt, kalan solventi uzaklaştırmak için 103 °C'de kurutulmuştur. Ardından desikatör içerisinde 30 dakika süresince soğutulmuş ve sonrasında tartılmıştır. Bu prosedür sabit bir ekstrakt ağırlığı elde edilene kadar tekrarlanmıştır [52].

2.1.3.3 Anfloraj (Yağ Ekstraksiyonu)

Soğuk yağ ile özütleme işlemine anfloraj adı verilmektedir. Yağlar yüksek absorpsiyon gücüne sahip olmakla birlikte, koku maddesi ihtiva eden yağlarla temas ettirildiğinde içeriği kolayca absorplama yeteneğine sahiptirler [53]. Bu uygulamada, yağı çıkarılması istenen çiçeğin yaprakları, kokusuz halde olan hayvansal ya da bitkisel yağın üzerine yerleştirilir. Bu yağlar, çiçeğin içindeki sabit yağı absorblamaktadır. Yağların, sabit yağı mümkün olduğunca absorplamasının ardından işlem görmüş yaprakların yerine yenisi koyulur. Bu işlem, yağların sabit yağ ile doymasına dek devam eder. Anfloraj karışımına alkol ilave edilmesi, yağı kullanılan yağdan ayırır. Sonrasında alkol uzaklaştırılır ve yağ elde edilir [54].

Anfloraj yöntemi ile ekstrakte edilen *Michelia alba* çiçeği yağındaki kimyasal bileşenlerin tespiti ile ilgili bir çalışma yürütülmüştür. Bu çalışmada, öncesinde anfloraj yoluyla elde edilen toplam 100 g ekstrakte edilmiş buffalo yağı tartılmış ve daha sonra iki cam cam şişeye (20 santimetre çapında) yayılmıştır. İlk cam şişeye 100 g taze *Michelia alba* çiçeği konulduktan sonra ardından diğer cam şişe ilk cam şişenin üzerini kapatacak şekilde ters

çevrilmiştir. Anfloraj cam şişeleri gece boyunca bırakılmıştır. Ertesi sabah eskilerin yerine yeni bir dizi taze Michellie alba çiçeği (100 g) yerleştirilmiş ve aynı işlem art arda 14 gün tekrarlanmıştır. Ekstraksiyon işleminin sonunda buffalo yağı kokuya doyurulmuş; daha sonra kazanmış ve temiz bir şişeye aktarılmıştır. Daha sonra şişeye 100 ml soğutulmuş etanol ilave edilmiştir ve gece boyunca bırakılmıştır. Daha sonra etanol ekstraktının yağdan ayrılması için süzülme işlemi gerçekleştirilmiştir. Buffalo yağında koku kalmayınca kadar yukarıda belirtilen yöntem tekrarlanmıştır. Birleştirilen etanol filtratı daha sonra döner bir buharlaştırıcı kullanılarak buharlaştırılmıştır. Konsantre ekstrakt daha sonra santrifüjlenip, üst katman, kimyasal bileşiminin analizi için tutulmuştur [55].

2.1.3.4 Maserasyon

Maserasyon yöntemi, numunenin uygun boyutlara küçültülmesinin ardından çoğunlukla oda sıcaklığında, uygun çözücüde ve uygun kapalı kapta belirli bir zaman bekletilmek ve karıştırılması suretiyle ekstrakte edilmesini temel alır [56]. Masere yağlar elde edildikleri bitkinin özelliklerini taşırlar. Bu yağların elde edilmesi ucuzdur. Ekstraktların aksine oral olarak tedavi ve gıda amaçlı kullanılabilirler. Bunun yanı sıra topikal kullanımlarda herhangi bir tahriş edici özellikleri yoktur. Toksik özellikleri ve istenmeyen yan etkileri yoktur. Geleneksel olarak kullanılagelen maserasyon yağlar bitkilerin sayısız biyolojik aktif maddelerini içermektedir [57].

Soğuk maserasyon ve soğuk sıkma yöntemleriyle elde edilen bitki ekstraktlarının yaygın patojenler üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışma yürütülmüştür. Bu çalışmada, presleme metoduyla ekstraktı elde edilemeyen bitkilerin ekstraktları, maserasyon metodunda birkaç değişiklik yapılarak elde edilebilmiştir. Bitkilerin, değirmen ya da öğütücü yardımı ile parçalanmasının ardından, bitkilerin üzerine bitki/çözgen oranı, 1:3 (w/v) olacak biçimde çeşitli çözgenler ilave edilerek oda sıcaklığında ışısız bir ortamda 5 ila 7 gün bekletilmişlerdir. Maserasyon işleminin sonrasında karışım, kaba filtre kağıdı yardımıyla süzülmesinin ardından, çözgenler uygun sıcaklıkta, döner evaporatör vasıtasıyla uçurularak elde edilmiş saf ekstraktlar, antimikrobiyel etki denemesi amacıyla 0,45 µm çaplı steril filtreden geçirilmiş, steril edildikten sonra ise -18 °C'de muhafaza edilmiştir [58].

2.2 Uçucu Yağlar

Uçucu yağlar; bitkilerin kabuk, meyve, yaprak, çiçek, tohum ve köklerinden, destilasyon metotlarıyla elde edilen, oda sıcaklığında çoğunlukla sıvı halde bulunan, kolay

kristallenebilen, genelde renksiz aromatik hidrokarbon karışımlardır [59]. Uçucu yağlar, bitkilerin yağ hücrelerinden, salgı kanallarından veya salgı tüylerinden salgılanabilen ve karakteristik bir koku veren maddelerdir. Bu tür yağlar parfümlerde, kozmetiklerde ve yiyeceklerde oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bunun dışında karminatif, antiseptik, antispazmodik, inhalan ve analjezik etkiler gibi çeşitli farmakolojik etkilere de sahiptirler [60]. Bunlar ayrıca bulunduğu bitkiye karakteristik özellik sağlayan, bitkiye ait lezzet ve koku veren, birçok kimyasal bileşikten meydana gelen, oda sıcaklığında uçucu özellik gösteren ve suyla sürüklenme yeteneğine sahip yağlımsı karışımlardır. En belirgin özellikleriyse kokulu ve uçucu olmalarıdır. Sabit yağlardan farklı olarak sulu etanolde çözünebilirler [61].

Uçucu yağlar, çoğunlukla minimum yan etkileriyle kullanımı güvenli kabul edilmiş sekonder metabolitlerdir. Aromaterapi uygulamaları harici olarak gerçekleştirilmekle beraber uçucu yağlar bu tedavi şeklinde dâhilen kullanılmamaktadırlar. Ciltte dermatit ya da iritasyona yol açabileceğinden bir sabit yağ vasıtasıyla seyreltilmeden, direkt olarak cilt üzerine uygulanmazlar [62].

Uçucu yağ ekstraksiyonu iki işlemi içerir: Ekstraksiyon ve toplama. Ekstraksiyonun bir parçası olarak genellikle elektrikli ısıtma ile hidrodistilasyon kullanılır. Geleneksel Clevenger (TC) ve tescilli damıtma cihazından (PDD) oluşan Clevenger aparatı, buharlaşan uçucu yağları toplamak için kullanılır [63]. Geleneksel olarak hidrodistilasyon, uçucu yağ çıkarılmak istenen bitkinin suya daldırıldığı ve buharın doğrudan bir ısı kaynağı (yani bir ısıtma mantosu) tarafından oluşturulduğu bir Clevenger aparatı (CA) tarafından gerçekleştirilir [64]. Esansiyel yağın ekstraksiyonu için bir miktar kurutulmuş bitki numunesi atmosferik basınç altında 1000 ml'lik Clevenger aparatına yerleştirilir. Ekstraksiyon süresi türlere göre değişmekte olup 3-4 saat arasında sürmektedir [65].



Şekil 2.2: Clevenger ekstraktörü.

2.2.1 Uçucu Yağların Genel Özellikleri

Uçucu yağları sabit yağlardan ayrılan bazı özellikler vardır. Uçucu yağlar su buharı vasıtasıyla sürüklenebilirler, süzgeç kağıdının üstünde leke bırakmamaktadırlar. Tam tersine sabit yağlar su buharında sürüklenmemektedirler ve süzgeç kağıdı üstünde kalıcı leke bırakırlar. Yağ asitleri trigliserit yapısında olmayan uçucu yağlar, hava ile ışık karşısında süreç içerisinde oksitlenirler ve reçineleşirler. Uçucu yağların, sabit yağlardan ayrılan bir diğer önemli farkı ise uçucu yağların sulu etanolde çözünebilme yeteneğidir [59]. Kaynama noktaları sabit yağlara nazaran düşük olduğu ve oda sıcaklığında buharlaşmaya meyilli olduklarından uçucu yağlar olarak isimlendirilirler. Uçucu yağlar, sabit yağlarla benzer olarak organik çözücülerde çözünebilmektedirler ve hidrofobiktirler. Polariteleri değişkenlik göstermektedir ve apolar yapıda olabilmektedirler [66]. Kimyasal yapılarında ise en büyük grubu terpenler oluşturmaktadır. Ayrıca düşük miktarda fenoller, alkoller, aldehitler, esterler, kükürt ve azot içeren bileşenler de bulunmaktadır. Terpenlerin oksitlenmesiyle meydana gelen oksijenli türevler tat, koku ve terapik özellikteki maddelerdir [67].

2.2.2 Uçucu Yağların Kullanım Alanları

Uçucu yağlar ile üretilen ürünler parfüm üretiminden aromaterapiye, fitoterapiden gıda endüstrisine varıncaya kadar birçok alanda kullanılmaktadır. Bunların dışında gıda kaynaklı hastalıklara neden olan bakteri, küf ve mayalar üzerinde de önemli etkileri bulunmaktadır. Bileşimlerinde hidrokarbonlar ve azotlu türevleri olan, monoterenler, seskiterpenler ve diterpenler bulunmaktadır. Ayrıca bileşimlerinde fenil propanoidler, yağ asitleri ve esterler de bulunabilir [68]. Ayrıca bazı aromatik ve tıbbi bitki uçucu yağlarının hücreleri yenileme özelliği günümüzde kullanılmakta olan cilt bakım ürünlerinde yer almaktadır [69].

2.2.3 Uçucu Yağların Elde Edilme Yöntemleri

2.2.3.1 Buhar Distilasyonu

İki ya da daha fazla sıvı bileşenin, kaynama noktaları ya da uçuculuk farkından yararlanılarak bir karışım içinden ayırma işlemine destilasyon denir. Uçuculuklarının arasında büyük fark bulunan bileşenler, bir karışımın içinden destilasyonla kolaylıkla ayrılabilir [70].

Uçucu yağlar solvent ekstraksiyonu, ekspresyon ve kritik sıvı ekstraksiyonu gibi farklı yöntemlerle üretilse de çoğu buhar distilasyonu ile üretilmektedir. Buhar distilasyonu ile ekstrakte edilen farklı uçucu yağların oranı %93 olup geri kalan %7 diğer yöntemlerle ekstrakte edilmektedir [71]. Buhar destilasyonu yönteminde, cam bir kap içine yerleştirilen taze bitkiye basınç yardım ile uygulanan buhar, yağ damlacıklarını da bünyesinde sürükleyerek toplama kabına taşımakta ve yağ bu noktada yoğunlaştırılarak suyun içinden ayrıştırılmaktadır [72].

Distilasyon yöntemlerinin, sürelerinin ve fraksiyonlarının uçucu yağ oranlarıyla bileşenleri üzerine etkisini araştıran bir çalışma mevcuttur. Bu çalışmada İzmir kekiği (*Origanum onites L.*) türünün çiçeklenme zamanında biçilerek gölgelik alanda doğal şekilde kurutulmuş yaprakları kullanılmıştır. Kurutulmuş yaprak numuneler buhar ve su distilasyonu olacak şekilde iki farklı biçimde damıtılmıştır. Damıtma süreci, buhar ve su damıtma sistemine uygun pilot tip kazanda gerçekleştirilmiştir. Damıtma kazanına 2,5 kg kekik konulmuş ve üzerine 10 L kadar su ilave edilerek su distilasyonu, yine aynı miktar kekik yaprağından sıcak su buharı geçirilerek buhar distilasyonu gerçekleştirilmiştir. Su distilasyonu için kuru yapraklar su ile beraber 100 °C sıcaklıkta kaynatılırken, buhar distilasyonunda damıtma kazanının alt kısmında su ceketini meydana getirilerek delikli

ızgaranın üstüne konulan kuru yapraklara direkt olarak sıcak buhar verilmiştir. İki yöntemde de buharla beraber sürüklenen kondenserde yoğunlaşmış uçucu yağlar florentin kabının içinde aromatik suyun üzerinde toplanmış ve üst faz kısmında bulunan kekik yağının miktarı % (v/w) şeklinde belirlenmiştir. İki damıtma yönteminde de 15'er, 30'ar, 60'ar, 90'ar, 120'şer ve 150'şer dakika olarak toplamda 6 farklı distilasyon süresi uygulanmıştır. Toplamda 150 dakika boyunca uygulanan damıtma süresince 0-15, 16-30, 31-60, 61-90, 91-120 ve 121-150 dakika aralıklarında kazanılmış uçucu yağlar ayrıştırılarak birbirinden farklı toplamda 6 fraksiyon dilimi elde edilmiştir. Uçucu yağlar, bileşenleri belirleninceye kadar 4 °C sıcaklıktaki karanlık ortamda depolanmıştır [73].

2.2.3.2 Hidrodüfüzyon

Hidrodüfüzyon sanayide, buharın bitkisel materyallerle dolu bir kazana üstten verilmesi ve ardından alttan çıkan buharın soğutucuda yoğunlaştırılması şeklinde uygulanır. Bu yöntem ile elde edilen uçucu yağ miktarı yüksektir; ancak suda çözünen maddelerin veya sabit yağların uçucu yağa geçmesi nedeniyle endüstriyel alanda kullanımı pek yaygın değildir [74].

Zencefilden uçucu yağ çıkarılması için mikrodalga destekli hidrodüfüzyon yönteminin kullanıldığı bir çalışma mevcuttur. Uçucu yağın mikrodalga hidrodüfüzyonu ile ekstraksiyonu, çok modlu bir mikrodalga fırın kullanılarak bu çalışmada gerçekleştirilmiştir. Taze bitki materyalleri (200 g kıyılmış zencefil rizomları ve 100 g preslenmiş hamur), 10 ml'lik dereceli bir tüple donatılmış Neo Clevenger tipi bir aparat kullanılarak mikrodalga destekli hidrodüfüzyon ünitesine gönderilmiştir. Uçucu yağ 105 dakika boyunca ekstre edilmiştir. Kıyılmış zencefil rizomları için bitkiye 2/1 oranında su kullanılmış ve preslenmiş hamur için sırasıyla 3/1 oranı kullanılmıştır [75].

2.2.3.3 Mikrodalga Ekstraksiyonu

Mikrodalga enerjisi yaygın olarak ekstraksiyon uygulamalarında kullanılmaktadır. Mikrodalga ışınları gıda maddeleri ile direk etkileşime girmekte ve oluşan ısı ışınlanmış ortam içerisinde hacimsel olarak dağılmaktadır. Mikrodalga ısıtma mekanizmasının prensibi dipolar dönmeye ve iyonik iletme dayanmaktadır. Mikrodalga ısıtmanın ana avantajları hızlı, basit ve ekonomik olması aynı zamanda yüksek ekstraksiyon verimi sağlaması olarak söylenmektedir. Mikrodalga destekli hidrodüfüzyon (MAHD) ve çözücüsüz mikrodalga ekstraksiyon teknikleri (SFME) mikrodalga enerjisiyi bazı değişik uygulamalarda kullanan yöntemlerdir. SFME, mikrodalga ısıtma ve kuru distilasyonun

atmosferik basınçta birlikte uygulandığı bir tekniktir. Bu metotla taze materyale kurutma uygulanmadan uçucu yağ elde edilmesi mümkündür. MAHD ise, mikrodalga enerjinin ısıtma işleminde kullanıldığı, hidrodistilasyona dayanan bir tekniktir. Bu yöntemlerle elde edilen uçucu yağların özellikleri hidrodistilasyon yöntemiyle elde edilen uçucu yağlarla karşılaştırıldığında, uçucu yağların oksijenle yükseltgenmiş bileşikleri daha fazla miktarda içerdiği, yağ veriminin yüksek olduğu ve uygulama süresinin ciddi anlamda azaldığı bildirilmiştir [76].

Bitkilerden uçucu yağların mikrodalga destekli ekstraksiyonu fesleğen ve epazot bitkilerine uygulanmıştır. Bu çalışmada hammaddeler, Meksika'nın Puebla yerel pazarından satın alınan fesleğen (*Ocimum basilicum L.*) ve epazot (*Chenopodium ambrosioides L.*) bitkileridir. Yaprakların ayrılmasından sonra uçucu yağları ekstrakte edilecek bitkiler oda sıcaklığında kurutulmuştur. Uçucu yağların ekstraksiyonu, ev tipi bir mikrodalga fırın kullanılarak gerçekleştirilmiştir (600 W, Daewoo, Çin). Ön testler sonucu, düşük güç seviyelerinin (maksimum gücün %20 ila %60'ı) uzun ekstraksiyon sürelerine yol açtığı, yüksek güçlerin ise yaprakları hafifçe yaktığı bulunmuştur. Fırın şu şekilde ayarlanmıştır: 100 g numune (kurutulmuş yaprak) 1000 mL'lik düz dipli bir şişeye yerleştirilmiş ve analiz edilecek solvent miktarı (damıtılmış su) ilave edilmiştir (400 veya 500 mL); numuneyi içeren şişe mikrodalga fırına yerleştirilmiş ve soğuk su devridaim sistemine bağlı bir yoğunlaştırıcıya ayarlanmıştır. Ardından mikrodalga fırın açılmış ve istenen süre (20 veya 30 dakika) ve güç (%70 veya 80) koşulları, bitki-su karışımının ısıtılmasına ve bunun sonucunda buhar oluşumuna izin verecek şekilde ayarlanmıştır. Şişe içinde hiçbir karıştırma veya döndürme mümkün olmamıştır; ancak su miktarı kabul edilebilir konveksiyona izin verdiğinden yeterli homojenlik elde edilmiştir. Buharlar, soğutuldukları yoğunlaştırıcıya ulaşana kadar şişenin boynuna doğru yükselmeye başlamış, çıkarılan sıvı bir kapana alınmış; uçucu yağlar geri kazanılmıştır. Sonrasında hacmi bir mikropipet kullanılarak belirlenmiş, yağlarda kalan su, ilave edilen susuz sodyum sülfat ile çıkarılmıştır. Verimler yüzde (kurutulmuş bitkinin ağırlığı başına ekstrakte edilen yağın hacmi) olarak hesaplanmıştır [77].

2.3 Esansiyel Yağların ve Uçucu Yağların Bileşenleri:

2.3.1 Terpenler

Terpenoidler olarak da adlandırılan terpenler, doğal olarak meydana gelen bileşiklerin en çeşitli ve en büyük grubudur. Barındırdıkları izopren birimlerinin sayısına bakılarak mono, di, tri, tetra ve seskiterpenler olarak sınıflandırılırlar [78]. Terpenler çok çeşitli bitki ve

hayvanlar tarafından üretilen doğal olarak oluşan maddelerdir. Terpenoidlerin kanser kemopreventif etkileri, antimikrobiyal, antifungal, antiviral, antihiperglisemik, anti-inflamatuar ve antiparaziter aktiviteleri de dahil olmak kaydıyla geniş biyolojik özellikleri açıklanmaktadır [79]. Terpenlerin koku ve aroma olarak ana uygulaması bileşiklerin mutlak konfigürasyonuna bağlıdır çünkü enantiyomerler farklı organoleptik özellikler sunar [80]. Terpenler, bugüne kadar izole edilmiş 55.000'den fazla üyeye, ikincil metabolitlerin en büyük ve en çeşitli sınıflarından birini temsil eder. Doğada kullanılan terpen siklaz enzimleri, basit, doğrusal hidrokarbon fosfatları egzotik bir dizi kiral, karbosiklik iskelete dönüştürür. Daha fazla oksidasyon ve yeniden düzenleme, neredeyse sonsuz sayıda akla gelebilecek yapıyla sonuçlanır [81]. Esansiyel yağlarda bulunan biyoaktif bileşikler, özellikle terpenler ve terpenoidler, antikanser, antimikrobiyal, antiinflamatuar, antialerjik ve antioksidan olmak üzere çok çeşitli biyolojik aktiviteler sunmaktadır [82].

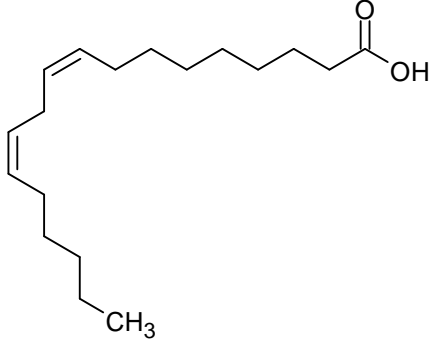
2.3.2 Oksijenli Bileşikler

2.3.2.1 Aldehitler

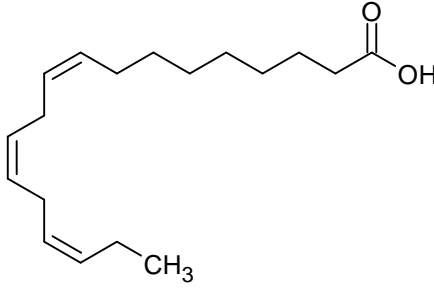
Karbonil grubuna bağlı olarak bulunan bir hidrojen atomu, bir radikal yapı taşıyan ve yapı olarak (R-CHO) şeklindeki bileşiklere aldehit denilmektedir. Yapısında bulunan radikaller aromatik, sikloalifatik, heterosiklik veya alifatik yapıda olabilir [83]. Reaktif aldehitlerin enzimatik olmayan serbest radikal üretiminin, romatoid artrit, ateroskleroz, nörodejenerasyon ve bir takım karaciğer hastalıkları dahil olmak üzere sürekli oksidatif stres hastalıklarına katkıda bulunduğu bilinmektedir. Aynı zamanda, lipit elektrofil birikiminin, hücrel homeostazis için kritik olan proteinlerin modifikasyonu yoluyla hücre sinyalleme olaylarında rol oynadığı gösterilmiştir [84].

2.3.2.2 Esansiyel Yağ Asitleri

Doymuş yağ asitleriyle birlikte tüm yağların vücutta önemli rolleri vardır. Ancak en önemli yağlar vücudun üretmediği ve dolayısıyla yediğimiz yiyeceklerden almamız gereken yağlardır. Bu esansiyel yağ asitleri ise α -linolenik asit (omega-3 grubu) ve linoleik asit (omega-6 grubu) bazlıdır [85].

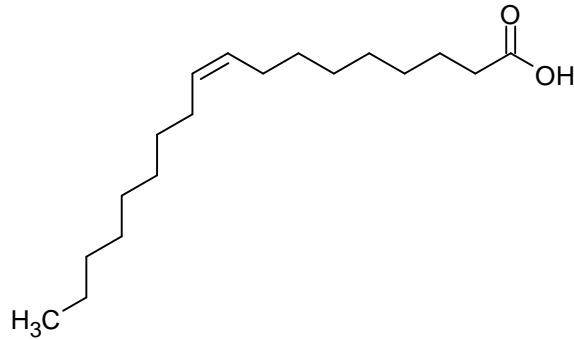


Şekil 2.3: Linoleik asidin açık formül gösterimi.

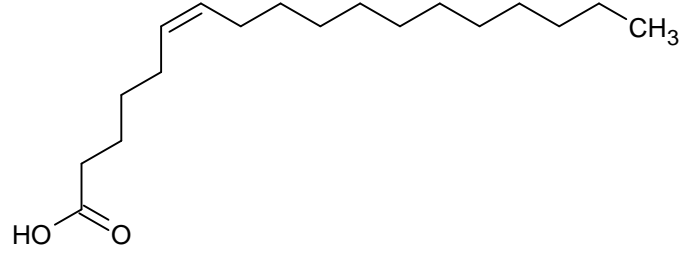


Şekil 2.4: Alfa-linolenik asidin açık formül gösterimi.

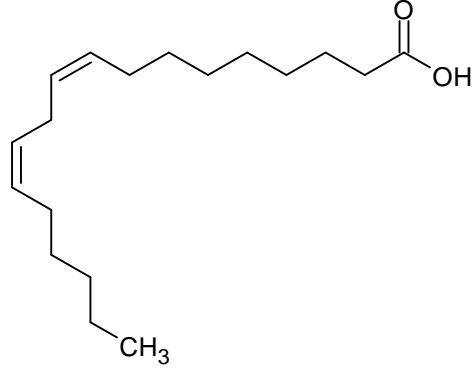
Doymamış yağ asitlerinden birisi olan ve vitamin F olarak da adlandırılan linoleik, linolenik ve arahidonik asit esansiyel yağ asitleri olarak da bilinmektedir. Bu yağ asitleri, hayvan organizmaları tarafından sentezlenemediklerinden gıdalar vasıtasıyla dışarıdan alınmaları gerekir. Doymamış yağ asitleri genellikle omega-3 ile omega-6 yağ asitleri formundadır [86]. Doymamış yağ asitleri fındık, mısır, kanola, zeytin, ayçiçeği, soya yağı gibi bitkisel yağlarla birlikte özellikle soğuk sularda yaşamakta olan ton, uskumru, somon gibi balıklarda da bol miktarda mevcuttur [87].



Şekil 2.5: Oleik asidin açık formül gösterimi.



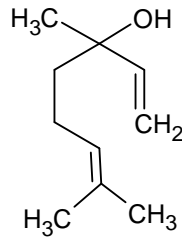
Şekil 2.6: Petroselinik asidin açık formül gösterimi.



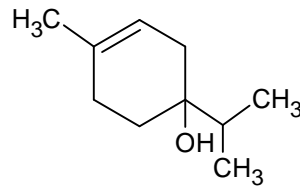
Şekil 2.7: Linoleik asidin açık formül gösterimi.

2.3.2.3 Alkoller

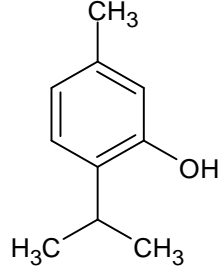
Alkoller, doymuş bir C atomuna bağlanmış hidroksil (-OH) grubu taşırlar [88]. Kışniş, çay ağacı ve tıbbi nane gibi yağlar ise bünyelerinde terpen yapısına bağlı bir hidroksil grubu (-OH) taşıyan alkolleri barındırır (linalool, terpinen-4-ol ve mentol) [89]. Alkol grubuna dahil olan menthol, 4-terpineol ve geraniol, antimikrobiyal ve sterilize edicidir [90].



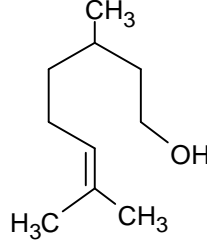
Şekil 2.8: Linaloolün açık formül gösterimi



Şekil 2.9: Terpinen-4-olün açık formül gösterimi



Şekil 2.10: Timolün açık formül gösterimi.



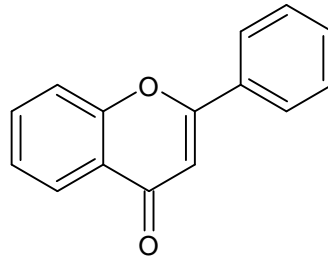
Şekil 2.11: β-Sitronellolün açık formül gösterimi.

2.3.2.4 Ketonlar

Yağ asitleri vücut tarafından, kan dolaşımında yer alan ve keton olarak adlandırılmış, enerji bakımından oldukça zengin bir yapıya dönüştürülmektedir. Ketonlar, bir karbonil grubu barındıran, yapıları $RC(=O)R'$ şeklinde gösterilen yapılardır. R ve R' grupları, farklı karbon içeren ikame edicilerdir. Ketonlar insan vücudunda esasen hepatositlerdeki mitokondrilerce meydana getirilmektedir. İnsan vücudundaki birçok doku, ketonları alternatif enerji kaynağı olarak değerlendirme yetisine sahiptir [91].

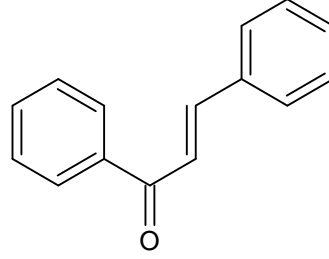
2.3.2.5 Fenoller

İçerdikleri yapısal unsurlara ve halka sayılarına bakılarak adlandırılan polifenolik maddeler çoğunlukla alkol ve fenolik asitlerde olduğu gibi bir fenol halkasına sahiptirler. Polifenollerin ana grupları ise taninler, fenolik asitler, flavonoidler, stilbenler (resveratrol) ve lignanlardır [92].



Şekil 2.12: Flavon omurgasının açık formül gösterimi (2-fenil-1,4-benzopiron).

Flavonoidler insan diyetinde en çok bulunan polifenolik bileşik grubudur ve hemen her bitkide bulunurlar [93]. Bitkilerdeki mavi, kırmızı ve sarı renkli pigmentlerin başlıca kaynağı olan flavonoidler; sebze ve meyve gibi gıdalar ile, şarap ve çay gibi içeceklerde de doğal olarak bulunabilen 2-fenil-benzo- α -piron yapısındaki polifenolik bileşiklerdir [94]. Flavonoidler, bitkilerde sekonder metabolit göreviyle bitki yaşamında birçok işlevden sorumludur. İnsan diyetindeki en yaygın bulunan fenolik bileşiklerdir ve şimdiki dek 5000'den fazla çeşitli flavonoid tanımlanmıştır [95].



Şekil 2.13: Bir flavonoid türü olan Chalcone'un açık formül yapısı.

2.4 Uçucu Yağ ve Sabit Yağlarda GC-MS Kullanımı

Esansiyel yağlar, doğal kaynaklardan damıtma yoluyla veya turunçgil yağları gibi uygun bir soğuk presleme yöntemiyle elde edilen uçucu ve yarı uçucu bileşiklerin karışımlarıdır. Esansiyel yağ bileşenlerinin karmaşık ve uçucu doğası nedeniyle, kütle spektrometrisiyle birleştirilmiş gaz kromatografisi, bunların karakterizasyonu için en yaygın olarak uygulanan analitik tekniktir [96]. Gaz kromatografisi ve kütle spektroskopisi (GC-MS), yaygın olarak kullanılan bir merkezi analitik teknolojidir [97]. Kütle spektrometrisiyle birleştirilmiş gaz kromatografisi, çok faktörlü sistemlerde analitlerin tanımlanması ve miktarının belirlenmesi için önemli bir tekniktir [98]. Gaz kromatografisinin çok geniş bir uygulama alanı vardır. Ancak ilk ve asıl kullanım alanı uçucu yağlar, hidrokarbonlar ve solventler gibi çok bileşenli karışımların ayrılması ve analizidir. Özünde, alev iyonizasyon detektörü ve elektron yakalama detektörünün (çok yüksek hassasiyete sahip olan) kullanımıyla gaz kromatografisi, çok düşük konsantrasyonlarda bulunan malzemeleri niceliksel olarak belirleyebilir [99].

Gaz kromatografisi elektron darbeleri iyonizasyon kütle spektrometresi (GC-EI-MS), uçucu yağların metabolomik çalışmaları için en yaygın olarak uygulanan analitik teknik olmuştur ve olmaya devam etmektedir [100]. GC-MS bazlı hedeflenmemiş metabolomikler, karmaşık numunelerdeki masif yarı uçucu ve uçucu bileşiklerin yüksek düzeyde ayrıntılı

bir şekilde karakterize edilmesi için birçok laboratuvarında yaygın olarak kullanılmaktadır [101].

Yapılan bir çalışmaya göre, uçucu yağ, *C. camphora*'nın yapraklarından hidrodistilasyon yoluyla izole edildikten sonra ve uçucu yağın kimyasal bileşimleri, gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS) ile analiz edilmiştir.

C. camphora yapraklarından izole edilmiş uçucu yağın ana bileşenlerinin %26,6 oranında linalool, %16,8 oranında okaliptol, %8,7 oranında α -terpineol, %8,1 oranında izoborneol, %5,1 oranında β -phellandrene olduğu belirlenmiştir. Veriler, Tablo 2.7'de sıralanmıştır [102].

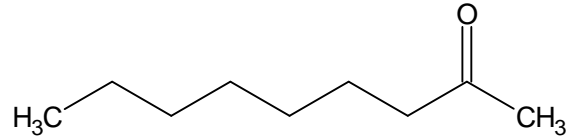
Gerçekleştirilen bir diğer çalışmada, *Citrus reticulata*'nın uçucu yağ bileşenlerinin GC-MS analizi ile kimyasal karakterizasyonu belirlenmiştir. Çiçek kısımlarındaki uçucu maddelerle ilgili yapılan tanımlamada; uçucu yağın yüksek miktarda;

- Monoterpen bileşenleri (%68,1),
- Monoterpenik hidrokarbonlar; α -tujen (%3,1), α -pinen (%4,2), α -kamfen (%1,8), β -pinen (%10,8) ile sabinen (%0,9)
- Monoterpenik alkol; α -terpineol (%0,8), monoterpenik ketonlar yani kafur (%9,0), izomer (%1,4),
- Monoterpenik eter; o-metil öjenol (%1,6),
- Monoterpenik ester; bornil asetat (%14,5),
- Monoterpenik aldehit; mirtenal (%4,1), α -Selenin (%5,9), t-karyofililen (%5,5), bisiklogermasen (%2,8) içeren seskiterpen hidrokarbonlar barındırdığı tespit edilmiştir.
- Terpenik olmayan bileşenler (%11,7); etil sikloheksenal keton (%7,1), n-bütül benzoat (%4,6) vb. içerir [103].

Primula vulgaris subs. sibthorpii bitkisinin toprak üstü bölümlerinin uçucu yağ ve çözücü ekstraktının GC-MS analiziyle ilgili bir çalışma mevcuttur. Bu çalışmada *Primula vulgaris HUDS. subsp. sibthorpii* bitkisinin yaprak ve çiçek kısımlarından ekstraksiyon ve destilasyonla elde edilmiş esansiyel yağ ve kloroform ekstraktlarının kimyasal bileşim analizi gerçekleştirilmiştir. Yapısı aydınlatılmış 69 adet doğal bileşikten; Flavon (%48,45) bileşiği yaprak kloroform ekstraktının, heksadekanoik asit (%27,63) bileşiği yaprak

esansiyel yağının, trikosan (%16,69) bileşiği çiçek kloroform ekstraktının, trikosan (%37,03) bileşiği çiçek esansiyel yağının, ana bileşenleri olarak tespit edilmiştir [104].

Ruta graveolens uçucu yağından elde edilen potansiyel allelokimyasallarla ilgili yapılan bir araştırma mevcuttur. Bu çalışmada *Ruta graveolens*'in toprak üstü kısımlarının uçucu yağı, kuru ağırlık bazında %0,74 verimle hidrodistilasyonla elde edilmiş, GC ve GC-MS analizleriyle otuz sekiz bileşen tanımlanmıştır. Temel bileşenler olarak undekan-2-on (%46,8) ve nonan-2-on (%18,8) olmak üzere, uçucu yağda 2-keonların baskın olduğu anlaşılmıştır [105].



Şekil 2.14: Nonan-2-on'un açık formül gösterimi.

Çuha çiçeği yağından elde edilen potansiyel nutrasötik bileşenlerin fitokimyasal karakterizasyonu ile ilgili bir çalışma da bulunmaktadır. Fonksiyonel gıda bileşenleri kaynağı olarak potansiyelini anlamak için gerçekleştirilen bu çalışmada amaç, çuha çiçeği yağının farklı bileşenlerini farklı tekniklerle (GC-MS ve HPLC) tanımlamak ve ölçmektir. Lipid profili, oleik (%7), linoleik (%74) ve γ -linolenik (%9)'in en bol yağ asitleri olduğunu göstermiştir (Tablo 2.1) [106].

Tablo 2.1: Çuha çiçeği yağındaki yağ asidi profili.

Bileşen İsmi	Yüzde ve Standart Sapma
Palmitik Asit	6,31±0,14
Stearik Asit	1,88±0,02
Oleik Asit	6,93±0,02
Vaksenik Asit	0,81±0,03
Linoleik Asit	73,88±0,09
Eikosoik Asit	0,31±0,03
γ -Linolenik Asit	9,24±0,05
Eikosoik Asit	0,55±0,01
Dokozanoik Asit	0,10±0,01

2.5 Antioksidanlar

Günümüzde bitki kökenli gıdaların tüketiminden kaynaklanan sağlık etkilerinden fenolik bileşiklerin başlıca sorumlu olduğu bilinmektedir. Hidroksil ikame edicilerinin varlığı ve serbest radikalleri temizleyebilmelerini sağlayan aromatik yapıları sebebiyle antioksidanlar olarak önemli bir rol alırlar [107]. Bütün biyolojik organizmalar oksidatif strese karşı birçok çeşit antioksidandan oluşan bir savunma sistemi geliştirmiştir. Antioksidanlar fonksiyonlarına göre dört kategoriye ayrılır; önleyici antioksidanlar; radikal temizleyici antioksidanlar; onarım ve de novo antioksidanlar; ve adaptasyon. Radikal temizleyici antioksidanlar en büyük avantaja sahiptir. Radikal temizleyici antioksidanların aktiviteleri çeşitli faktörler tarafından belirlense de kimyasal yapıları anahtar öneme sahiptir. Ayrıca radikal temizleyici antioksidanların, hücrenin gen ekspresyonunu düzenleyen yeni bir fonksiyona sahip olduğu keşfedilmiştir [108].

Son yıllarda serbest radikal kimyası alanına büyük ilgi duyulmaktadır. Serbest radikaller reaktif oksijen türleri ile reaktif nitrojen türleri vücudumuzca farklı endojen sistemler, farklı fizikokimyasal koşullara veya patolojik durumlara maruz kalma yoluyla üretilir. Uygun fizyolojik fonksiyon için antioksidanlar ile serbest radikaller arasında bir denge olmalıdır. Serbest radikaller vücudun bunları dengeleme yeteneğini baskılırsa oksidatif stres olarak tanımlanan bir durum meydana gelir. Serbest radikaller böylece lipitleri, proteinleri ve DNA'yı olumsuz yönde değişikliğe uğratar ve bazı hastalıkları tetikler. Bu nedenle harici antioksidan kaynağının uygulanması bu oksidatif stresle başa çıkmada yardımcı olabilir [109]. Oksidatif stres, merkezi sinir sisteminin bütünlüğünü tehlikeye atarak bilişsel yeteneği etkileyebilir. Antioksidanlar açısından zengin bitkisel gıdaların tüketimi bu sayede bilişi koruyabilir [110].

2.5.1 Sabit Yağlarda Antioksidanlar

Çörek otu tohumlarının esansiyel yağının (*Nigella sativa L.*), olası bir antioksidan aktivitesinin test edildiği bir çalışma mevcuttur. Bu çalışmada antioksidanlar için iki TLC tarama yöntemi kullanılarak yapılan hızlı bir değerlendirmede, timokinon ve karvakrol, t-anetol ve 4-terpineol bileşenlerinin saygın radikal temizleme özelliği gösterdiği gözlemlenmiştir. Bu dört bileşen ve esansiyel yağ, spesifik olmayan hidrojen atomu veya elektron bağışlama aktivitesi açısından difenilpikrilhidrasil tahlilinde test edildiğinde değişken antioksidan aktiviteye sahiptir [111].

Primula veris'in farklı bitki kısımlarının fenolik içeriği ve antioksidan aktivitesindeki farklılıklarla ilgili bir araştırma da mevcuttur. Bu çalışmada Romanya'nın batı kısmındaki iki farklı yerden toplanan *Primula veris*'in çiçekleri, yaprakları ve kökleri karşılaştırılmıştır. Fenolik içeriği, antioksidan aktiviteyi ve kimyasal bileşimi değerlendirmek amacıyla etanollü ekstraktlar 7 gün süreyle maserasyon yoluyla elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, *Primula veris*'in etanolik ekstraktlarının, yapraklar için 136 ila 159 mg GAE/L, kökler için 131 ila 168 mg GAE/L ve çiçekler için 133 ila 219 mg GAE/L arasında değişen yüksek fenolik içerik sunduğunu göstermiştir. Tüm bitki kısımlarında dikkate değer bir DPPH inhibisyonu yüzdesi elde edilmiştir (kökler %16,4-23,2, yapraklar %16,0-17 ve çiçekler %14,9-24,7) [112].

2.5.2 Uçucu Yağlarda Antioksidanlar

Balıkesir dolaylarında doğal olarak büyüyen fesleğen (*Occimum basilicum L.*) ve biberiye (*Rosmarinus officinalis L.*) bitkilerine ait uçucu yağların antioksidan özelliklerinin tespitiyle ilgili bir çalışma mevcuttur. Uçucu yağların antioksidan özelliklerini saptamak amacıyla toplam antioksidan yakalama kapasitesi tayini ve toplam fenolik madde analizi gerçekleştirilmiştir. Yapılan bu çalışma, Balıkesir yöresinde yetiştirilen fesleğen (*Occimum basilicum L.*) ve biberiye (*Rosmarinus officinalis L.*) bitkilerinin değişen yüzdelerde antioksidan özellik gösterdiğini ortaya koymuştur. Çalışma sırasında DPPH süpürücü antioksidan aktivite tayin yöntemi kullanılmıştır. Çalışma sonucunda, fenolik madde içeriklerinin yanı sıra antioksidan özellik sonuçları da laboratuvar ortamında elde edilen uçucu yağların muadillerinden çok daha yüksek değerlere sahip olduğunu kanıtlamıştır [113].

Primula veris subsp. columnae uçucu yağının kimyasal içeriğinin incelendiği bir çalışma da mevcuttur. *Primula veris subsp. columnae*'nin çiçek ve yapraklarındaki uçucu yağların oranları ve bileşenleri belirlenerek, metanol ekstraktlarının antioksidan ve antimikrobiyal (antibakteriyel ve antifungal) özellikleri araştırıldı. Doğal olarak yetişen *Primula veris subsp. columnae* bitkisinin yaprak ve çiçek uçucu yağları ekstrakte edilerek yüzde oranları ve ana bileşenleri tespit edildi. Uçucu yağın bileşenleri Gaz Kromatografi Kütle Dedektörü-Alev İyonizasyon Dedektörü (GC-MS/FID) ile tanımlandı. Çiçek uçucu yağında toplam 62 bileşik tanımlanmış olup, ana bileşik olarak metil 4-metoksisalisilat (%37,1) belirlenmiştir. Yaprak esansiyel yağdaki 50 bileşiğin yapısı tanımlanırken ana bileşik olarak linoleik asit (%40,1) tespit edilmiştir. Çiçek ve yaprakların metanol ile ekstraksiyonu sonucunda çiçeklerde %34,5, yapraklarda ise %28,8 oranında ekstraksiyon

maddesi elde edilmiştir. *Primula veris subsp. columnae* bitkisinin metanol ekstraksiyonu ve antioksidan özellikleri oldukça yüksek bulunmuştur [114].

2.6 DNA Koruma Aktivitesi

Karmaşık bir makromolekül olan deoksiribonükleik asit (DNA), canlı organizmanın önemli genetik özelliklerini kontrol eder. Genler, hücresel sistem için temel bir yapı görevi gören proteinlerin kodlanmasında dolaylı olarak rol oynayan DNA'nın önemli bir bölümü/bölümleridir. Genetik bilgilerin, kusurların ve hastalıkların çoğunluğu DNA türlerine, yapılarına ve insan vücudunda gerçekleştirdiği işlevlere bağlıdır [115]. Kanser, apoptozun azalması ve/veya hücre döngüsü kontrol mekanizmalarının kaybının neden olduğu aşırı hücre çoğalmasıdır. Çoğu kanserin tedavisi genellikle kemoterapi ve radyoterapinin kullanımını içerir. Sisplatin (CDDP), katı tümörlerin tedavisinde kullanılan önemli bir farmasötik ajan olmasına rağmen nefrotoksisite gibi yan etkiler kullanımını sınırlamaktadır. CDDP'nin neden olduğu nefrotoksisitede yer alan mekanizmalar karmaşıktır ve CDDP'nin indüklediği epitel hücre ölümü, mitokondriyal fonksiyon bozukluğu, DNA hasarı, apoptoz, inflamasyon ve oksidatif stres gibi çeşitli süreçleri içerir [116]. Serbest radikaller esas olarak insan vücudundaki metabolik süreçler tarafından üretilir ve bazı radikaller, nöral sinyal iletimi gibi normal hücre süreçlerinde önemli rollere sahiptir. Öte yandan çok önemli hastalıklara neden olan aşırı serbest radikal saldırısı, DNA, proteinler ve lipitler dahil hücrenin tüm bileşenlerine zarar verebilir [117]. Oksidatif stres, antioksidan savunmasıyla oksijen oluşumu arasındaki dengenin oksidanlar tarafına doğru bozulması ve hücresel hasara yol açması durumudur. DNA oksidatif saldırının önemli bir hedefidir ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) sebep olduğu DNA hasarının kalp hastalıkları, diyabet ve kanser gibi birçok patolojik tabloyla yakın ilişkisi vardır. Bitkiler polifenolik bileşikler gibi birçok antioksidan bileşen içerir ve bu bileşikler hücreleri ROS'un zararlı etkilerine karşı korur [118].

Pelargonium quercetorum Agnew ekstraktının asetilkolinesteraz (AChE) ve karbonik anhidraz I-II enzimlerinin (hCA I-II) aktivitelerini etkilediğinin in vitro koşullar altında araştırıldığı bir çalışma da mevcuttur. Yaprak ve çiçek dokularından elde edilen ekstraktlar kullanılarak DNA'nın plazmid DNA üzerindeki koruyucu etkisi açığa çıkartılmıştır. Sonuç olarak, mevcut çalışmanın bulgularına dayanarak *P. quercetorum* Agnew ile ilgili klinik çalışmaların tamamlanabileceği ve bitkinin farmakolojik olarak kullanılabilmesi öngörülmüştür [119].

Asetoguanamin ta eterlerin mikrodalga yöntemi sentezi ve karakterizasyonuyla ilgili bir araştırma mevcuttur. Bu araştırmada; triazin sınıfı heterosiklik bileşiklerinden olan, birçok farmasotiklerin ara ürünü asetoguanamin (2,4-diamino-6-metil-1,3,5-triazin) ta eter türevleri, 2,4-diamino-6-metil-1,3,5-triazin ve poli(etilen) glikol dihalojenrlerin S_N2 mekanizmasına göre sentezlenmiştir. Reaksiyonda bazik bir katalizör (Cs₂CO₃) ve mikrodalga destekli sentez metodu kullanılmıştır. Mikrodalga destekli sentez yöntemi, yeşil kimya teknikleri kullanılarak hedeflenen asetoguanamin ta eter türevleri sentezlenmiştir. Sentezlenen makrohalkalı 2,4-diamino-6-metil-1,3,5-triazin ta eter türevlerini saflaştırdıktan sonra yapısal karakterizasyonları FTIR, NMR ve MS yöntemleriyle gerçekleştirilmiştir. Bu bileşiklerin DPPH radikal süpürme etkisi ve DNA koruma aktivitesi deneysel olarak test edilmiştir [120].

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1 Materyaller

3.1.1 Kimyasal Maddeler

Primula vulgaris'in kök, yaprak ve çiçek kısımlarının sabit yağını çıkarmak için Panreac marka, %95'lik n-hegzan kullanılmıştır.

3.1.2 Kullanılan Alet ve Cihazlar

Maddelerin öğütülmesi, yağının elde edilmesi, evapore edilmesi ve analizi için kullanılan aşağıdaki alet ve cihazlar kullanılmıştır.

Öğütme Cihazı: RETSCH ZM200

Hassas Terazisi: SARTORIUS TE214S

Evaporatör: HEIDOLPH LABOROTA 4001

Mantolu Isıtıcı: ISOTEX HEATING MANTLES

Etüv: MEMMERT

Soxhlet Cihazı: İLDAM N.S 45/40 250 ml BORO 3.3

FTIR Spektroskopisi: PERKIN ELMER BX 2 FTIR

GC-MS: THERMO, Triplus RSH Trace1310-ISQ LT

Elisa Okuyucu: Multiskan Go

Jel Görüntüleme Sistemi: Sony Major Science

Kül Fırını: Carbolite

Azot Tayin Cihazı: LECO FP-528

Ekstraksiyon Sistemi: ANKOM XT15

Çizim Programı: ChemSketch Deneme Sürümü

3.2 Çuha Çiçeğinin Toplanması ve Familyasının Belirlenmesi

Primula vulgaris bitkisi, Çorum ili İskilip ilçesi Yalak Köyü civarında bulunan Yalak Yaylası bölgesinden 11 Mart 2023 tarihinde hasat edildi. *Primula vulgaris*'e ait çiçek, yaprak ve kökler, 10 gün boyunca, kapalı alanda kurutuldu. *Primula vulgaris* çuha çiçeği türü Balıkesir Üniversitesi Necatibey Eğitim Fakültesi Matematik ve Fen Bilimleri Eğitim

Bölümü Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Taner ÖZCAN tarafından belirlendi [121, 122].



Şekil 3.1: Kurutulmuş *Primula vulgaris* yaprakları.



Şekil 3.2: Kurutulmuş *Primula vulgaris* kökleri.



Şekil 3.3: Kurutulmuş *Primula vulgaris* çiçekleri.

Kurutulan kk, yaprak ve iek rnekleri (Şekil 3.1, 3.2, 3.3), RETSCH ZM200 marka gtme cihazında (Şekil 3.4) gtld ve yağ çıkarımı için uygun boyuta (Şekil 3.5, 3.6, 3.7) getirildi.



Şekil 3.4: RETSCH ZM200 marka gtme cihazı.



Şekil 3.5: gtlmŐ *Primula vulgaris* yaprağı.



Şekil 3.6: Öğütülmüş *Primula vulgaris* kökü.



Şekil 3.7: Öğütülmüş *Primula vulgaris* çiçekleri.

3.3 Sabit Yağların Eldesi

Örneklerin sabit yağlarını çıkarmak için Soxhlet düzeneği (Şekil 3.8) kullanıldı.



Şekil 3.8: Hazırlanan Soxhlet cihazı düzeneği.

Her ekstraksiyon işlemi için aşağıdaki tabloda verilen (Tablo 3.1) miktarlarda çiçek, kök ve yaprak numuneleri tartılarak süzgeç kağıdı içerisine alındı. Hazırlanan numuneler, Soxhlet cihazının içine yerleştirildi. Her bir numune için çözücü olarak 500 ml n-hegzan kullanıldı. 250 ml'lik kısmı, Soxhlet cihazına bağlanmış 500 ml'lik balona ilave edilirken, diğer 250 ml'lik kısmı ise, süzgeç kağıdını ıslatmak amacıyla Soxhlet cihazının tepe kısmından ilave edilmiştir. Soxhlet cihazının geri soğutma kısımlarının da bağlanmasıyla birlikte, mantolu ısıtıcı yaklaşık olarak 75 °C'de sabitlendi. Soxhlet cihazıyla sabit yağ elde etme işlemi, her bir numune için 2 saatte tamamlandı. Ekstraksiyon tamamlandıktan sonra elde edilen ekstrakt, Soxhlet cihazına bağlı olan 500 ml'lik balondan alındı ve evaporasyon işlemi için evaporatöre bağlandı. 150 rpm dönüş hızıyla, 45 °C sıcaklıkla ve indirgenmiş basınçla evaporasyon işlemine başlandı. Elde edilen sabit yağı tartmada kullanılacak olan 50 ml'lik balon, boş halde tartılarak daraları not edildi. Yaklaşık 5 dakikalık süreç sonunda, tartım kolaylığı elde etmek için, çözücüsünün büyük bölümü evapore edilmiş kalan ekstrakte kısım, daha öncesi darası not edilmiş 50 ml'lik cam balonlara aktarıldı ve evaporasyon işlemine devam edildi. Çözücünün tamamı evapore edildikten sonra, içinde sabit yağ kalan 50 ml'lik balonlar, hassas terazi ile yeniden tartıldı. Brüt kısım ile daranın farkı alınarak, elde edilen sabit yağın miktarı kaydedildi. Ekstrakt yağlar ışık almayan kapalı alanda muhafaza edildi.

Tablo 3.1: Numunelerden elde edilen yağların miktarları.

Numune	Numune Miktarı	Çözücü Miktarı	Balon Darası	Brüt Balon Ağırlığı	Yağ Miktarı
Çiçek ₁	5,1722 g	500 ml	59,3016 g	59,5070 g	0,2054 g
Çiçek ₂	4,9996 g	500 ml	73,8712 g	74,0116 g	0,1404 g
Kök ₁	5,1424 g	500 ml	54,9975 g	55,1116 g	0,1141 g
Kök ₂	5,0145 g	500 ml	73,6303 g	73,7230 g	0,0927 g
Kök ₃	5,0300 g	500 ml	57,2930 g	57,3588 g	0,0658 g
Kök ₄	5,4271 g	500 ml	62,0893 g	62,2384 g	0,1491 g
Yaprak ₁	5,0778 g	500 ml	35,9102 g	36,1397 g	0,2295 g
Yaprak ₂	5,0002 g	500 ml	40,9412 g	41,1624 g	0,2212 g
Yaprak ₃	5,0953 g	500 ml	40,1440 g	40,4262 g	0,2812 g

Farklı numunelerden elde edilen yağların verimlilik hesabı ise formül 3.1 ile hesaplanmıştır.

$$\% Yağ = \frac{\text{Elde Edilen Yağ Miktarı}}{\text{Tartılan Numune Miktarı}} \times 100 \quad (3.1)$$

Buna göre her bir numune için % verim aşağıda verilen oranlar şeklinde gerçekleşmiştir.

- Birinci çiçek numunesi için verim (Çiçek₁):

$$\% Yağ = \frac{0,2054 \text{ g}}{5,1722 \text{ g}} \times 100 = \%3,97$$

- İkinci çiçek numunesi için verim (Çiçek₂):

$$\% Yağ = \frac{0,1404 \text{ g}}{4,9996 \text{ g}} \times 100 = \%2,81$$

- Birinci kök numunesi için verim (Kök₁):

$$\% Yağ = \frac{0,1141 \text{ g}}{5,1424 \text{ g}} \times 100 = \%2,21$$

- İkinci kök numunesi için verim (Kök₂):

$$\% Yağ = \frac{0,0927 \text{ g}}{5,0145 \text{ g}} \times 100 = \%1,84$$

- Üçüncü kök numunesi için verim (Kök₃):

$$\% Yağ = \frac{0,0658 \text{ g}}{5,0300 \text{ g}} \times 100 = \%1,30$$

- Dördüncü kök numunesi için verim (Kök₄):

$$\% Yağ = \frac{0,1491 \text{ g}}{5,4271 \text{ g}} \times 100 = \%2,74$$

- Birinci yaprak numunesi için verim (Yaprak₁):

$$\% Yağ = \frac{0,2295 \text{ g}}{5,0778 \text{ g}} \times 100 = \%4,51$$

- İkinci yaprak numunesi için verim (Yaprak₂):

$$\% Yağ = \frac{0,2212 \text{ g}}{5,0002 \text{ g}} \times 100 = \%4,42$$

- Üçüncü yaprak numunesi için verim (Yaprak₃):

$$\% Yağ = \frac{0,2812 \text{ g}}{5,0953 \text{ g}} \times 100 = \%5,51$$

3.4 Uçucu Yağların Eldesi

Çuha çiçeği uçucu yağının eldesi için bir Clevenger düzeneği hazırlanmıştır. Mantolu ısıtıcının içine yerleştirilen 1000 ml'lik balon saf suyla doldurulduktan sonra 11,40 g kurutulmuş çuha çiçeği yaprak numunesi balon içerisindeki suyun üzerine ilave edilmiştir. Clevenger düzeneğinin geri soğutma sistemi de bağlandıktan sonra, uçucu yağ elde işlemi mantolu ısıtıcının 110 °C'ye getirilmesiyle başlamıştır. 2 saat boyunca işleme devam edilmiştir.

3.5 % Azot, % Kül ve % Toplam Yağ Tayini

% Azot Tayini: Kjeldahl yönteminin uzun, zahmetli ve asit ile çalışma yükümlülüğü getirmesi LECO-FP 528 gibi azot-protein cihazlarına olan ilgiyi artırmıştır. DUMAS yöntemi de denilen bu yöntem ile yaklaşık 3 dakika içerisinde doğruluğu ve tekrarlanabilirliği yüksek sonuçlar elde edilebilmektedir. Kök, çiçek ve yaprak numunelerinden % azot tayini amacıyla kök, yaprak ve çiçek numunelerinden 0,25'er gram tartılarak LECO FP-528 cihazına uygun bir şekilde yüklendi.

%Kül Tayini: Kül miktarı belirlenecek kök, çiçek ve yaprak numunelerinden, darası alınmış bir kroze içerisine 3 gram tartıldı. Numune içeren kroze, 550 °C kül fırınında 5 saat boyunca yakıldı. 5 saat sonunda kroze, kül fırınından alındı ve desikatörde yaklaşık 20 dakika boyunca soğutuldu. Soğuyan kroze tekrar tartıldı. Boş kroze darası da dikkate alınarak kül yüzdesi hesaplandı (3.2).

$$\% Kül = \frac{\text{Son Kroze Tartımı} - \text{Boş Kroze Darası}}{\text{Tartılan Numune Miktarı}} \times 100 \quad (3.2)$$

% Toplam Yağ Tayini: Kök, yaprak ve çiçek numunelerinin yağ oranlarının belirlenmesi için ANKOM XT15 marka cihaz kullanılmıştır. % yağ oranlarını belirlemek için kök, yaprak ve çiçek numunelerinden 1,5 gram tartıldı. Tartılan numuneler, filtre kağıtlarına yerleştirilerek ANKOM XT15 cihazının içine uygun bir biçimde yerleştirildi. Çözücü olarak petrol eteri ilave edilerek ekstraksiyon işlemine başlandı (90 °C, 40 dakika). İşlem sonunda süzgeç kağıtları çıkarılarak etüvde kurutuldu. Kuruyan süzgeç kağıtları desikatöre alınarak soğuması beklendi. Soğuyan süzgeç kağıtları tartılarak başlangıç ağırlığından çıkarılır ve % yağ miktarı hesaplandı (3.3).

$$\% \text{ Yağ} = \frac{\text{İlk Tartılan Filtre Kağıdı} - \text{Son Tartılan Filtre Kağıdı}}{\text{Tartılan Numune Miktarı}} \times 100 \quad (3.3)$$

3.6 GC-MS (Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi) Analizi

Türevlendirme: Gaz kromatografisi ile yağ asitlerinin tayin edilebilmesi için bileşenlerin uçucu forma dönüştürülmesi, yani metil ester türevlerine dönüştürülmesi gerekmektedir. Bu sebeple, analizi gerçekleştirilecek sabit yağ numuneleri, metilasyon reaksiyonu ile uçucu forma getirilmiştir. 0,1-0,3 ml yağ numunesi, 15 ml'lik cam kapaklı deney tüpüne alınmış, üzerine 10 ml n-hegzan ilave edilmiştir. Deney tüpü vorteks ile kuvvetlice karıştırılmıştır. Deney tüpü içerisine metanol içerisinde hazırlanmış 2M potasyum hidroksit çözeltisinden yaklaşık 0,5 ml ilave edilmiştir. Deney tüpü vorteks ile şiddetli bir şekilde karıştırılarak 2 faz oluşumu beklenmiştir. Tüpün içerisinde oluşan üst organik fazdan 0,5 ml alınarak 1,5 ml hegzan içeren 2 ml vial alınmıştır. Vorteks ile iyice karıştırılan vial GC-MS cihazına (THERMO, Triplus RSH Trace1310-ISQ LT) yüklenmiştir [121].

Analiz, "Thermo Trace 1310 GC ISQ Single quadrapol kütle spektroskopisi (Thermo Fisher Scientific, Austin, TX)" ile gerçekleştirilmiştir. Örneklem Parametreleri: Örnek hacmi (µL): 3,000, piston vuruşları: 2, hava ve dolum hacmi: otomatik. Enjeksiyon Öncesi yıkama parametreleri: Çözücü döngüleri: 3 ve çözücü hacmi (µL): 3,500. Örnek yıkama parametreleri: Durulama döngüleri: 3, Durulama hacmi (µL): 3,000, GC fırın sıcaklık programı: 80 °C'de 2 dakika bekletildikten sonra sıcaklık dakikada 4 °C artırılarak 240 °C'ye çıkarıldı. 240 °C'de 45 dakika beklenerek analiz sonlandırıldı. Akış hızı: Helyum 1,2 ml/dak. Kolon bilgisi: Thermo TG-WAXMS GC kolonu (60m x 0,25mm ID x 0,25µm). MS koşulları: İyon kaynağı ve dedektör sıcaklığı 250 °C, kütle tarama aralığı 55–550 (amu). Analizden elde edilen zirveleri belirlemek için Ulusal Standartlar ve Teknoloji Enstitüsü (NIST), Wiley 9, Redlip, Mainlip ve WinRI kütüphaneleri kullanıldı.

3.7 FTIR İle Yağların Karakterizasyonu

ATR yöntemi ile yağ numunelerinin FTIR spektrumları kaydedilmiştir. Çiçek yağ numunesi için elde edilen sonuçlar şunlardır:

- 1-3314 cm^{-1} -OH gerilmesi, Karboksilli asit gerilmesi,
- 2-3070 cm^{-1} Alken ($\text{C}(\text{sp}^2)\text{-H}$) gerilmesi,
- 3-3956 cm^{-1} - CH_3 asimetric gerilmesi,
- 4-3921 cm^{-1} - CH_2 asimetric gerilmesi,
- 5-3851 cm^{-1} - CH_3 asimetric gerilmesi ve CH_2 simetric gerilmesi,
- 6-1739 cm^{-1} Karbonil ($\text{C}=\text{O}$) gerilmesi,
- 7-1651 cm^{-1} Alken ($\text{C}=\text{C}$) gerilmesi,
- 8-1464 cm^{-1} CH_3 asimetric eğilmesi,
- 9-1377 cm^{-1} CH_3 eğilmesi (Şemsiye),
- 10-1227 cm^{-1} COOH gerilmesi/eğilmesi (O-C-C asimetric gerilmesi ve OH eğilmesi kombinasyonu),
- 11-1096 cm^{-1} C-O gerilmesi,
- 12-719 cm^{-1} - $(\text{CH}_2)_4$ - grupları sallanma hareketi.

Yaprak yağ numunesi için elde edilen sonuçlar şunlardır:

- 1-3376 cm^{-1} -OH gerilmesi, Karboksilli asit gerilmesi,
- 2-3010 cm^{-1} Alken ($\text{C}(\text{sp}^2)\text{-H}$) gerilmesi,
- 3-3955 cm^{-1} - CH_3 asimetric gerilmesi,
- 4-3920 cm^{-1} - CH_2 asimetric gerilmesi,
- 5-3850 cm^{-1} - CH_3 asimetric gerilmesi ve CH_2 simetric gerilmesi,
- 6-1739 cm^{-1} Karbonil ($\text{C}=\text{O}$) gerilmesi,
- 7-1645 cm^{-1} Alken ($\text{C}=\text{C}$) gerilmesi,
- 8-1465 cm^{-1} CH_3 asimetric eğilmesi,
- 9-1371 cm^{-1} CH_3 eğilmesi (Şemsiye),
- 10-1252 cm^{-1} COOH gerilmesi/eğilmesi (O-C-C asimetric gerilmesi ve OH eğilmesi kombinasyonu),
- 11-1058 cm^{-1} C-O gerilmesi,
- 12-720 cm^{-1} - $(\text{CH}_2)_4$ - grupları sallanma hareketi.

Kök yağ numunesi için elde edilen sonuçlar şunlardır:

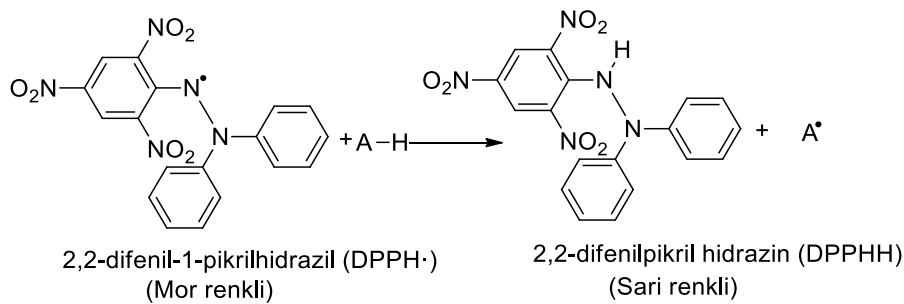
- 1-3072 cm^{-1} Alken ($\text{C}(\text{sp}^2)\text{-H}$) gerilmesi,
- 2-3957 cm^{-1} - CH_3 asimetric gerilmesi,

- 3-3923 cm^{-1} –CH₂ asimetrik gerilmesi,
- 4-3855 cm^{-1} -CH₃ asimetrik gerilmesi ve CH₂ simetrik gerilmesi,
- 5-1727 cm^{-1} Karbonil (C=O) gerilmesi,
- 6-1680 cm^{-1} Alken (C=C) gerilmesi,
- 7-1462 cm^{-1} CH₃ asimetrik eğilmesi,
- 8-1379 cm^{-1} CH₃ eğilmesi (Şemsiye),
- 9-1270 cm^{-1} O-C(O)-C gerilmesi,
- 10-1071 cm^{-1} C-O gerilmesi,
- 11-741 cm^{-1} -(CH₂)₄- grupları sallanma hareketi.

3.8 Toplam Antioksidan Tayini

3.8.1 Toplam Antioksidan Aktivitesi (DPPH)

DPPH aktivitesi Villana ve arkadaşlarının yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Her bir numunenin 1 mg/ml dimetil sülfoksit içerisinde çözeltileri hazırlanmıştır. Bu çözeltiler seyreltilerek farklı konsantrasyonlardaki aktiviteleri çalışılmıştır. Numune çözeltisinden 50 μl ve 0,01 mM DPPH'den 250 μl (metanol içinde çözünmüş) karıştırıldı. 30 dakika boyunca karanlıkta inkübe edildi. Karışım bir mikropipet yardımıyla 96'lık plate içerisine alındı. Ayrıca numune içermeyen kör numune hazırlandı. Referans amaçlı da troloks ve askorbik asit de benzer işlemlerden geçirilerek plate içerisine alındı. Karışımların absorbansı bir Multiscan Go Elisa okuyucu spektrofotometre ile 517 nm'de ölçüldü. Standart çözeltiler için 0,2; 0,5; 1; 2; 4 μg askorbik asit ve troloks içeren çözeltiler hazırlandı. Aşağıda DPPH• radikalinin indirgenmesi ile serbest radikal gideriminin reaksiyon şeması verilmiştir.



Şekil 3.9: DPPH• radikalinin indirgenmesi ile serbest radikal giderimi.

3.8.2 Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Yöntemi

Deney tüpüne bakır (II) klorür çözeltisi (2×10^{-2} M), Neocuproine (Nc) çözeltisi ($1,5 \times 10^{-2}$ M) ve amonyum asetat tampon çözeltisi (pH=7) aktarıldı. Yağ numunesi (40 μl)

eklenerek son hacim 500 µl olacak kadar saf su eklendi. Tüpler kapatılarak 1 saat bekletildi. Kuartz küvetler kullanılarak, 450 nm'de absorbansı spektroskopik olarak ölçüldü. Her antioksidan bileşiğinin standart kalibrasyon eğrisi, 0,3; 0,6; 1; 1,4; 1,8; 2,4; 3; 6 µg/µl askorbik asit ve troloks standart maddeleri ile absorbans-konsantrasyon şeklinde oluşturuldu. Her bir analiz iki tekrarlı olarak gerçekleştirildi [122].

3.8.3 Toplam Flavonoid Miktarı

Her bir yağ numunesinde toplam flavonoid miktarları Gülçin ve çalışma arkadaşları tarafından önerilen yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır [123]. Sabit yağ çözeltileri (1 mg/ml'lik çözeltiden 25 µl), %10 alüminyum klorür ve %5'lik sulu sodyum nitrit ve 1 N sodyum hidroksit içeren çözelti karışımı reaksiyon ortamında hazırlandı. Oda sıcaklığında 40 dakika inkübasyonun ardından absorbans, 415 nm'de spektrofotometrik olarak belirlendi. Toplam flavonoid konsantrasyonu, standart olarak kuersetin kullanılarak hesaplandı. Yağ numunelerindeki toplam flavonoid içerikleri, kuersetin kullanılarak hazırlanan ve kuersetin eşdeğerlerinin mikrogramları olarak ifade edilen standart eğriden hesaplandı. Hazırlanan kuersetin standart çözeltileri, 1; 2,5; 5; 10; 20; 40; 60; 80 µg kuersetin içermektedir.

3.8.4 Toplam Fenolik Bileşik Analizi

Fenolik bileşik içeriği için Folin-Ciocalteu yöntemi modifiye edilerek kullanıldı [124]. Toplam fenolik içerik deneyleri için reaksiyon ortamına, 10 µl numune (0,5 mg/ml) eklendi. Sırasıyla 133,3'er µl FCR (0,5 N) reaktifi ve Na₂CO₃ (%10) ilave edildi ve son hacim 500 µl'ye saf su ile tamamlandı. Daha sonra karanlıkta oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyona bırakıldı. 760 nm'deki absorbans spektroskopik olarak kaydedildi. Kör çözelti için 133,3 µl FCR +133,3 µl %10 Na₂CO₃ eklendi ve son hacim 500 µl'ye saf su ile tamamlandı. Standart çözeltiler için 0,1; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 6; 8 µg gallik asit içeren çözeltiler hazırlandı. Tüm örnekler 2 tekrarlı analiz edildi.

3.9 DNA Koruma Aktivitesi Tayini

DNA koruma aktivitesi, Akkemik ve arkadaşları tarafından kullanılan yöntemle gerçekleştirilmiştir. pBR322 plazmid DNA'sı, Fenton çözeltisinin zararlı etkilerini ve çuha çiçeği sabit yağları (kök, yaprak ve çiçek) DNA konformasyonu üzerindeki koruyucu etkisini tespit edilmesi amacıyla kullanılmıştır. Her bir bileşiğin 1 mg ml⁻¹'lik dimetilsülfoksit çözeltileri hazırlandı. Her bir bileşik için iki farklı konsantrasyon (1 mg ml⁻¹ ve 0,5 mg ml⁻¹) uygulanarak deney tasarımı için negatif (sadece plazmid DNA) ve

pozitif kontrol (Fenton + plazmid DNA) grupları oluşturuldu. Karşılaştırılan sonuçlara ek olarak, biyolojik aktiviteleri bilinen, kuersetin bileşiği ticari olarak satın alındı ve 1 mg ml^{-1} konsantrasyonda kullanıldı. Buna göre inkübe edilecek reaksiyon karışımları $3 \text{ } \mu\text{l}$ pBR322 plazmid DNA, $5 \text{ } \mu\text{l}$ Fenton solüsyonu ($30 \text{ mM H}_2\text{O}_2$, 50 mM askorbik asit ve 80 mM FeCl_3) ve farklı konsantrasyonlardan $5 \text{ } \mu\text{l}$ (1000 mg/L ve 10 mg/L) sentezlenen bileşik çözeltisi alınarak son hacim distile su ile $20 \text{ } \mu\text{l}$ 'ye tamamlandı. Daha sonra bu karışım $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 30 dakika inkübe edildi. İnkübasyonun ardından reaksiyon karışımına $5 \text{ } \mu\text{l}$ $6x$ yükleme boyası ilave edildi. Karışımın $10 \text{ } \mu\text{l}$ 'si alındı ve EtBr (Etidium Bromür) ile lekelenmiş %0,8 agaroz jeline yüklendi. Agaroz jeli 100 voltta 60 dakika çalıştırıldı. Daha sonra jel görüntüleme cihazı ile jel görüntüsü alındı [120].

4. BULGULAR

4.1 Çuha Çiçeği Materyalinden Elde Edilen Sabit Yağlar

Tablo 4.1: Yüzde Yağ verimi.

Numune	Numune Miktarı	Yağ Miktarı	% Yağ Miktarı
Çiçek ₁	5,1722 g	0,2054 g	3,97
Çiçek ₂	4,9996 g	0,1404 g	2,81
Kök ₁	5,1424 g	0,1141 g	2,21
Kök ₂	5,0145 g	0,0927 g	1,84
Kök ₃	5,0300 g	0,0658 g	1,30
Kök ₄	5,4271 g	0,1491 g	2,74
Yaprak ₁	5,0778 g	0,2295 g	4,51
Yaprak ₂	5,0002 g	0,2212 g	4,42
Yaprak ₃	5,0953 g	0,2812 g	5,51

4.2 % Azot, % Kül ve % Toplam Yağ Tayini

LECO FP-528 cihazından kök numunesi için %1,40, yaprak numunesi için %3,64 ve çiçek numunesi için %1,97 azot oranı belirlenmiştir (Tablo 4.2).

Tablo 4.2: Yüzde azot oranları.

Numune (g)	% Azot Oranı
0,25 g Kök Numunesi	%1,40
0,25 g Yaprak Numunesi	%3,64
0,25 g Çiçek Numunesi	%1,97

Yüzde kül miktarı tayini deneyi sonucunda kök numunesi için %8,44, yaprak numunesi için %7,98 ve çiçek numunesi için %8,91 kül oranı belirlenmiştir (Tablo 4.3).

Tablo 4.3: Yüzde kül miktarı oranları.

Numune (g)	% Kül Miktarı
3 g Kök Numunesi	%8,44
3 g Yaprak Numunesi	%7,98
3 g Çiçek Numunesi	%8,91

ANKOM XT15 cihazından elde edilen verilere göre kök numunesi için %0,66, yaprak numunesi için %2,87 ve çiçek numunesi için %1,84 yağ oranı belirlenmiştir.

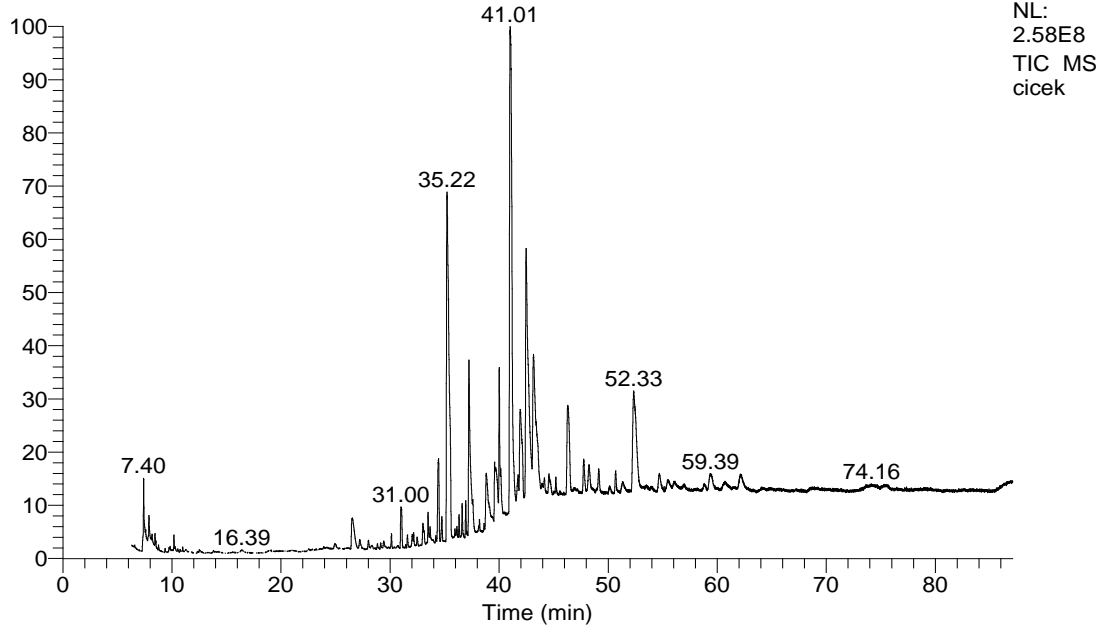
Tablo 4.4: Yüzde yağ oranları.

Numune (g)	% Yağ Oranı
1,5 g Kök Numunesi	%0,66
1,5 g Yaprak Numunesi	%2,87
1,5 g Çiçek Numunesi	%1,84

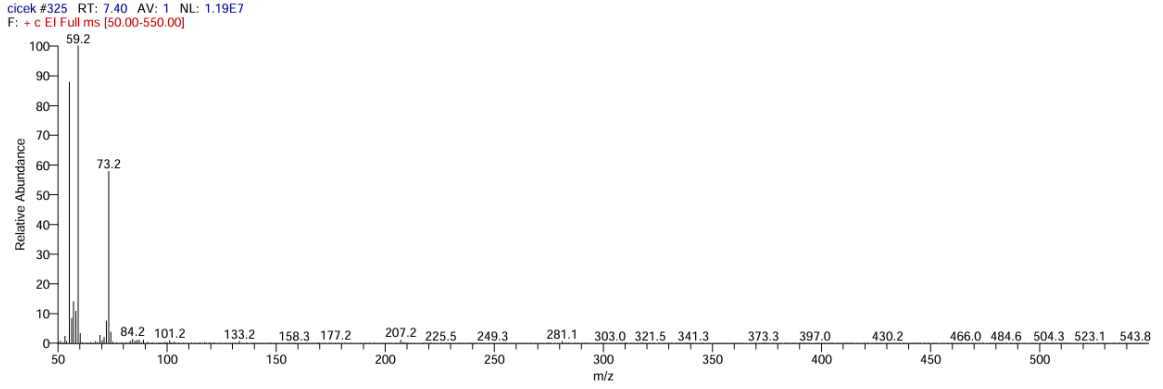
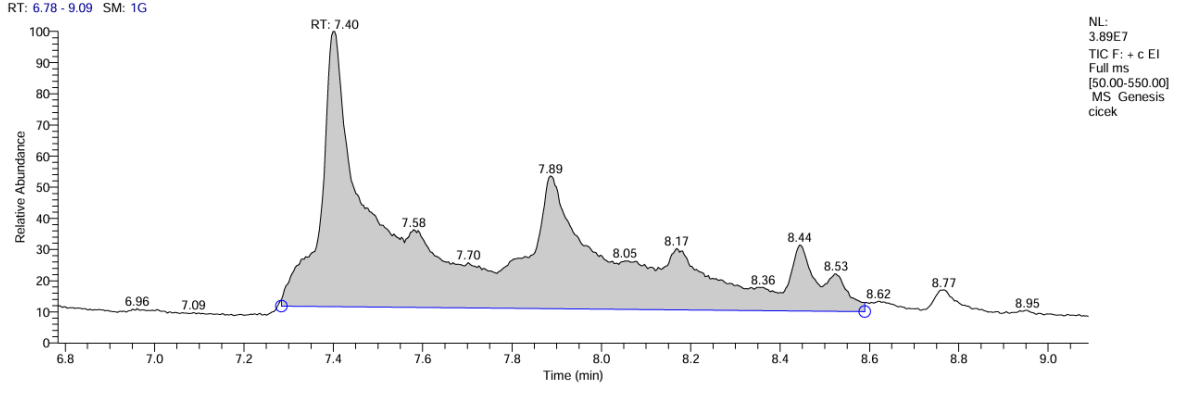
4.3 GC-MS Analizi

4.3.1 *Primula vulgaris* Çiçek Numunesi Hegzan Ekstraktı GC-MS Kromatogramları

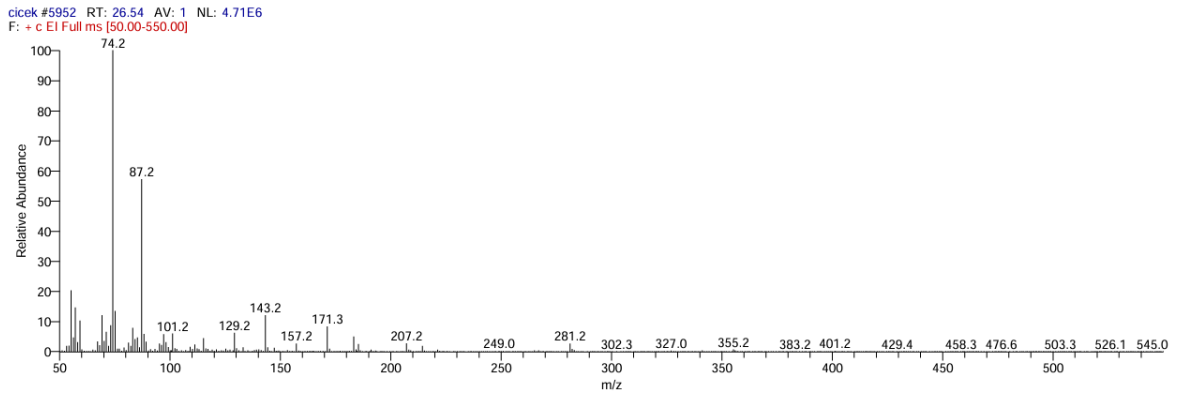
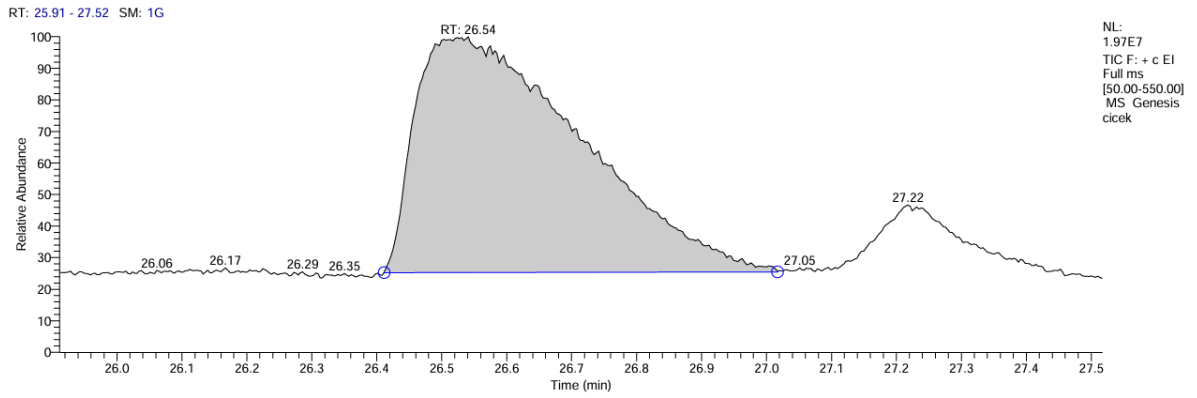
RT: 0.00 - 87.09



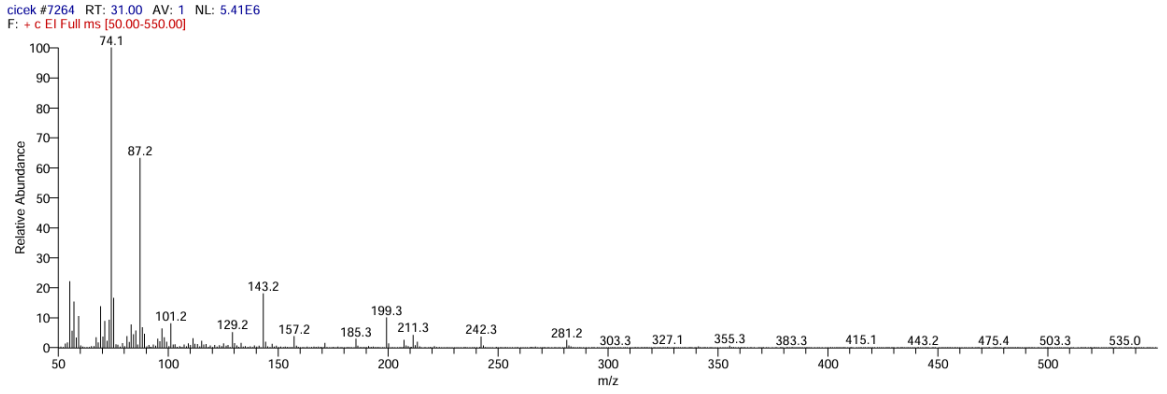
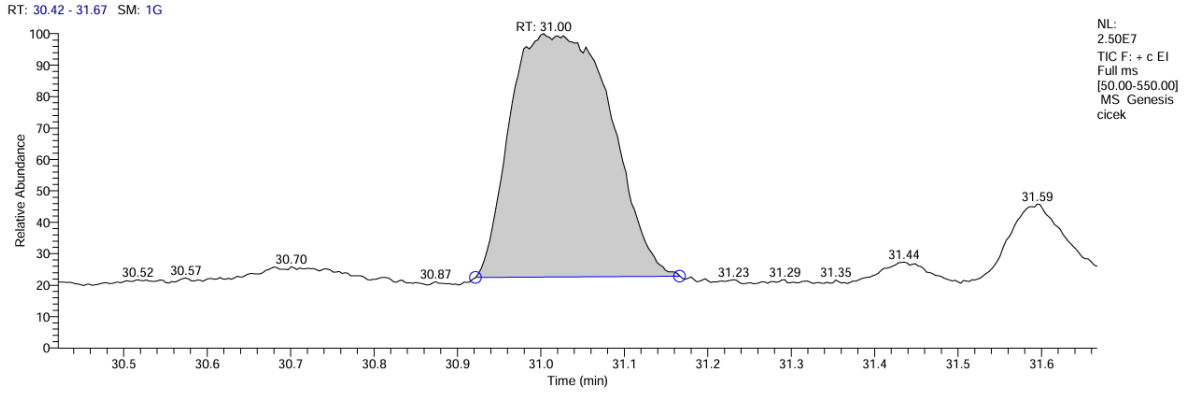
Şekil 4.1: *Primula vulgaris* çiçek numunesi hegzan ekstraktı GC-MS kromatogramı.



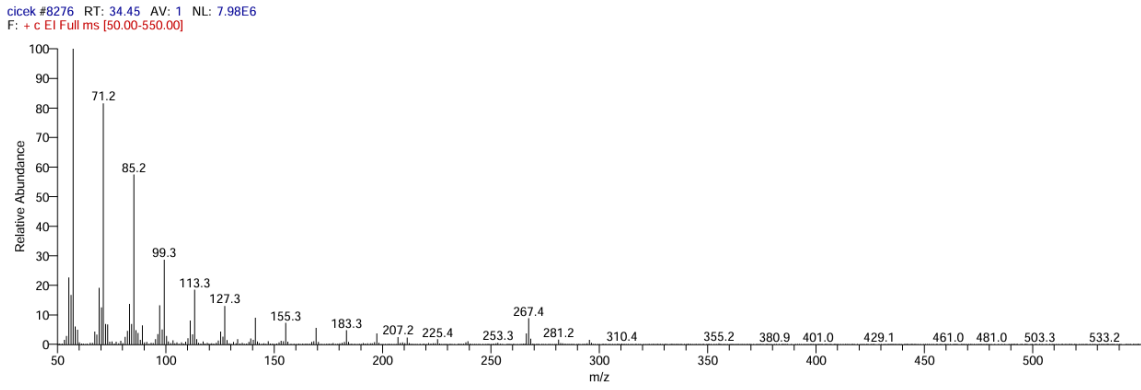
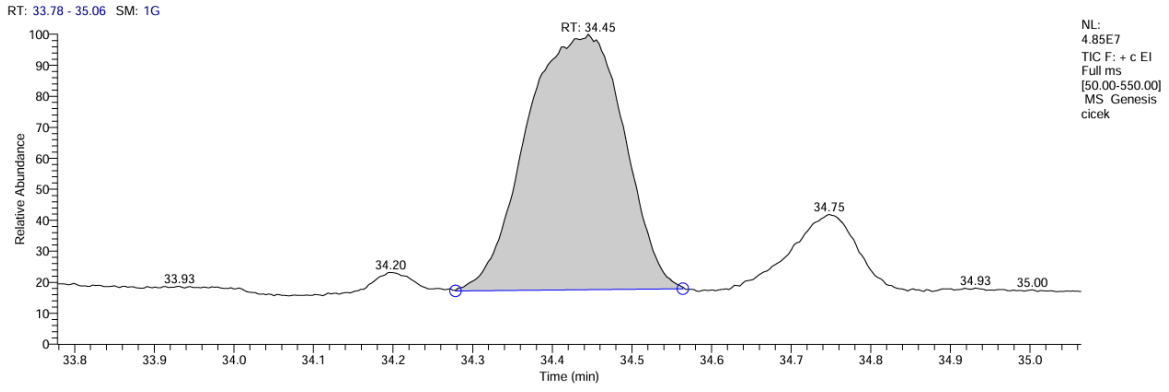
Şekil 4.2: *Primula vulgaris* çiçek numunesi hegzan ekstraktı 3-Hegzanol bileşeni GC-MS kromatogramı.



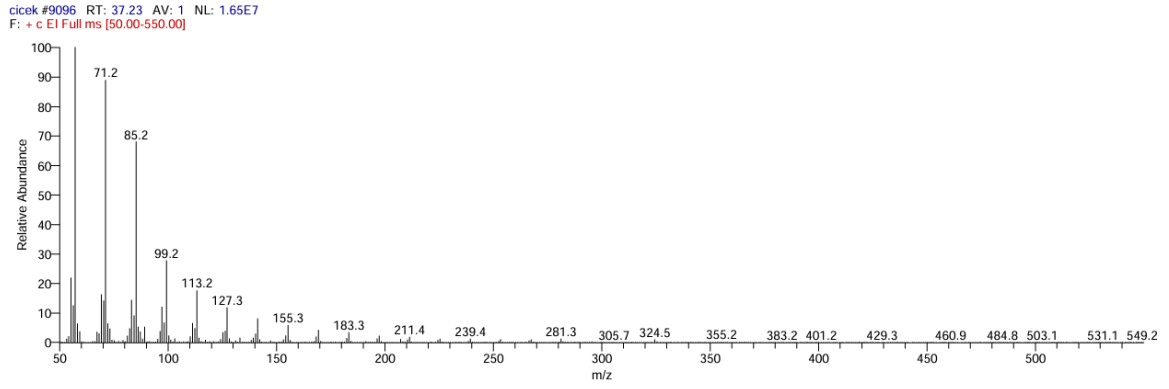
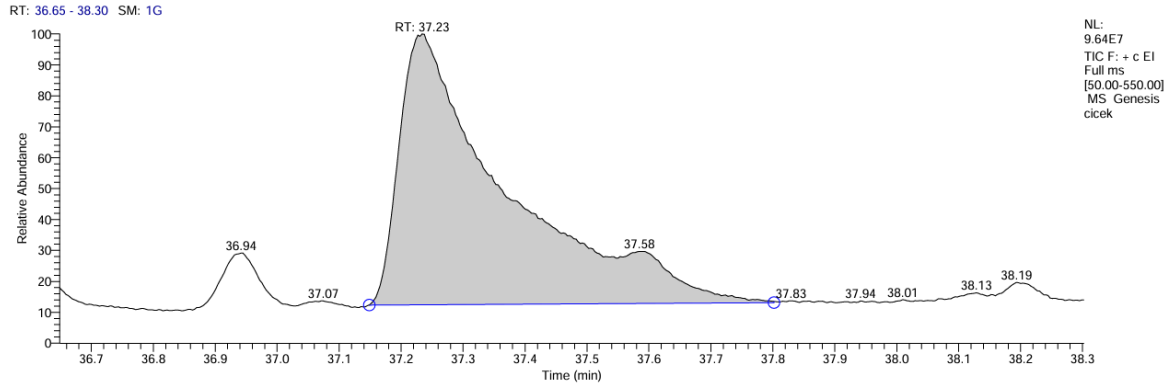
Şekil 4.3: *Primula vulgaris* çiçek numunesi hegzan ekstraktı dodekanoik asit metil esterı bileşeni GC-MS kromatogramı.



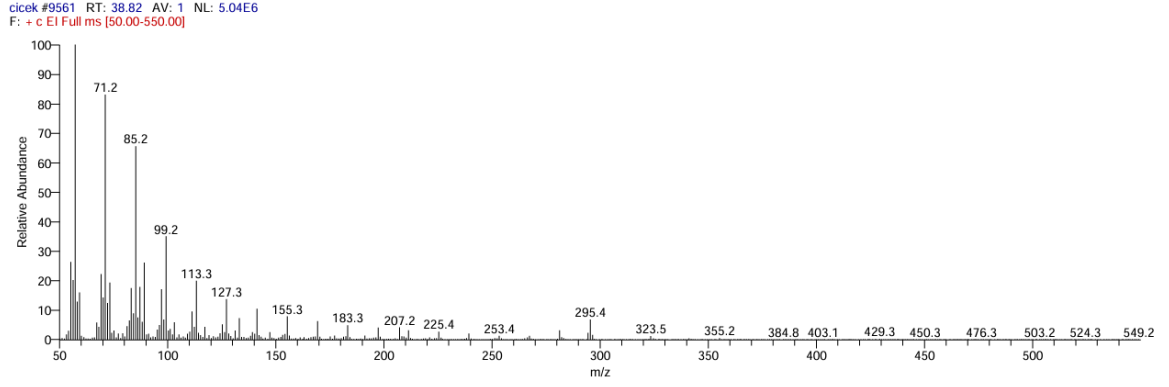
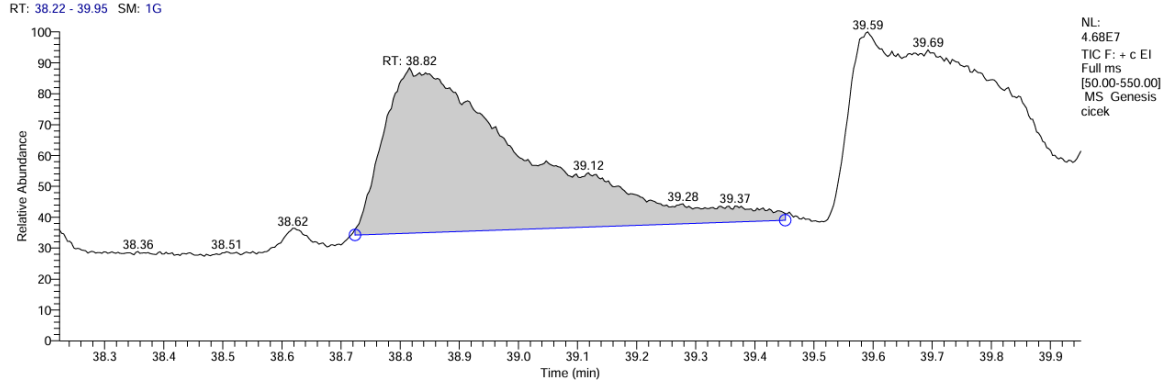
Şekil 4.4: *Primula vulgaris* çiçek numunesi hegzan ekstraktı tetradekanoik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.



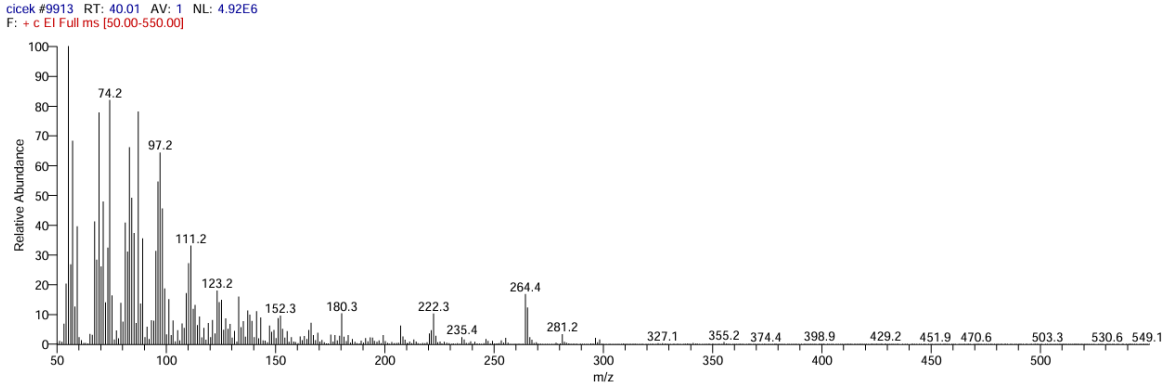
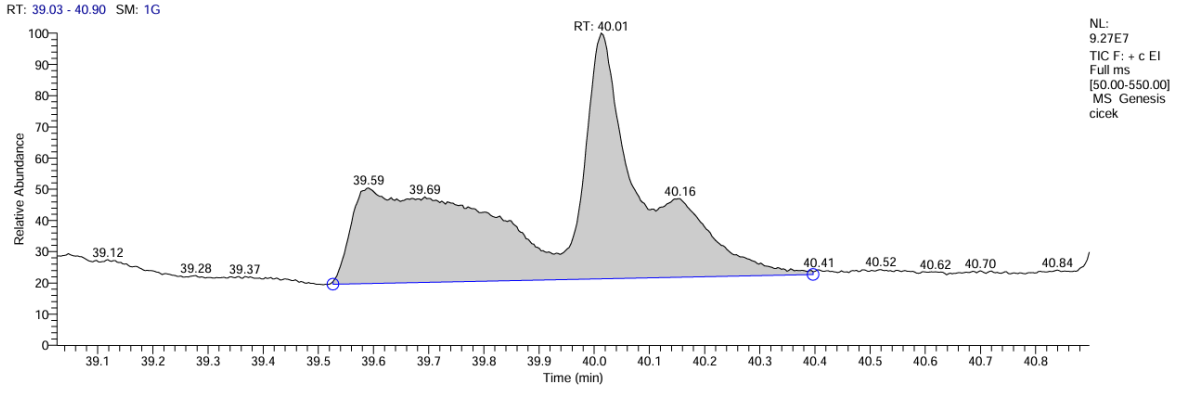
Şekil 4.5: *Primula vulgaris* çiçek numunesi hegzan ekstraktı dokosan ya da 3-metileikosan bileşeni GC-MS kromatogramı.



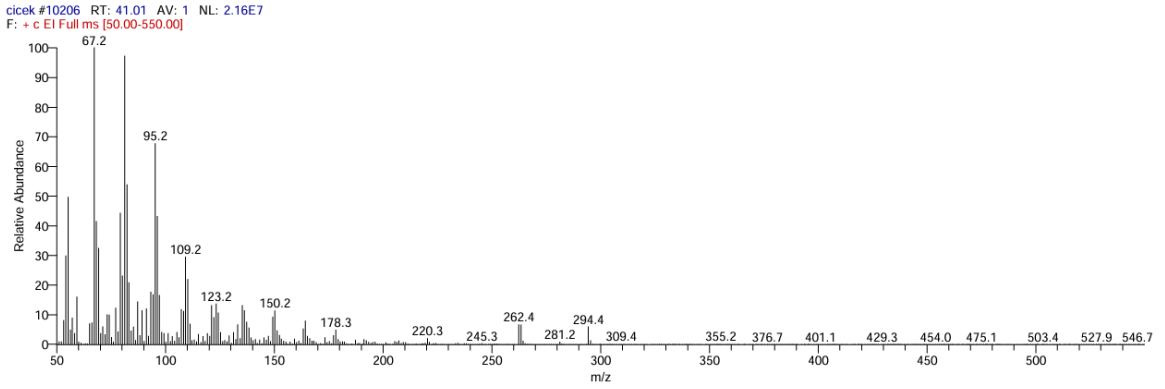
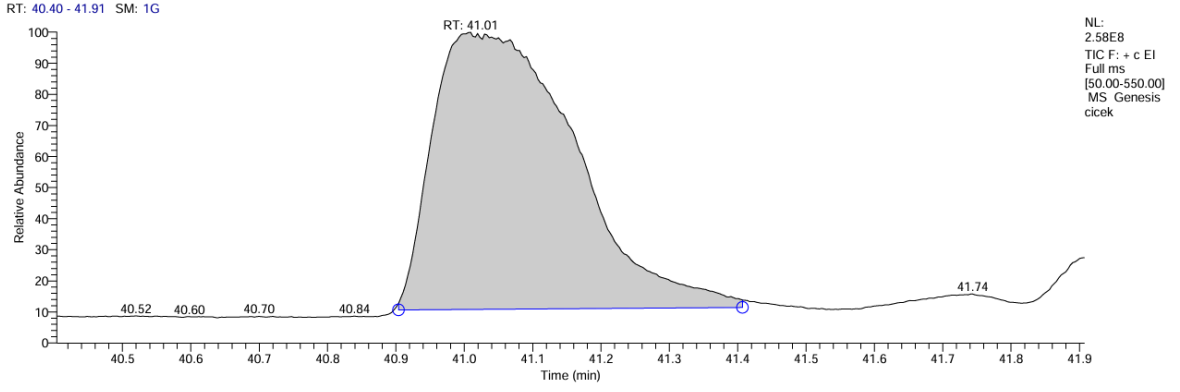
Şekil 4.6: *Primula vulgaris* çiçek numunesi hegzan ekstraktı trikosan bileşeni GC-MS kromatogramı.



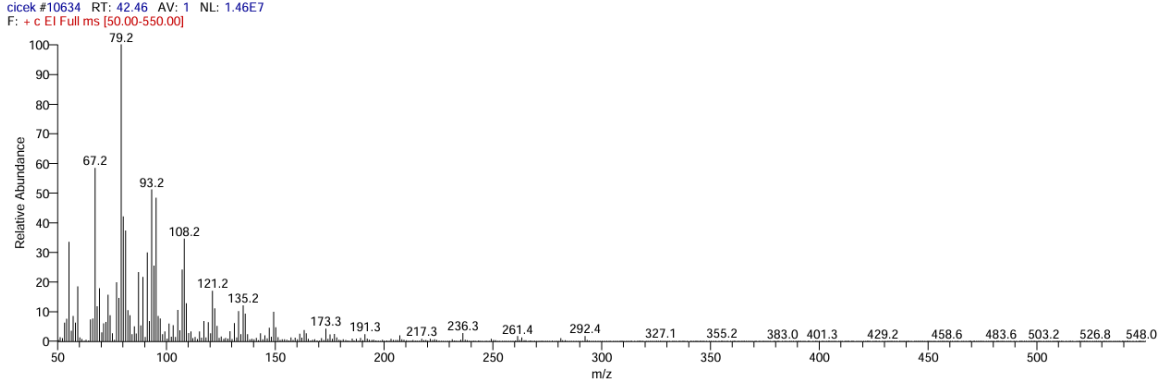
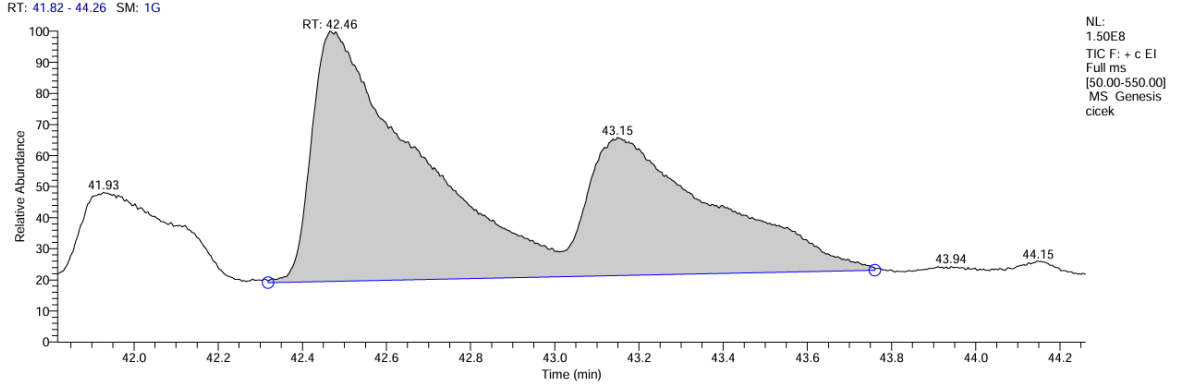
Şekil 4.7: *Primula vulgaris* çiçek numunesi hegzan ekstraktı tetrakosan bileşeni GC-MS kromatogramı.



Şekil 4.8: *Primula vulgaris* çiçek numunesi hegzan ekstraktı 10-oktadekanoik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.



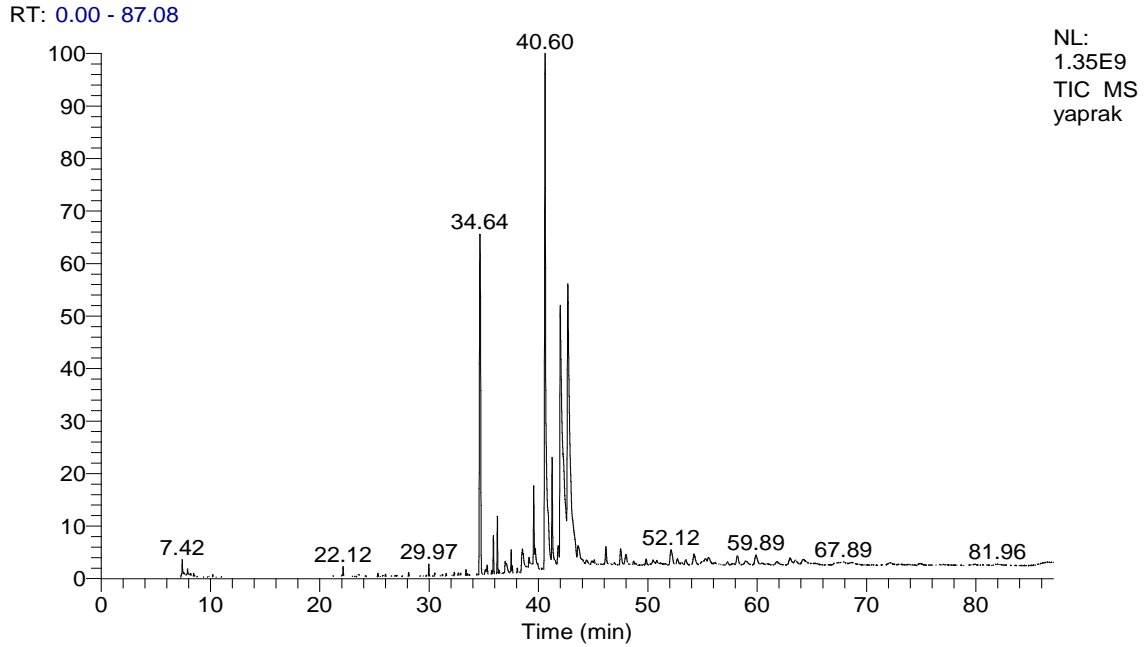
Şekil 4.9: *Primula vulgaris* çiçek numunesi hegzan ekstraktı oleik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.



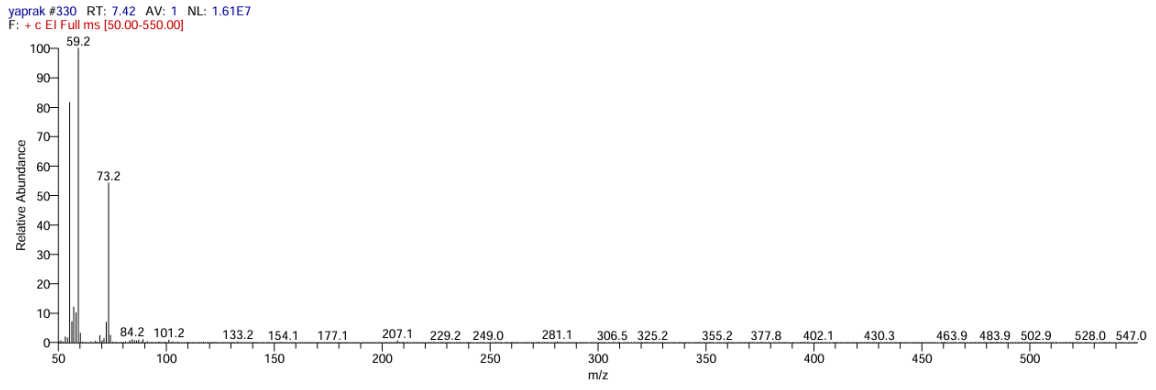
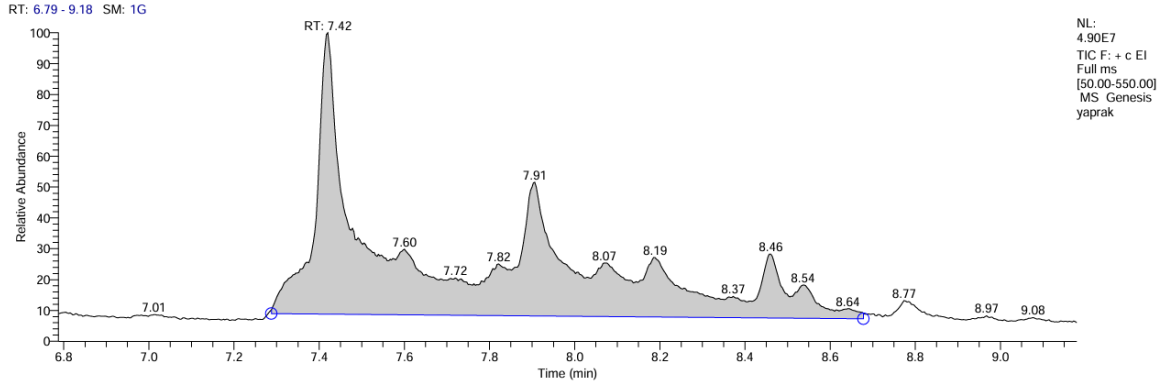
Şekil 4.10: *Primula vulgaris* çiçek numunesi hegzan ekstraktı γ -Linolenik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.

4.3.2 *Primula vulgaris* Yaprak Numunesi Hegzan Ekstraktı GC-MS

Kromatogramları

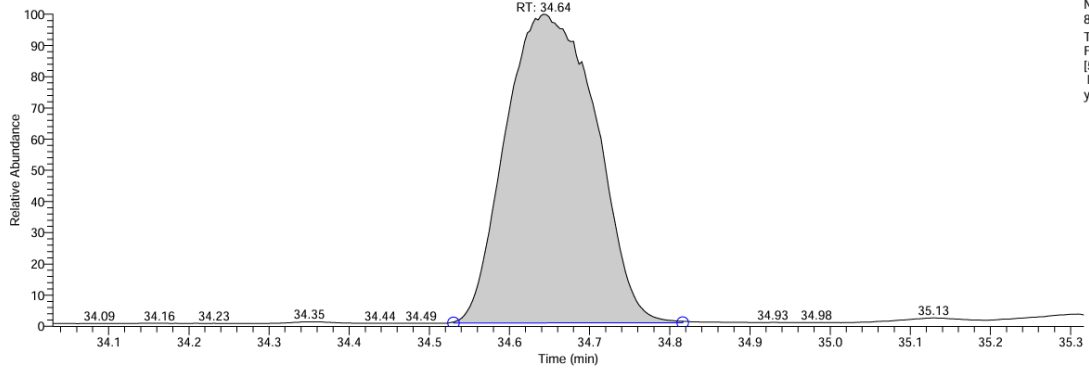


Şekil 4.11: *Primula vulgaris* yaprak numunesi hegzan ekstraktı GC-MS kromatogramı.



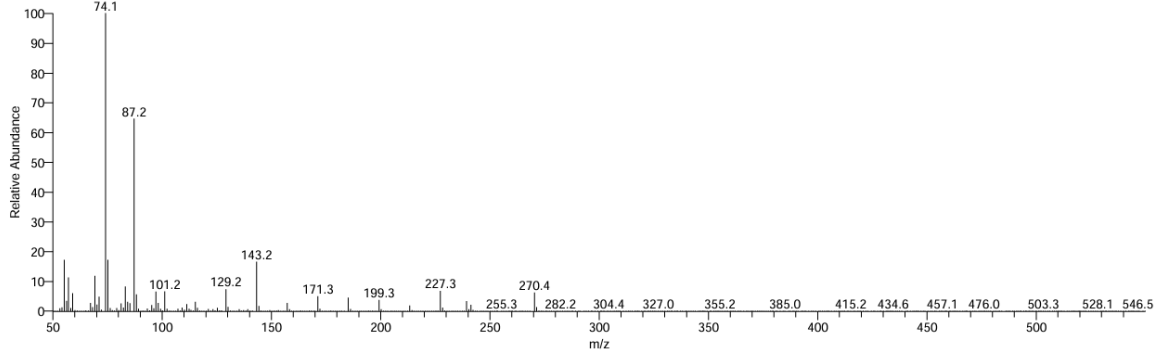
Şekil 4.12: *Primula vulgaris* yaprak numunesi hegzan ekstraktı 3-hegzanol bileşeni GC-MS kromatogramı.

RT: 34.03 - 35.32 SM: 1G

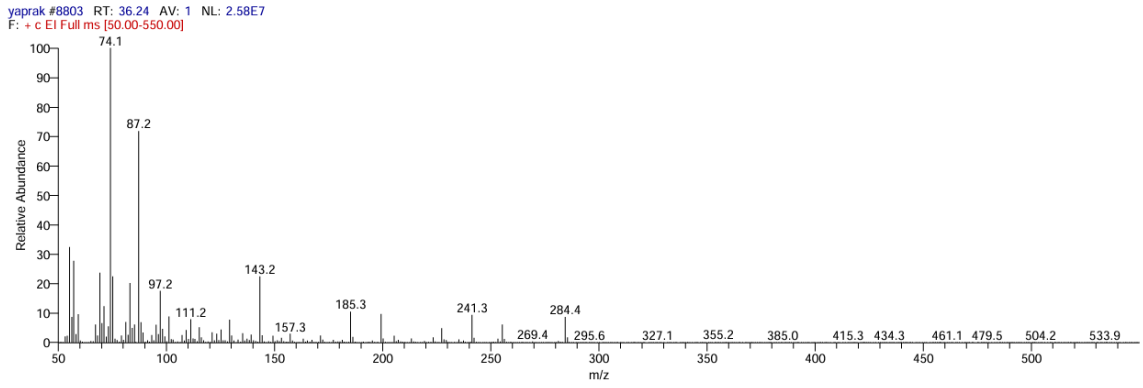
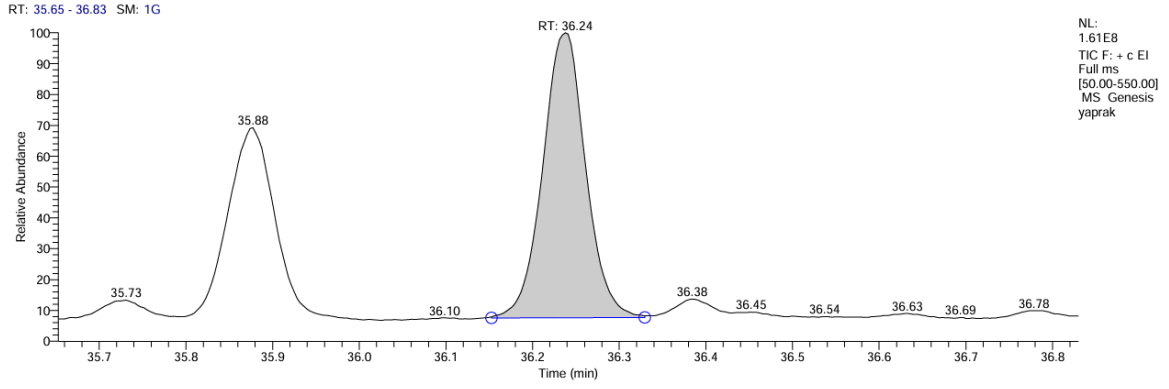


NL:
8.89E8
TIC F: + c EI
Full ms
[50.00-550.00]
MS: Genesis
yaprak

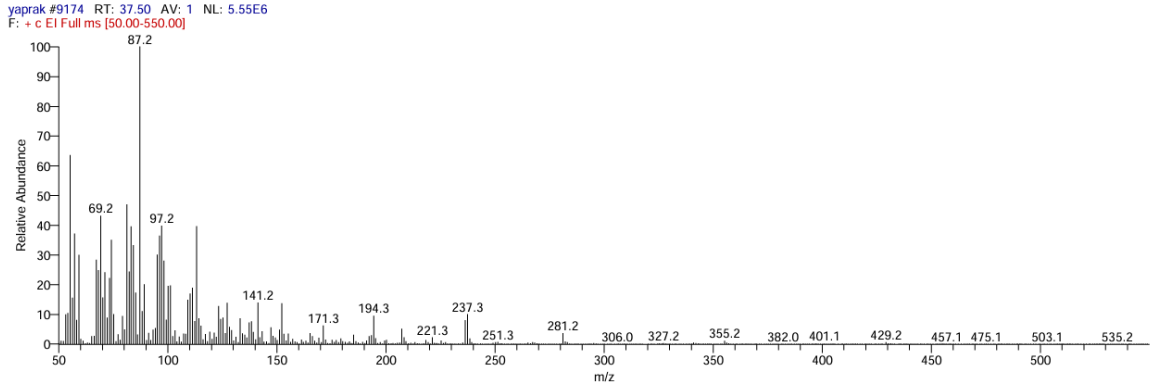
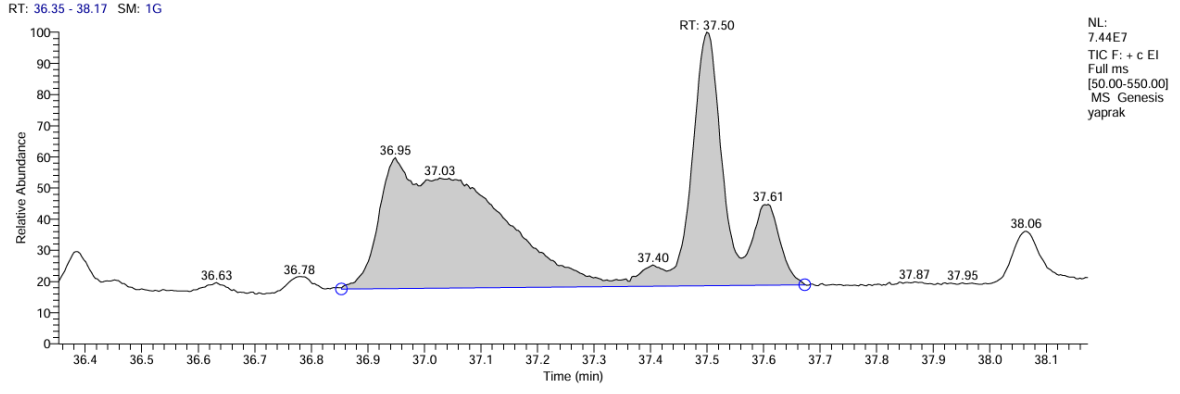
yaprak #8334 RT: 34.64 AV: 1 NL: 2.32E8
F: + c EI Full ms [50.00-550.00]



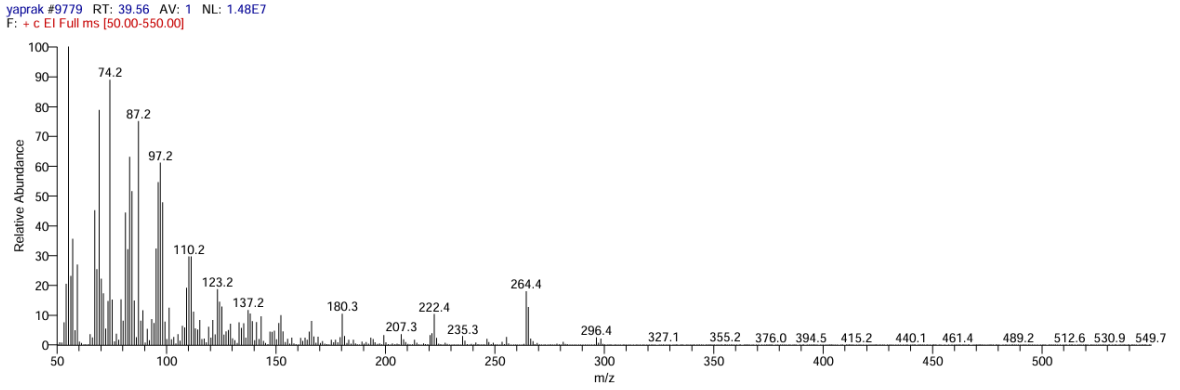
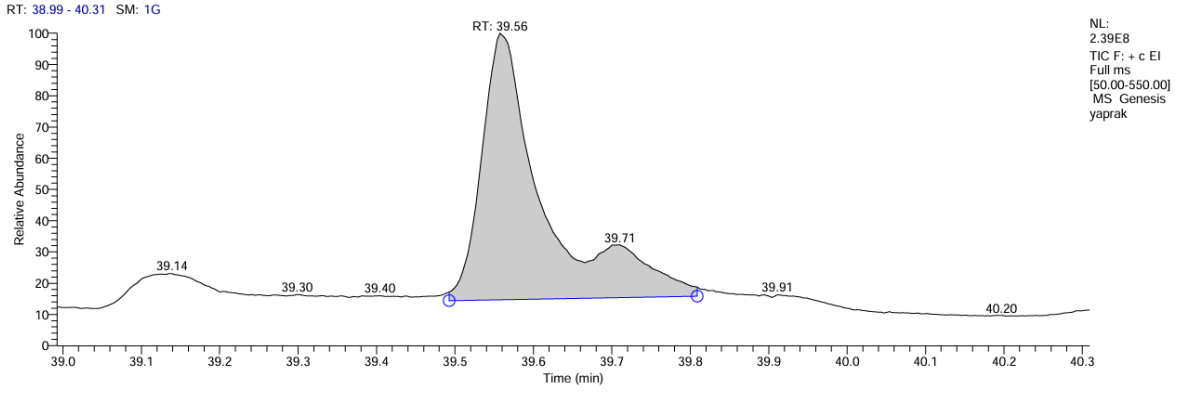
Şekil 4.13: *Primula vulgaris* yaprak numunesi hegzan ekstraktı palmitik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.



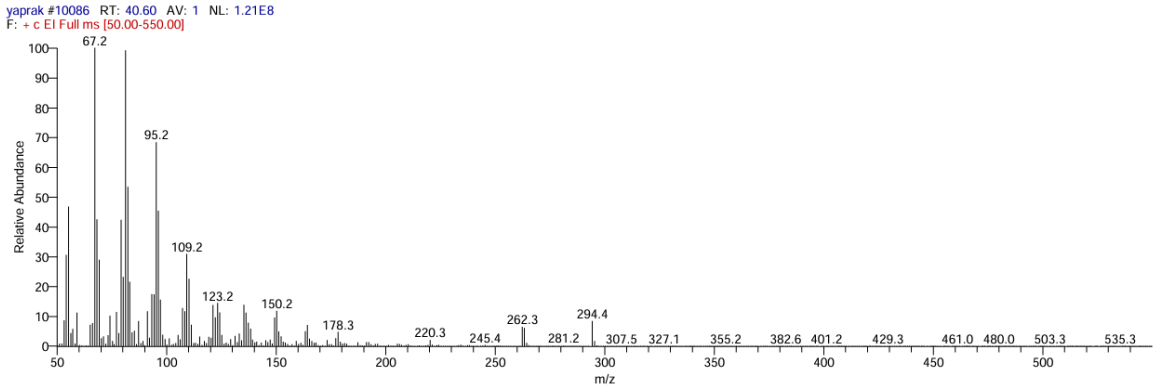
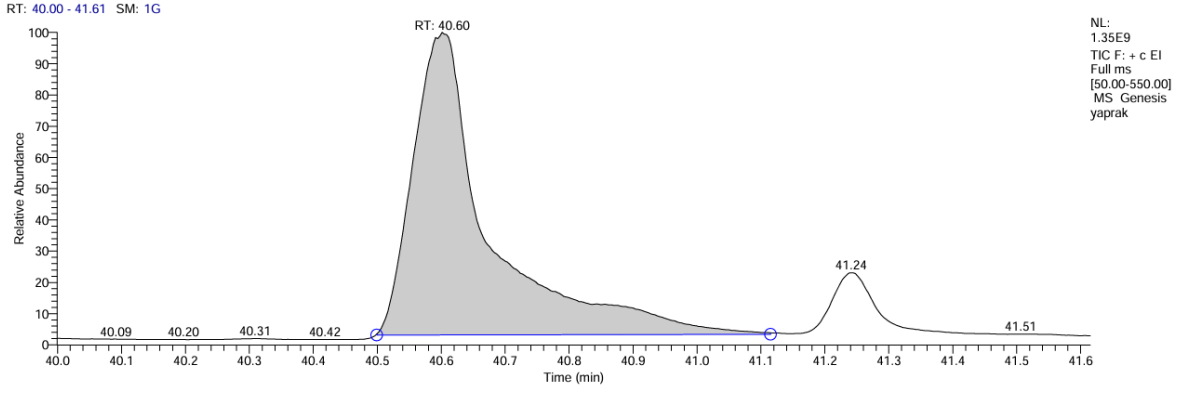
Şekil 4.14: *Primula vulgaris* yaprak numunesi hegzan ekstraktı palmitoleik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.



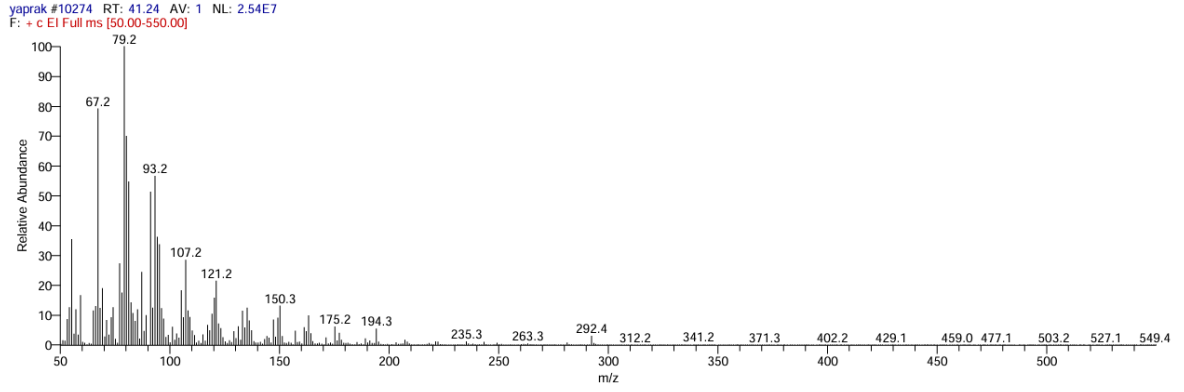
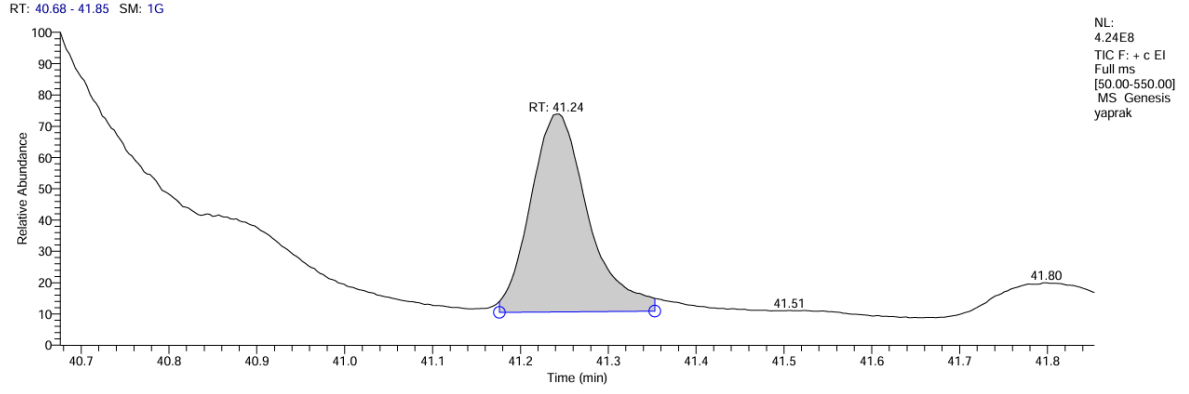
Şekil 4.15: *Primula vulgaris* yaprak numunesi hegzan ekstraktı 2-hegzadekenoik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.



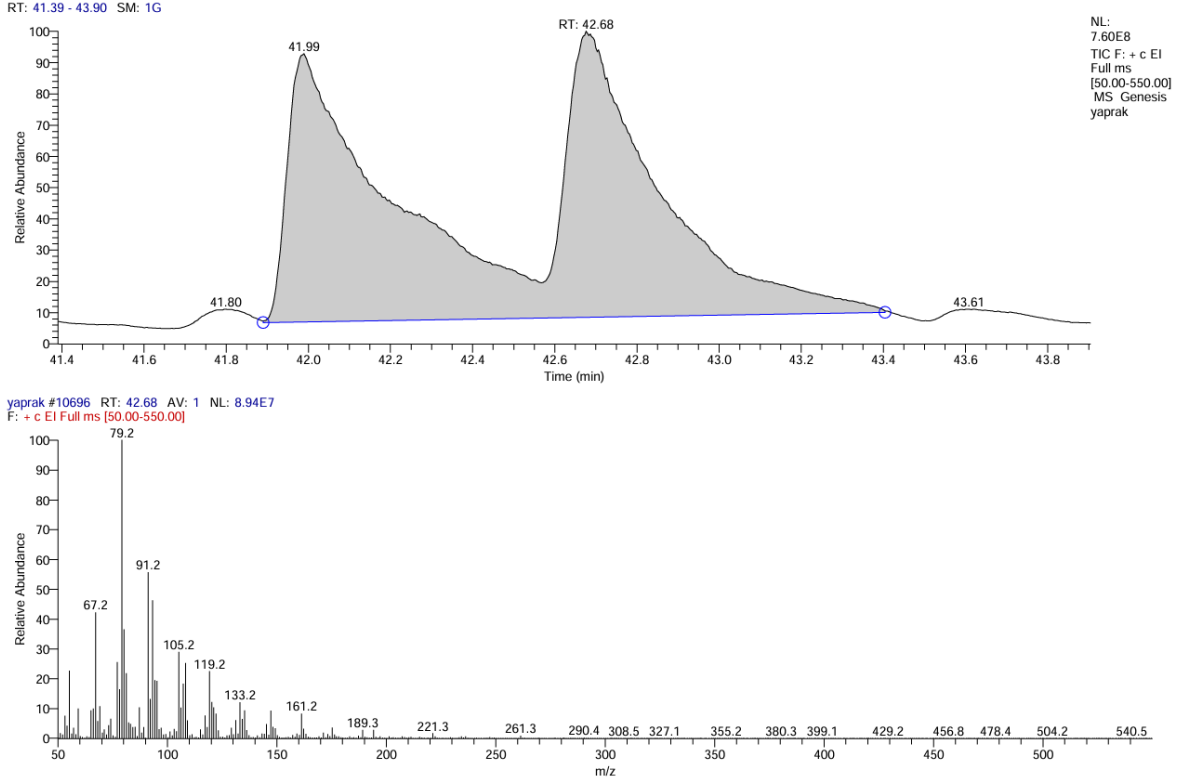
Şekil 4.16: *Primula vulgaris* yaprak numunesi hegzan ekstraktı Cis-10-heptadenoik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.



Şekil 4.17: *Primula vulgaris* yaprak numunesi hegzan ekstraktı oleik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.

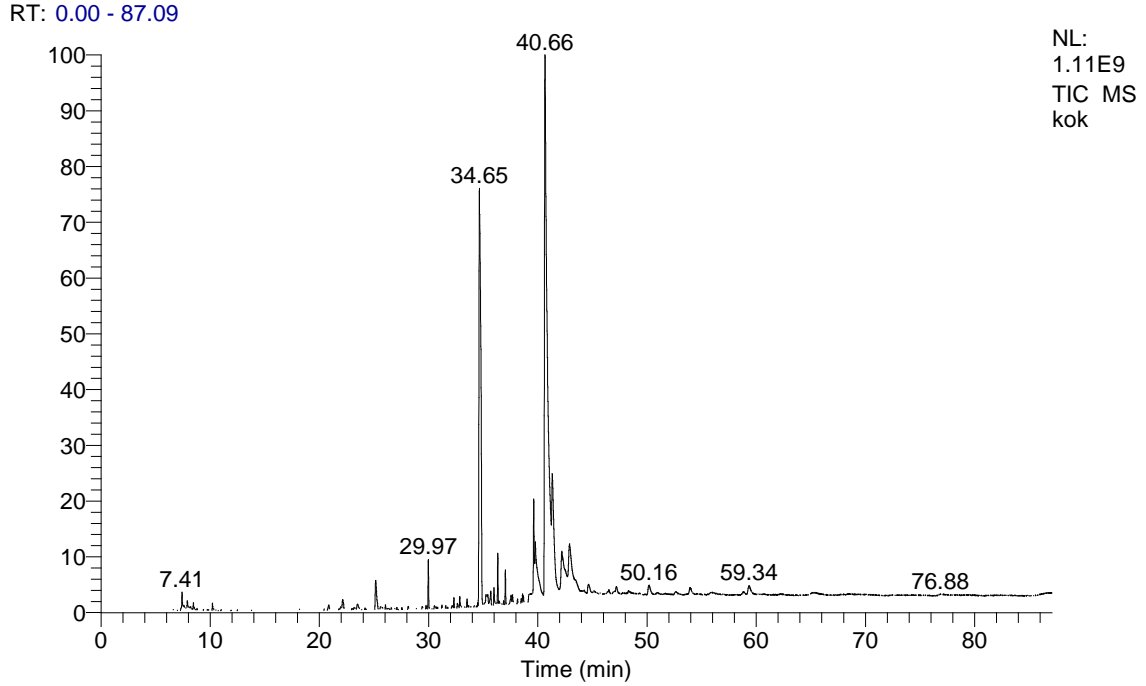


Şekil 4.18: *Primula vulgaris* yaprak numunesi hegzan ekstraktı linoleik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.



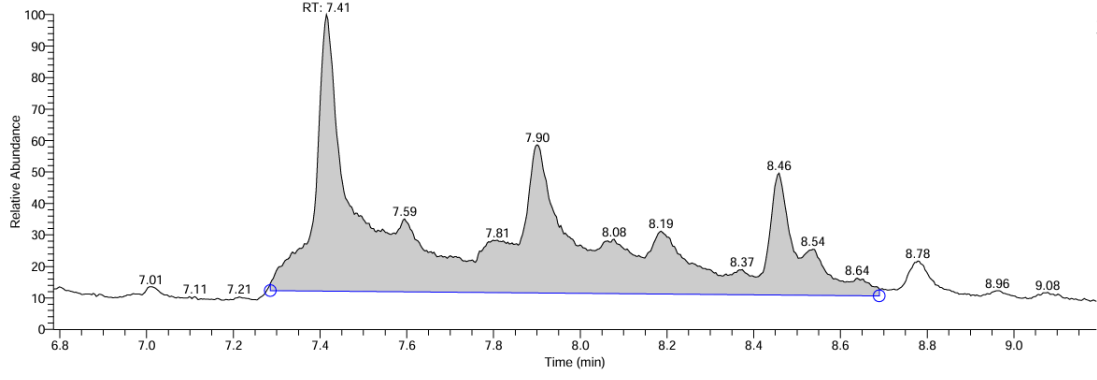
Şekil 4.19: *Primula vulgaris* yaprak numunesi hegzan ekstraktı stearik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.

4.3.3 *Primula vulgaris* Kök Numunesi Hegzan Ekstraktı GC-MS Kromatogramları



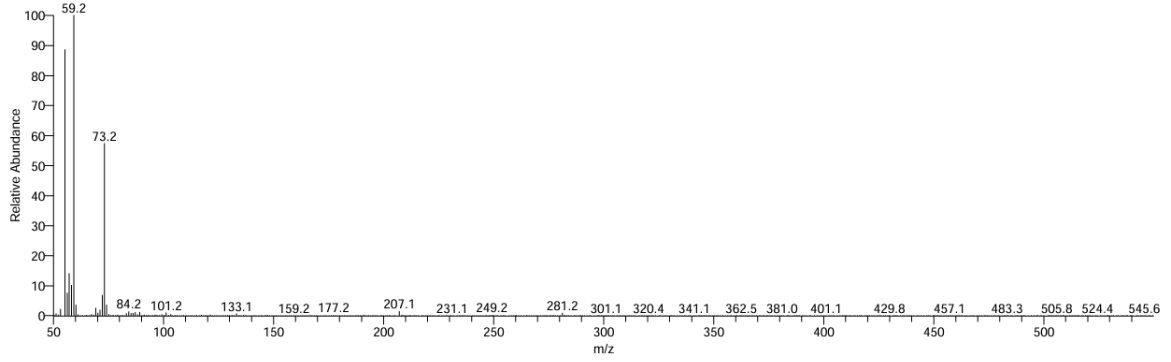
Şekil 4.20: *Primula vulgaris* kök numunesi hegzan ekstraktı GC-MS kromatogramı.

RT: 6.79 - 9.19 SM: 1G

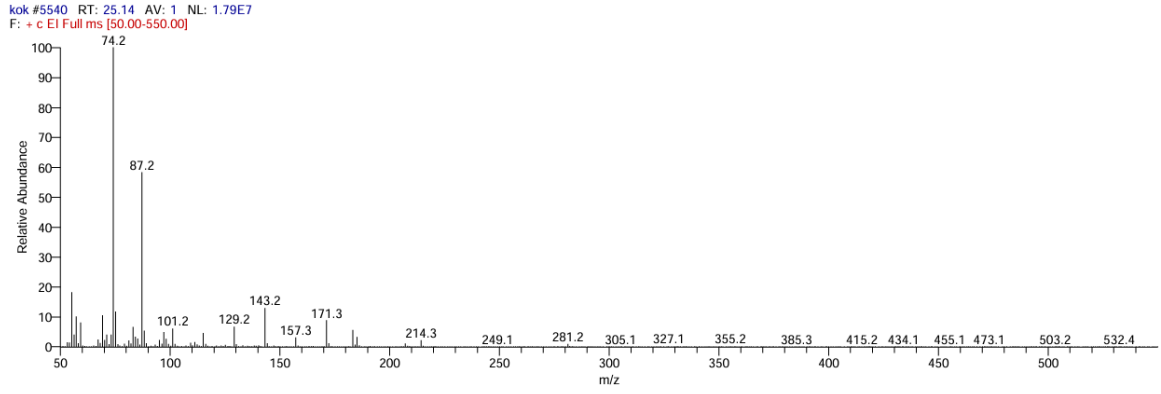
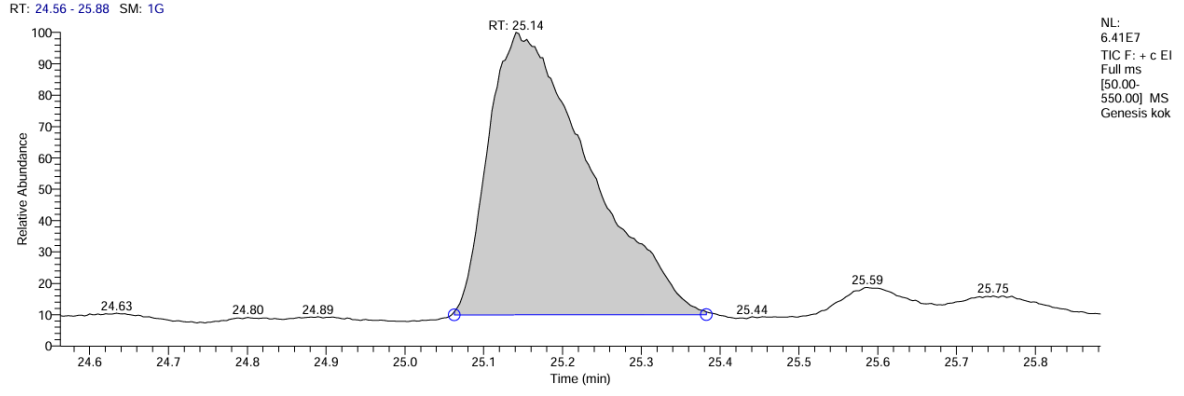


NL:
4.05E7
TIC F: + c EI
Full ms
[50.00-
550.00] MS
Genesis kok

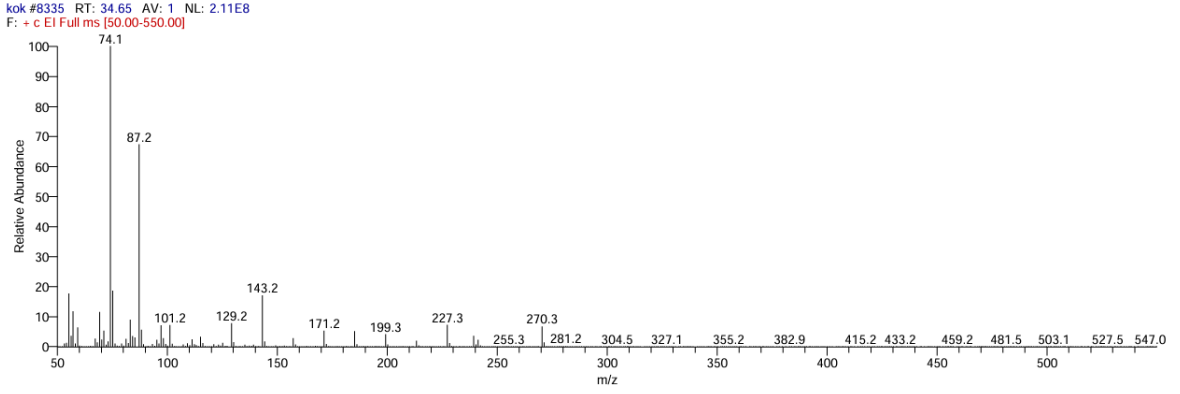
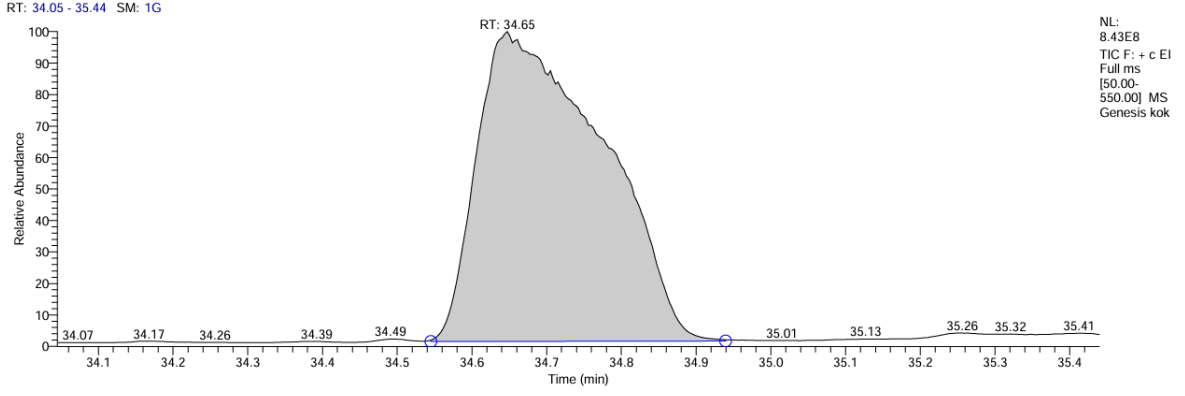
kok #328 RT: 7.41 AV: 1 NL: 1.25E7
F: + c EI Full ms [50.00-550.00]



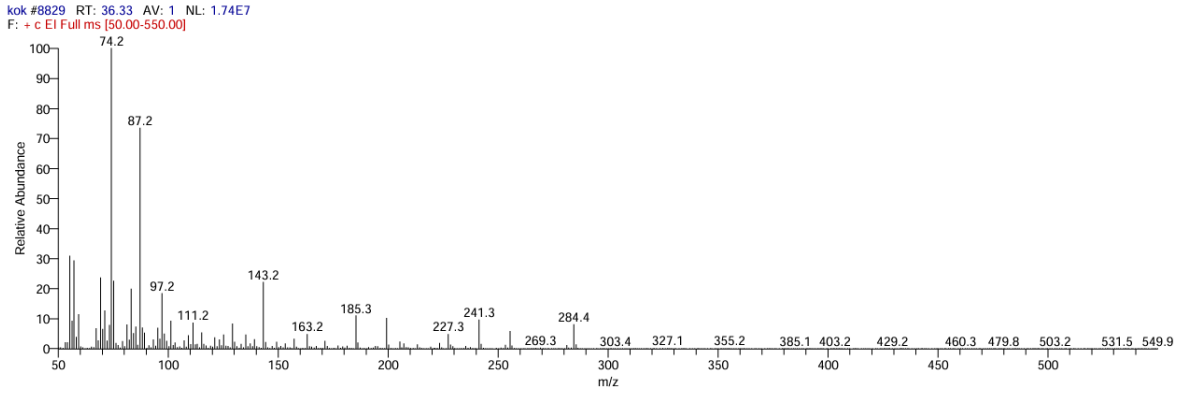
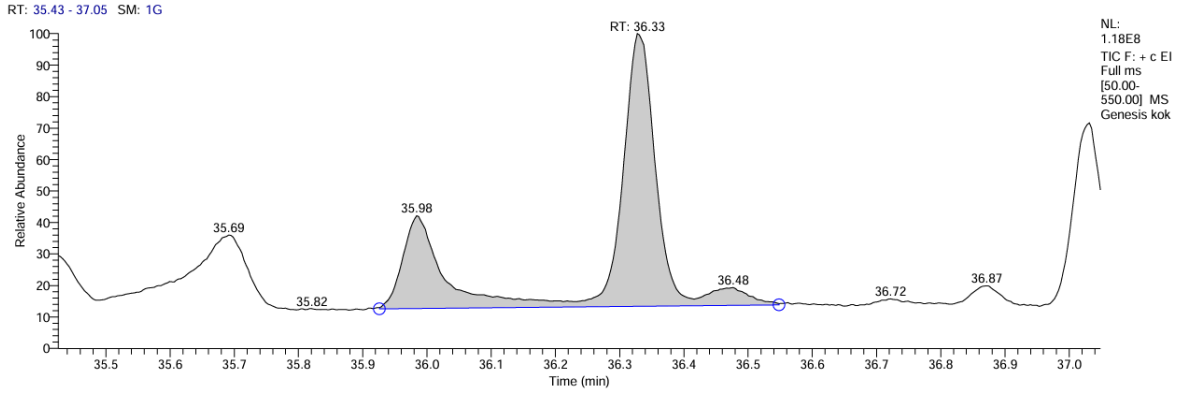
Şekil 4.21: *Primula vulgaris* kök numunesi hegzan ekstraktı 3-hegzanol bileşeni GC-MS kromatogramı.



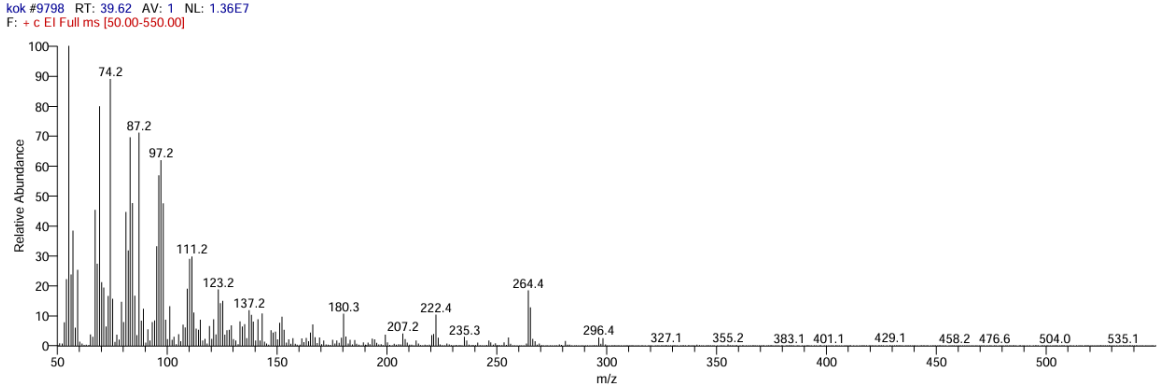
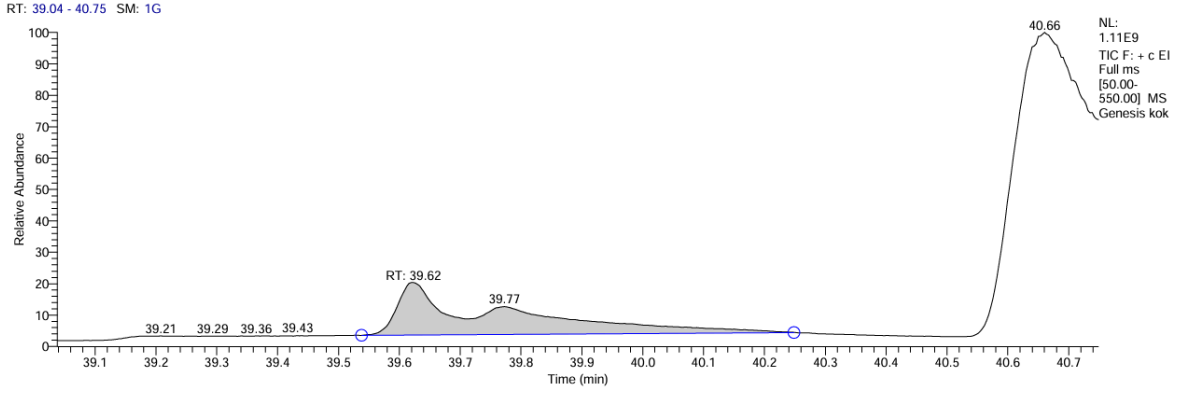
Şekil 4.22: *Primula vulgaris* kök numunesi hegzan ekstraktı dodekanoik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.



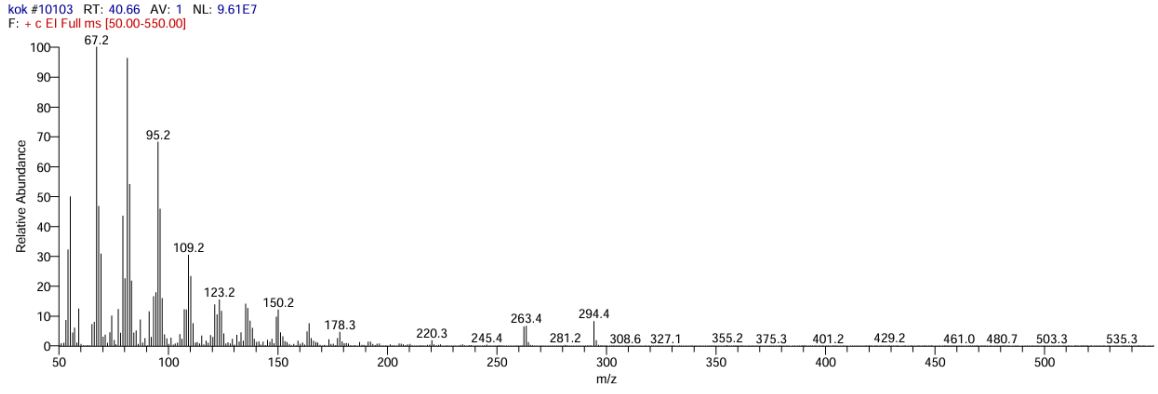
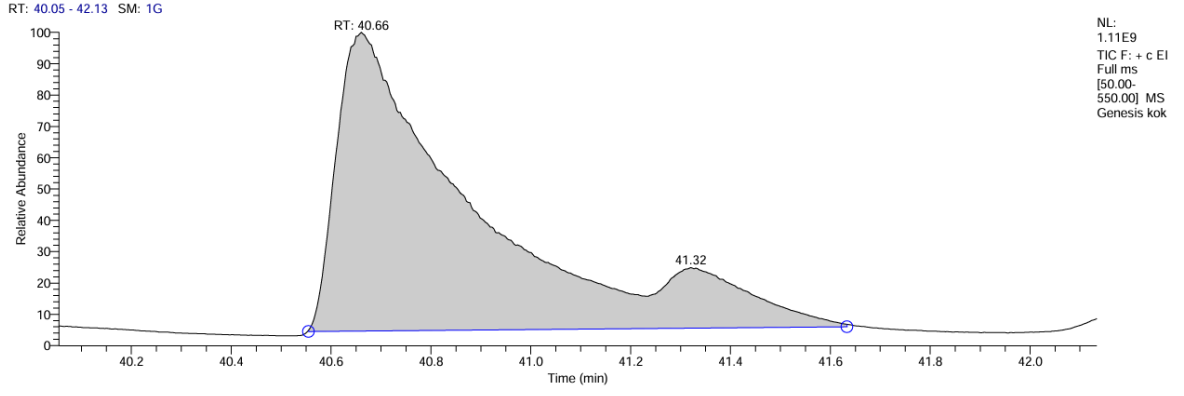
Şekil 4.23: *Primula vulgaris* kök numunesi hegzan ekstraktı palmitik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.



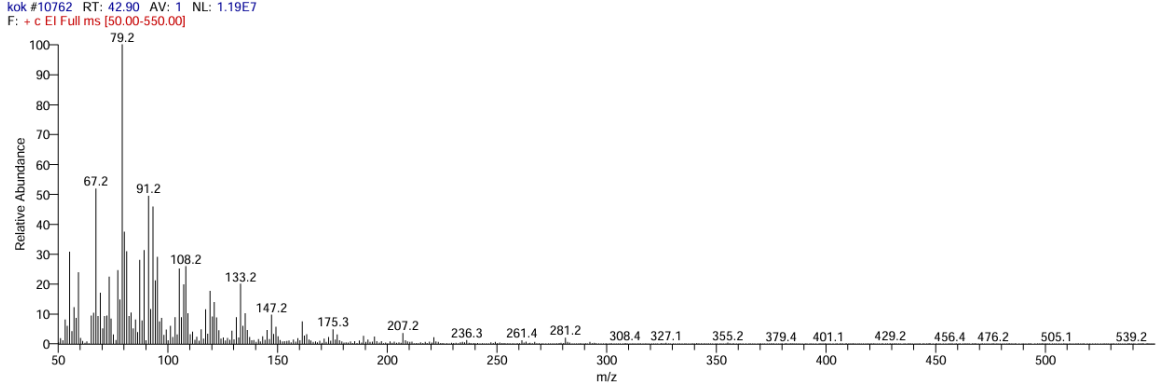
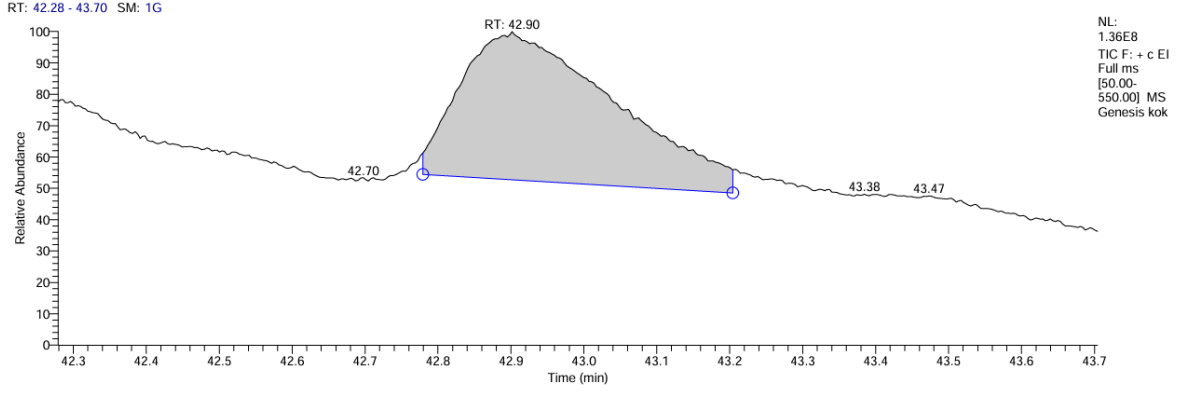
Şekil 4.24: *Primula vulgaris* kök numunesi hegzan ekstraktı palmitoleik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.



Şekil 4.25: *Primula vulgaris* kök numunesi hegzan ekstraktı Cis-10-heptadenoik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.



Şekil 4.26: *Primula vulgaris* kök numunesi hegzan ekstraktı oleik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.



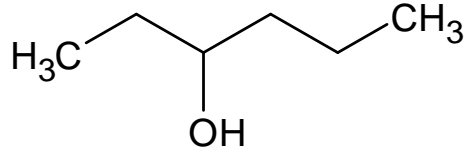
Şekil 4.27: *Primula vulgaris* kök numunesi hegzan ekstraktı araşidik asit metil esteri bileşeni GC-MS kromatogramı.

4.3.4 *Primula vulgaris* Çiçek, Yaprak ve Kök Numuneleri Hegzan Ekstraktı (Sabit Yağ) GC-MS Bileşenleri

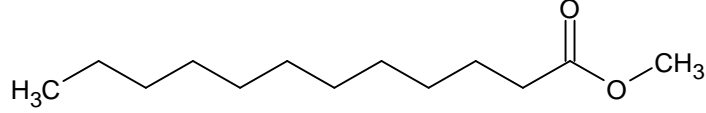
Primula vulgaris çiçek, yaprak ve kök numuneleri hegzan ekstraktlarının (sabit yağ) GC-MS bileşenleri Tablo 4.5'te verilmiştir.

Tablo 4.5: *Primula vulgaris* çiçek, yaprak ve kök numuneleri hegzan ekstraktı (sabit yağ) GC-MS bileşenleri.

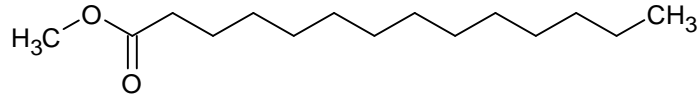
Number	RT	Bileşen Adı	Yaprak		Çiçek		Kök	
			Area	Area %	Area	Area%	Area	Area%
1	7,42	3-Hegzanol (CAS)	647961487,5	1,42	568815411,3	4,3	580241468,1	1,65
2	25,14	Dodekanoik asit metil esteri (CAS)	-	-	261470569,9	1,98	511893176,3	1,46
3	31,00	Tetradekanoik asit metil esteri (CAS)	-	-	161499051,5	1,22	-	-
4	34,45	Dokosan	-	-	339180865,2	2,56	-	-
5	34,65	Palmitik asit methyl esteri (C16:0)	6896978269	15,12	2598201715	19,63	9736571703	27,74
6	36,33	Palmitoleik asit metil esteri (C16:1)	512918388,6	1,12	-	-	541046073,7	1,54
7	37,23	Trikosan (CAS)	-	-	1017317026	7,69	-	-
8	37,50	2-Hegzadekenoik asit metil esteri, (E)-	717893726,4	1,57	-	-	-	-
9	38,82	Tetrakosan (CAS)	-	-	421849313,9	3,19	-	-
10	39,56	Cis-10-Heptadekenoik asit metil esteri (C17:1)	1135861313	2,49	-	-	2115972741	6,03
11	40,01	10-Oktadekenoik asit metil esteri (CAS)	-	-	1016680830	7,68	-	-
12	40,60	Oleik asit metil esteri (18:1n9c)	10905891071	23,91	3332806953	25,18	20655282650	58,85
13	41,24	Linoleik asit metil esteri (18:2n6c)	1221974950	2,68	-	-	-	-
14	42,46	γ -Linolenik asit metil esteri (18:3n6)	-	-	3516897575	26,57	-	-
15	42,68	Stearik asit metil esteri (C18:0)	22216831481	48,71	-	-	958254890,8	2,73
16	42,90	Araşidik asit metil esteri (C20:0)	-	-	-	-	958254890,8	2,73



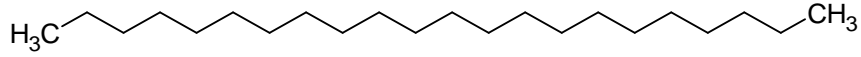
Şekil 4.28: 3-hegzanolün açık formül gösterimi.



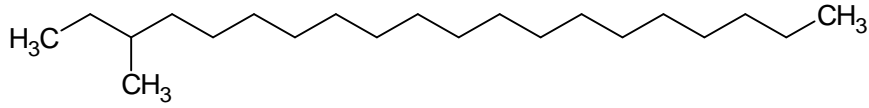
Şekil 4.29: Dodekanoik asit metil esterinin açık formül gösterimi.



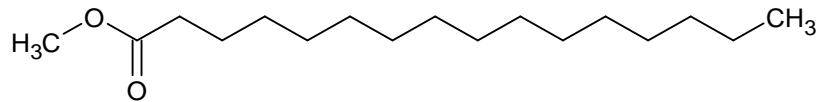
Şekil 4.30: Tetradekanoik asit metil esterinin açık formül gösterimi.



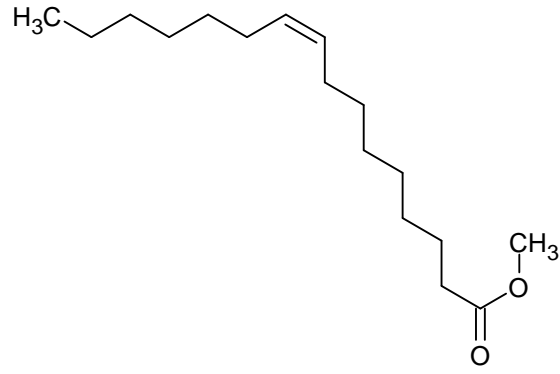
Şekil 4.31: Dokosanın açık formül gösterimi.



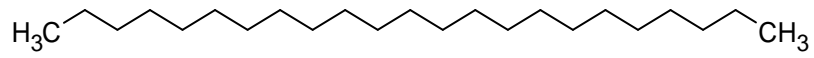
Şekil 4.32: 3-metileikosanın açık formül gösterimi.



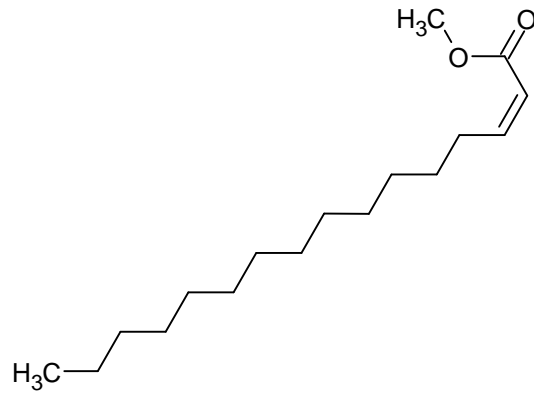
Şekil 4.33: Palmitik asit metil esterinin açık formül gösterimi.



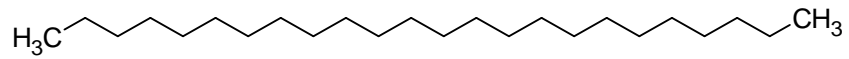
Şekil 4.34: Palmitoleik asit metil esterinin açık formül gösterimi.



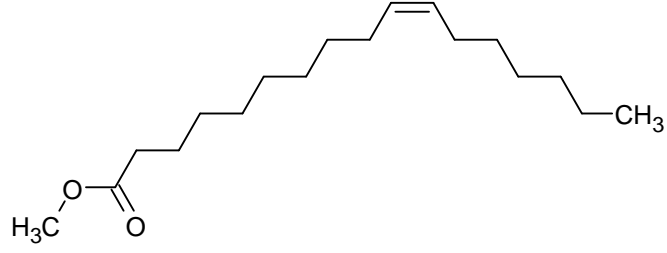
Şekil 4.35: Trikosanın açık formül gösterimi.



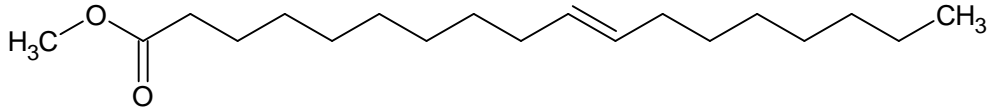
Şekil 4.36: 2-Hegzadekenoik asit metil esterinin açık formül gösterimi.



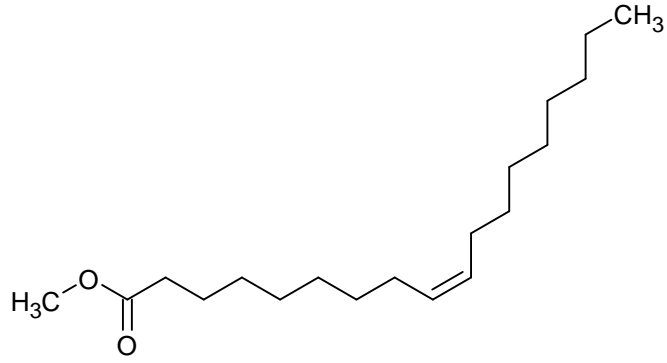
Şekil 4.37: Tetrakosanın açık formül gösterimi.



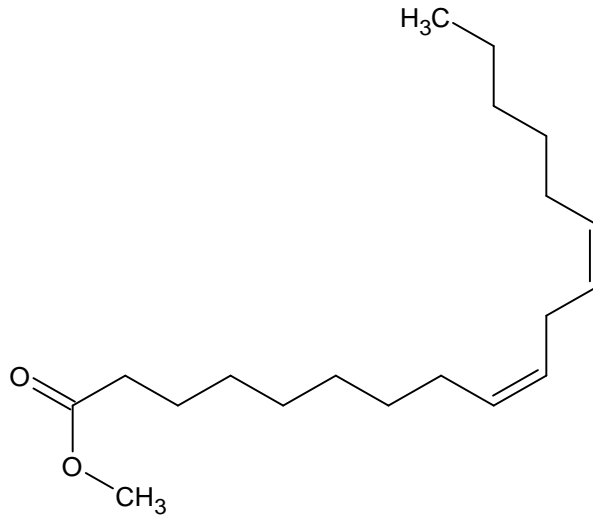
Şekil 4.38: Cis-10-heptadekenoik asit metil esterinin açık formül gösterimi.



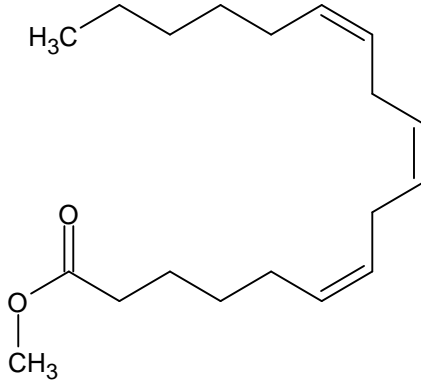
Şekil 4.39: 10-oktadekenoik asit metil esterinin açık formül gösterimi.



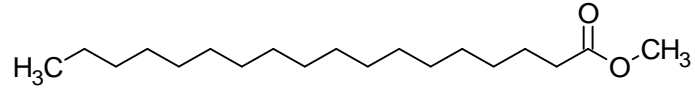
Şekil 4.40: Oleik asit metil esterinin açık formül gösterimi.



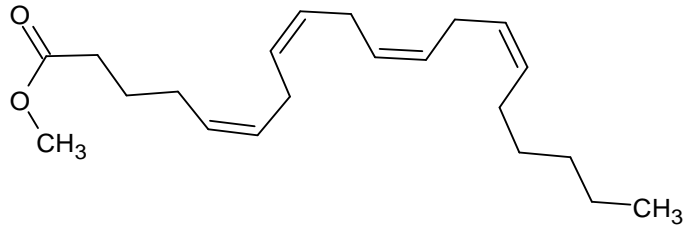
Şekil 4.41: Linoleik asit metil esterinin açık formül gösterimi.



Şekil 4.42: γ -Linolenik asit metil esterinin açık formül gösterimi.

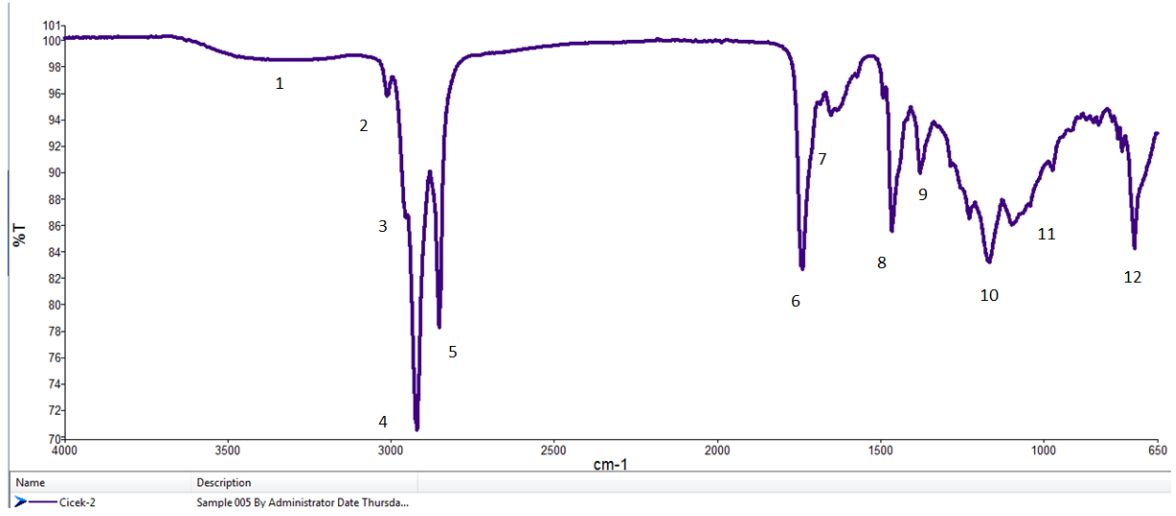


Şekil 4.43: Stearik asit metil esterinin açık formül gösterimi.

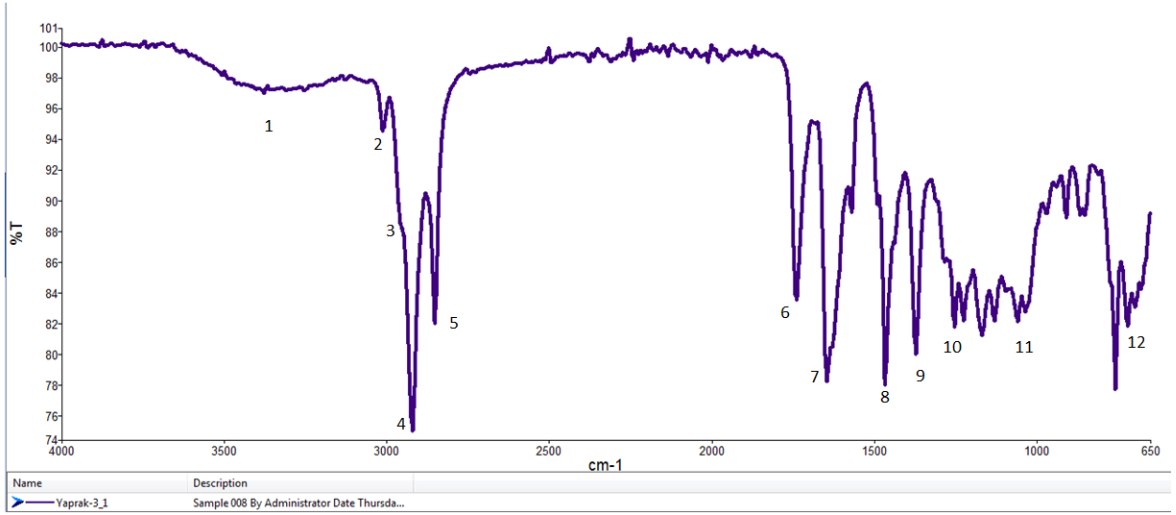


Şekil 4.44: Metil araşidonatın açık formül gösterimi.

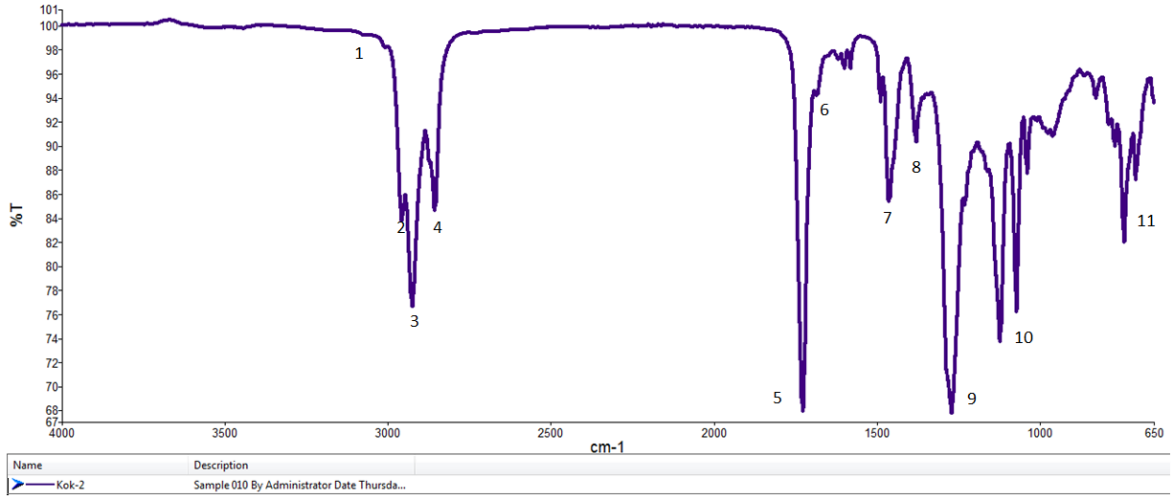
4.4 FTIR Analizi



Şekil 4.45: *Primula vulgaris* çiçek yağ numunesi FTIR kromatogramı.

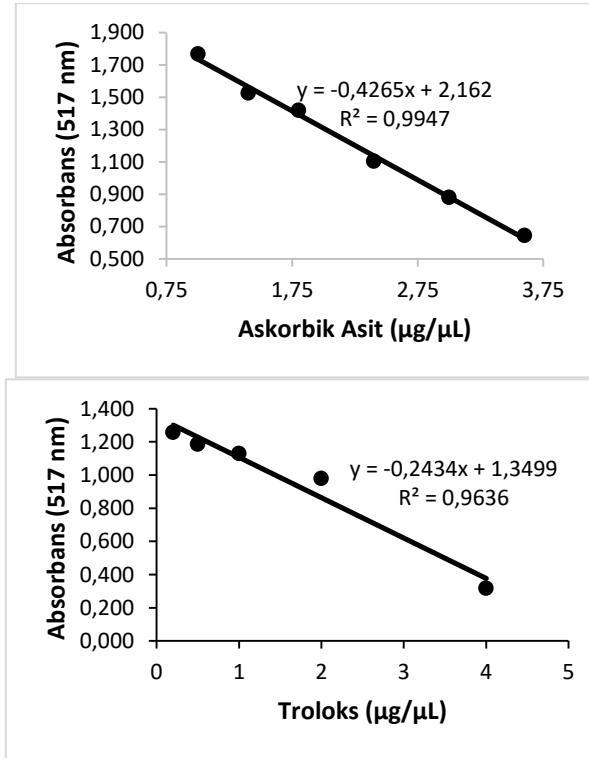


Şekil 4.46: *Primula vulgaris* yaprak yağ numunesi FTIR kromatogramı.



Şekil 4.47: *Primula vulgaris* kök yağ numunesi FTIR kromatogramı.

4.5 DPPH Analizi

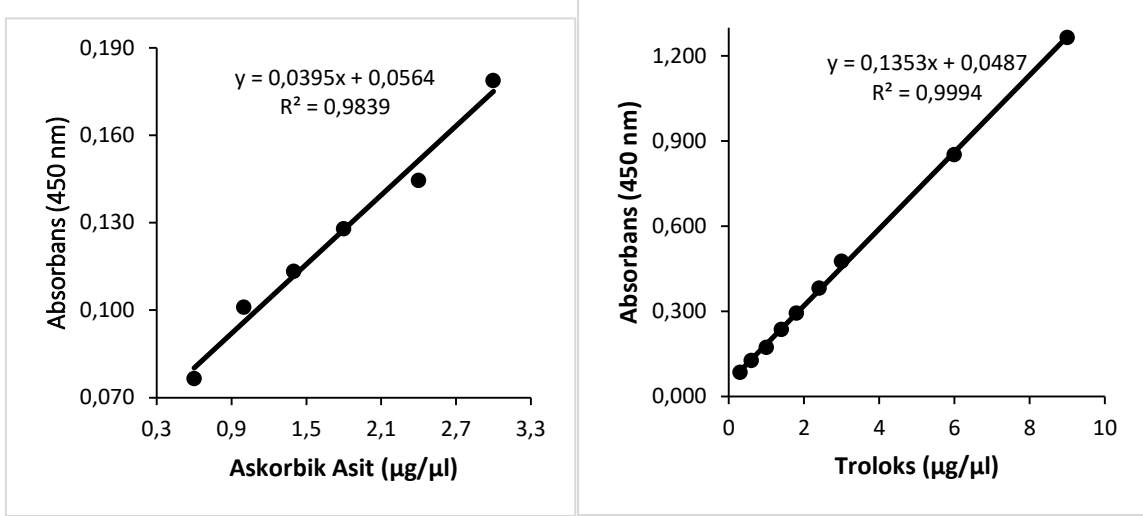


Şekil 4.48: DPPH antioksidan analizinde kullanılan askorbik asit ve troloks için standart kalibrasyon eğrileri.

Tablo 4.6: Örneklerin DPPH yöntemi ile elde edilen antioksidan miktarları.

Kod	µg/µl Askorbik Asit	µg Troloks eşdeğeri/µl
Çiçek	0,0149	0,0326
Yaprak	0,0156	0,0272
Kök	0,0166	0,0407

4.6 Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Tayini

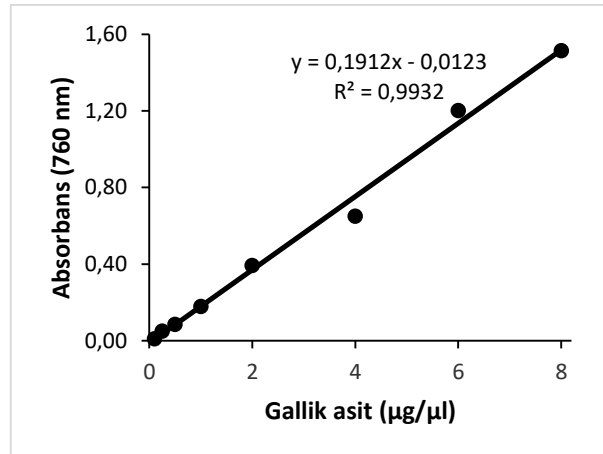


Şekil 4.49: CUPRAC yöntemi: Toplam antioksidan analizi askorbik asit ve troloks kalibrasyon eğrisi.

Tablo 4.7: Örneklerin antioksidan aktivitesi (Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite, CUPRAC).

Kod	µg Askorbik Asit Eşdeğeri/µl	µg Troloks Eşdeğeri/µl
Çiçek	0,2054	0,0005
Yaprak	0,1917	0,0005
Kök	0,2309	0,0006

4.7 Toplam Fenolik Madde Analizi

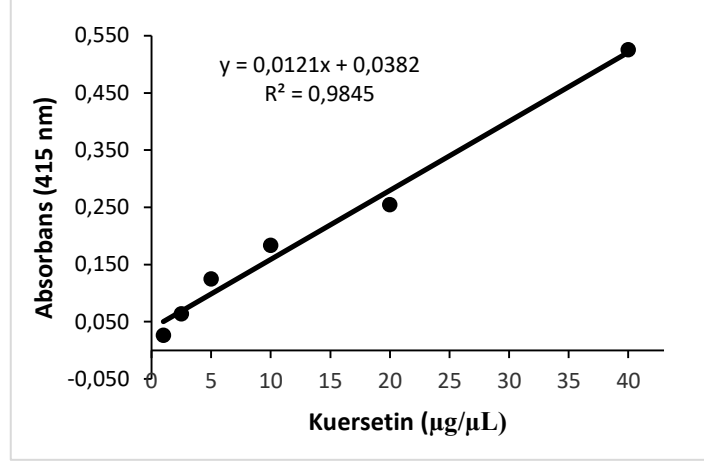


Şekil 4.50: Toplam fenolik madde analizi gallik asit standart kalibrasyon eğrisi.

Tablo 4.8: Örneklerin toplam fenolik madde miktarı, antioksidan miktarı.

Kod	μg Gallik Asit Eşdeğeri/ μL
Çiçek	0,0085531
Yaprak	0,0093781
Kök	0,0099231

4.8 Toplam Flavonoid Analizi

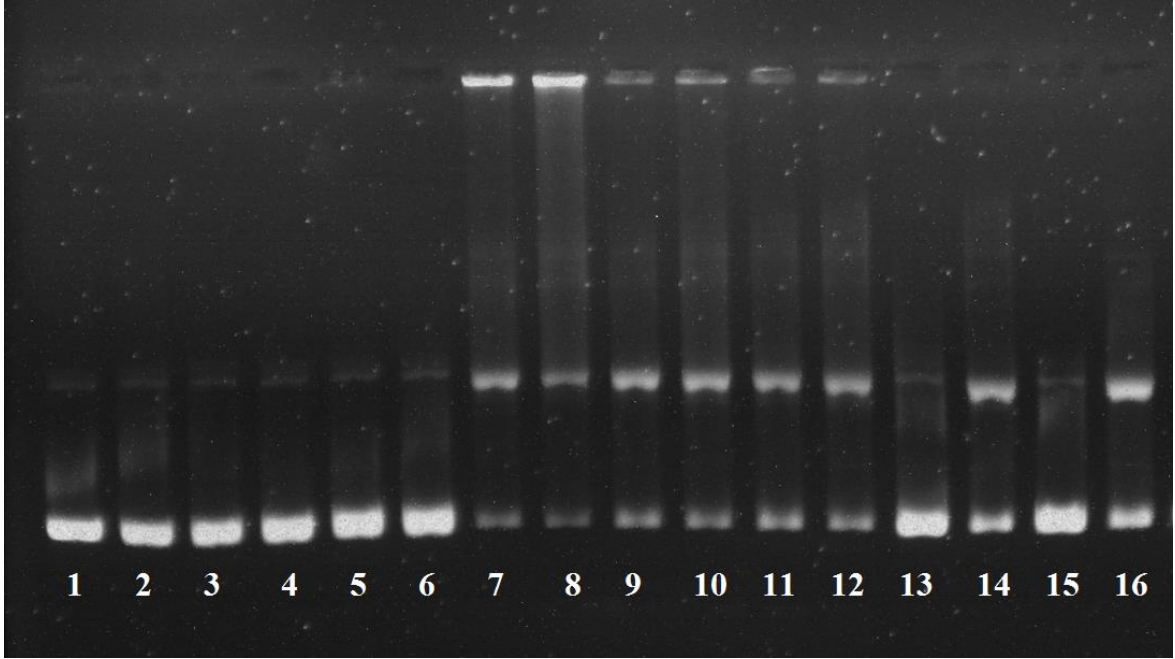


Şekil 4.51: Toplam flavonoid analizi kuersetin standart kalibrasyon eğrisi.

Tablo 4.9: Örneklerin toplam flavonoid miktarı, antioksidan miktarı.

Kod	μg Kuersetin Eşdeğeri/ μL
Çiçek	0,1674
Yaprak	0,2327
Kök	0,1831

4.9 Elde Edilen Kök, Yaprak ve Çiçek Sabit Yağ Numunelerinin DNA Koruma Etkilerinin Bulguları



Şekil 4.52: Agaroz jel elektroforezi ile H_2O_2 kaynaklı Plazmid DNA hasarı analizinde çuha çiçeği kök, yaprak ve çiçek sabit yağlarının etkisi (1; 1 mg ml^{-1} çiçek, 2; 0.5 mg ml^{-1} çiçek, 3; 1 mg ml^{-1} yaprak, 4; 0.5 mg ml^{-1} yaprak, 5; 1 mg ml^{-1} kök, 6; 0.5 mg mL^{-1} kök, 7; 1 mg ml^{-1} çiçek + fenton, 8; 0.5 mg ml^{-1} çiçek + fenton, 9; 1 mg ml^{-1} yaprak + fenton, 10; 0.5 mg ml^{-1} yaprak + fenton, 11; 1 mg ml^{-1} kök + fenton, 12; 0.5 mg ml^{-1} kök + fenton, 13; negatif (plazmit + su), 14; pozitif (plazmit + su + fenton), 15; 1 mg ml^{-1} kuersetin, 16; 1 mg ml^{-1} kuersetin + fenton).

5. SONUÇ ve TARTIŞMA

Bu yüksek lisans çalışması fitokimya alanında yapılan çalışmalardan biridir. Çorum ili İskilip ilçesi Yalak Köyü civarındaki Yalak Yaylası bölgesinden toplanan *Primula vulgaris* bitkisinin sabit yağlarının eldesi, elde edilen ekstraktların FTIR, GC-MS ile kimyasal bileşiminin belirlenmesi, azot-protein tayin yöntemiyle bileşenlerinin analizi, antioksidan aktivitesi ve DNA kırınımı çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Çuha çiçeği örneklerinin çiçek, yaprak ve köklerinin Soxhlet ekstraksiyonu ile yapılan analizlerinden elde edilen sabit yağ oranları Tablo 4.1’de verilmiştir. Çiçek numunesinden %3,97 verimle, kök numunesinden %2,74 verimle ve yaprak numunesinden %5,51 verimle sabit yağ elde edilmiştir.

LECO FP-529 marka cihazla, çuha çiçeği kök, yaprak ve çiçek numunelerinin % azot miktarları belirlenmiştir. Buna göre, çuha çiçeği kök numunesinde % azot oranı %1,39, çuha çiçeği yaprak numunesinde % azot oranı %3,64 ve çuha çiçeği çiçek numunesinde % azot oranı %1,96 olarak tespit edilmiştir.

ANKOM XT50 marka cihazın vermiş olduğu % yağ sonuçları ve Soxhlet ekstraktöründen elde edilen % yağ sonuçları karşılaştırılmıştır. % yağ oranları, ANKOM XT50 cihazında petrol eteri, Soxhlet ekstraktöründe n-hegzan kullanılarak tespit edilmiştir. *Primula vulgaris* çiçek numunesiyle gerçekleştirilen Soxhlet deneyinde, ortalama % yağ oranı %3,39 olarak hesaplanmıştır. ANKOM XT50 cihazının vermiş olduğu *Primula vulgaris* çiçek % yağ verimi ise %1,84’tür. *Primula vulgaris* kök numunesiyle gerçekleştirilen dört farklı Soxhlet deneyinde, ortalama % yağ oranı %2,02 olarak hesaplanmıştır. ANKOM XT50 cihazının vermiş olduğu *Primula vulgaris* kök % yağ miktarı ise %0,66’dır. *Primula vulgaris* yaprak numunesiyle gerçekleştirilen üç farklı Soxhlet deneyinde, ortalama % yağ oranı %4,81 olarak hesaplanmıştır. ANKOM XT50 cihazının vermiş olduğu *Primula vulgaris* yaprak % yağ miktarı ise %2,87’dir. Dolayısıyla n-hegzan kullanılarak Soxhlet cihazıyla elde edilen yaprak, kök ve çiçek numuneleri % yağ verimi, petrol eteri kullanılarak ANKOM XT50 marka cihazının vermiş olduğu % yağ verimlerinden daha fazla olduğu gözlenmiştir.

Carbolite marka kül fırını ile gerçekleştirilen % kül miktarı tayinine göre, *Primula vulgaris* kök numunesinde %8,44, *Primula vulgaris* yaprak numunesinde %7,98 ve *Primula vulgaris* çiçek numunesinde %8,91 oranında % kül miktarı tespit edilmiştir.

Clevenger düzeneği ile uçucu yağ elde etme denemesi yapılmışsa da başarılı olunamamıştır. Çünkü yaprak, çiçek ve kök numunelerinden yeterli miktarda hasat edilememiştir.

GC-MS ile sabit yağların (hegzan ekstresi) bileşenlerinin tayini gerçekleştirilmiştir. Yaprak, kök ve çiçek *Primula vulgaris* materyallerinden elde edilen yağ numuneleri metil türevlendirmesi işlemine tabi tutulmuştur. İşlem sonrası hegzan içeren numuneler GC-MS cihazında tek tek analiz edilmiş ve cihaz kütüphaneleri ile bileşenleri tanımlanmıştır. Şekil 4.1-4.10 arasında verilen GC-MS kromatogramları çiçek yağ numunesine ve bileşenlerine aittir. Bu kromatogramlarda tespit edilen bileşenler Tablo 4.5'te verilmiştir. Tablo 4.2'de verilen GC-MS bileşenleri incelendiğinde çiçek numunesinde %26,57 γ -linolenic asit metil esteri, %25,18 oleik asit metil esteri, %19,63 palmitik asit metil esteri, %7,69 trikonan, %7,68 10-oktadekenoik asit metil esteri, %4,3 3-hegzanol, %3,19 tetrakosan, %2,56 dokosan ya da 3-metileikosan, %1,98 dodekanoik asit metil esteri ve %1,22 tetradekanoik asit tespit edilmiştir.

Şekil 4.11-4.19 arasında verilen GC-MS kromatogramları yaprak yağ numunesine ve bileşenlerine aittir. Bu kromatogramlarda tespit edilen bileşenler Tablo 4.5'te verilmiştir. Tablo 4.2'de verilen GC-MS bileşenleri incelendiğinde yaprak numunesinde %48,71 metil stearidonat, %23,91 oleik asit metil esteri, %15,12 palmitik asit metil esteri, %2,68 linoleik asit metil esteri, %2,49 cis-10-heptadekenoik asit metil esteri, %1,57 2-hegzadekenoik asit metil esteri, %1,42 3-hegzanol ve %1,12 palmitoleik asit metil esteri tespit edilmiştir.

Şekil 4.20-4.27 arasında verilen GC-MS kromatogramları kök yağ numunesine ve bileşenlerine aittir. Bu kromatogramlarda tespit edilen bileşenler Tablo 4.5'te verilmiştir. Tablo 4.2'de verilen GC-MS bileşenleri incelendiğinde kök numunesinde %58,85 oleik asit metil esteri, %27,74 palmitik asit metil esteri, %6,03 cis-10-heptadekenoik asit metil esteri, %2,73 stearik asit metil esteri, %2,73 metil araşidik asit metil esteri, %1,65 3-hegzanol, %1,54 palmitoleik asit metil esteri, %1,46 dodekanoik asit metil esteri tespit edilmiştir.

Tablo 4.5'e göre 3-hegzanol bileşeni, palmitik asit metil esteri, oleik asit metil esteri çiçek, kök ve yaprak yağ numunelerinde ortak tespit edilen bileşenlerdir. Bu bileşenlerin oranları kıyaslandığında 3-hegzanolün %4,3 oranla çiçek yağ numunesinde, kök ve yaprak yağ numunelerinden yaklaşık 3 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Palmitik asit metil esteri oranları kıyaslandığında kök yağ numunesinde %27,74 ile en yüksek değere sahip olduğu

tespit edilmiştir. Çiçek ve yaprak yağ numunelerinde sırasıyla %19,63 ve %15,12 palmitik asit metil esteri tespit edilmiştir. Oleik asit metil esteri her bir numunede tespit edilen en yüksek oranlı bileşen olup %58,85 ile kök yağ numunesinde diğer çiçek ve yaprak yağ numunelerinde tespit edilen miktarın yaklaşık 2 kat daha fazladır. Bu bileşenlerin yanı sıra dodekanoik metil ester çiçek ve yağ numunelerinde tespit edilen ortak bileşenlerdir. Tetradekanoik asit metil ester, dokosan, trikosan, tetrakosan, 10-oktadekanoik asit metil esteri ve γ -linolenik asit metil esteri bileşenleri ise sadece çiçek yağ numunesinde tespit edilmiştir.

Palmitoleik metil ester bileşeni yaprak ve kök yağ numunelerinde sırasıyla %1,12 ve %1,54 oranlarla tespit edilmiştir. Cis-10-heptadekanoik asit metil esteri, kök yağ numunesinde ve yaprak numunesinde tespit edilmesine rağmen kök yağ numunesinde, yaprak yağ numunesine göre yaklaşık 3 kat daha fazla olduğu gözlenmiştir. Metil stearidonat bileşeni yaprak numunesinde %48,71 oranla tespit edilmiş en yüksek bileşenken kök yağ numunesinde sadece %2,73 oranla tespit edilmiştir. Dodekanoik asit metil esteri sadece çiçek ve kök yağ numunesinde tespit edilmiştir.

Bu bileşenlerin yanı sıra 2-hegzadekanoik asit metil esteri sadece yaprak yağ numunesinde (%1,57), linoleik asit metil esteri sadece yaprak yağ numunesinde (%2,68) ve araşidik asit metil esteri sadece kök yağ numunesinde (%2,73) tespit edilmiştir.

Elde edilen GC-MS bileşen analizi sonuçları literatür verileri ile kıyaslanmıştır. Literatüre göre çuha çiçeği tohumundan elde edilen sabit yağda %73,88 linoleik asit, %9,24 γ -linolenik asit, %6,93 oleik asit ve %6,31 palmitik asit tespit edilmiştir [106]. Bu çalışmada ise çuha çiçeği yaprak numunesinde %2,68 linoleik asit, %23,91 oleik asit, %15,12 palmitik asit esteri; çuha çiçeği çiçek numunesinde %26,57 γ -linolenik, %25,18 oleik asit, %19,63 palmitik asit; çuha çiçeği kök numunesinde %58,85 oleik asit, %27,74 palmitik asit tespit edilmiştir.

Çiçek yağ numunesi FTIR spektrumunda (Şekil 4.45) sırasıyla 3314 cm^{-1} 'de -OH gerilmesi, Karboksilli asit gerilmesi; 3070 cm^{-1} 'de Alken ($\text{C}(\text{sp}^2)\text{-H}$) gerilmesi; 3956 cm^{-1} 'de - CH_3 asimetric gerilmesi, 3921 cm^{-1} 'de - CH_2 asimetric gerilmesi, 3851 cm^{-1} 'de - CH_3 asimetric gerilmesi ve CH_2 simetric gerilmesi, 1739 cm^{-1} 'de Karbonil ($\text{C}=\text{O}$) gerilmesi, 1651 cm^{-1} 'de Alken ($\text{C}=\text{C}$) gerilmesi, 1464 cm^{-1} 'de CH_3 asimetric eğilmesi, 1377 cm^{-1} 'de CH_3 eğilmesi (Şemsiye), 1227 cm^{-1} 'de COOH gerilmesi/eğilmesi (O-C-C asimetric

gerilmesi ve OH eğilmesi kombinasyonu), 1096 cm⁻¹'de C-O gerilmesi ve son olarak 719 cm⁻¹'de -(CH₂)₄- grupları sallanma hareketi gözlenmiştir.

Yaprak yağ numunesi FTIR spektrumunda (Şekil 4.46) sırasıyla 3376 cm⁻¹'de -OH gerilmesi, Karboksilli asit gerilmesi; 3010 cm⁻¹'de alken (C(sp²)-H) gerilmesi; 3955 cm⁻¹'de -CH₃ asimetrik gerilmesi; 3920 cm⁻¹'de -CH₂ asimetrik gerilmesi; 3850 cm⁻¹'de -CH₃ asimetrik gerilmesi ve CH₂ simetrik gerilmesi; 1739 cm⁻¹'de Karbonil (C=O) gerilmesi; 1645 cm⁻¹'de alken (C=C) gerilmesi; 1465 cm⁻¹'de CH₃ asimetrik eğilmesi; 1371 cm⁻¹'de CH₃ eğilmesi (Şemsiye); 1252 cm⁻¹'de COOH gerilmesi/eğilmesi (O-C-C asimetrik gerilmesi ve OH eğilmesi kombinasyonu); 1058 cm⁻¹'de C-O gerilmesi ve son olarak 720 cm⁻¹'de -(CH₂)₄- grupları sallanma hareketi gözlenmiştir.

Kök yağ numunesi FTIR spektrumunda (Şekil 4.47) sırasıyla 3072 cm⁻¹'de Alken (C(sp²)-H) gerilmesi; 3957 cm⁻¹'de -CH₃ asimetrik gerilmesi; 3923 cm⁻¹'de -CH₂ asimetrik gerilmesi; 3855 cm⁻¹'de -CH₃ asimetrik gerilmesi ve CH₂ simetrik gerilmesi; 1727 cm⁻¹'de Karbonil (C=O) gerilmesi; 1680 cm⁻¹'de alken (C=C) gerilmesi, 1462 cm⁻¹'de CH₃ asimetrik eğilmesi; 1379 cm⁻¹'de CH₃ eğilmesi (Şemsiye); 1270 cm⁻¹'de O-C(O)-C gerilmesi, 1071 cm⁻¹ C-O gerilmesi ve son olarak 741 cm⁻¹'de -(CH₂)₄- grupları sallanma hareketi gözlenmiştir.

Çorum'un İskilip ilçesine bağlı Yalak Yaylası mevkinin rakımı yaklaşık 1100 m civarındadır ve bu çalışmanın gerçekleştirildiği bitkiler Yalak Yaylası'ndan toplanmıştır. Literatüre göre 1100 m rakımda toplanan *Primula vulgaris* Huds. Subsp. *vulgaris* bitkisinin sabit yağ oranı %0,48'ken, 1200 m rakımda toplanan *Primula vulgaris* Huds. Subsp. *sibthorpii* bitkisinin sabit yağ oranı %0,58 olarak belirlenmiş ve Soxhlet cihazından dietil eter çözücülüğünde bu ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir [22]. Bu çalışmada ise 1100 m rakımda toplanan *Primula vulgaris* bitkisinin yüzde yağ verimleri kök numunesi için %2,74, yaprak numunesi için %5,51 ve çiçek numunesi için %3,97 olarak gerçekleşmiştir.

Son yıllarda en çok araştırılan konular arasında nükleik asitlerle etkileşime giren yeni moleküllerin araştırılması ve tasarlanması, kemoterapide DNA'ya bağlanabilen yeni kanser ilaçlarının geliştirilmesi yer almaktadır. Bu genetik ve kanser hastalıkları kendiliğinden ortaya çıkan mutasyonlardan kaynaklansa da dış kimyasal ve fiziksel faktörlerin, çevrenin etkisi oldukça büyüktür. Bu nedenle mutajenlerin etkilerini tersine çevirebilecek, hastalıkları önleyebilecek ve bu hastalıkları tedavi edebilecek yeni mutajenlerin sentezlenmesi için daha fazla önem arz etmektedir.

Sentezlenen bileşiklerin DNA koruma aktivitesi tayini gerçekleştirilmiştir. Sabit yağ bileşiklerinin konsantrasyonları 1 ve 0,5 mg/ml olacak şekilde sulu çözeltileri hazırlandı. Thermo Scientific pBR322, en yaygın kullanılan *E.coli* klonlama vektörlerinden biridir. Bu sebeple DNA materyeli, *E. coli*'den izole edilen Thermo Fisher, pBR322 DNA kullanılmıştır. *E. coli* DNA'sı ile sentezlenen bileşiklerin etkileşimleri, UV-VIS spektroskopisi ve agaroz jel elektroforezi ile karakterize edildi. Sony marka jel yazıcısı kullanılarak sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmada kontrol olarak 1 mg/ml kuarsetin çözeltisi kullanılmıştır.

Şekil 4.52 incelendiğinde 1-6 kuyucuklarına fenton içermeyen plazmit DNA ve kök-yaprak-çiçek çuha çiçeği materyalinden elde edilen sabit yağlar içeren çözeltiler ilave edilmiştir. Numunelerin, Plazmit DNA'yı parçalamaması oldukça önemlidir. Sırasıyla kuyucuklara 11 mg/ml ve 0,5 mg/ml çözeltileri çiçek, yaprak, kök şeklinde uygulanmıştır. 1-6 kuyucuklarından elde edilen jel görüntüsü incelendiğinde bileşiklerin varlığının DNA hasarına yol açmadığı tespit edilmiştir.

7-12 kuyucuklarına da kök-yaprak-çiçek çuha çiçeği materyalinden elde edilen sabit yağlar içeren çözeltiler ve DNA plazmitin yanı sıra DNA'yı parçalayan fenton çözeltisi ilave edilmiştir. Burada amaç yağ numunelerinin bu hasarı durdurması ya da engellemesidir. Sırasıyla kuyucuklara fenton, plazmit ile 1 mg/ml ve 0,5 mg/ml çiçek, yaprak, kök şeklinde uygulanmıştır. 7-12 kuyucuklarından elde edilen jel görüntüsünde 2 bant görülmesi (form I ve form II) ortamda bulunan çiçek, yaprak ve kök numunelerine rağmen DNA hasarının oluştuğunu göstermektedir. Negatif kontrolde DNA hasarı gözlenmemiştir. Fentonlu pozitif kontrolde de DNA hasarı tespit edilmiştir. Kontrol amacıyla 15-16 kuyucuklarına uygulanan fentonsuz (15) kuarsetinin DNA hasarına yol açmadığı ve fentonlu (16) kuarsetinin de çiçek, yaprak ve kök çuha çiçeği yağ materyallerinin benzer olarak DNA koruma sağlamadığı tespit edilmiştir.

Bu sonuçlar ışığında çiçek, yaprak ve kök çuha çiçeği yağ materyallerinin varlığının biyolojik sistemlerde DNA hasarına yol açmadığı ve aynı zamanda da oluşan DNA hasarlarına karşı da koruyucu etki göstermediği, yani duyarsız olduğu tespit edilmiştir.

Serbest radikaller ile meydana gelebilecek hasarların önüne geçilebilmesi amacıyla antioksidan bileşiklere başvurulmaktadır. Sentetik veya doğal birçok antioksidan bileşiği radikal giderme ajanı olarak kullanıma sahiptir [120]. Bir bileşiğin antioksidan radikal süpürme etkisi tayini in vitro olarak uygulanan yöntemlerle belirlenmektedir. Bu

yöntemlerin başında da DPPH• radikalini süpürme yöntemi kullanılmaktadır. DPPH yönteminde mor renge sahip kararlı bir bileşik olan DPPH• radikali işlem sonrası indirgenerek rengi sarıya dönüşmektedir. Bu renk dönüşümü ise 517 nm’de spektrofotometrik olarak tespit edilmektedir. Koyu mor renkli DPPH• radikali içeren çözelti, antioksidan aktiviteye sahip bir bileşik ile karıştırıldığında kullanılan bileşik ortama bir hidrojen atomu vermekte ve radikal içeren DPPH•, radikal içermeyen DPPHH formuna dönüşmektedir. Bu indirgeme işlemi esnasında mor renk sarı renge dönüşmektedir (Şekil 3.9).

Primula vulgaris bitkisinden elde edilen kök, yaprak ve çiçek sabit yağlarının dimetil sülfoksit içerisinde hazırlanan 1 mg/ml çözeltilerinden 50 µl alınarak DPPH• radikalini süpürme etkisi incelenmiştir. Bu amaçla troloks ve askorbik asit standart materyali kullanılarak Şekil 4.48’de verilen standart kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. *Primula vulgaris* bitkisinden elde edilen kök, yaprak ve çiçek sabit yağlarının DPPH• radikalini süpürme etkisi spektrofotometrik olarak standart kalibrasyon eğrilerinin kullanılmasıyla belirlenmiştir. Tablo 4.6’da verilen çiçek, yaprak ve kök numunelerinin antioksidan miktarları askorbik asit ve troloks eşdeğeri olarak hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre çiçek yağ numunesinde antioksidan miktarı troloks eşdeğeri (0,0326 µg/µl) askorbik asidin eşdeğerinden (0,0149 µg/µl) yüksek olduğu tespit edilmiştir. Yaprak yağ numunesinde antioksidan miktarı troloks eşdeğeri (0,0272 µg/µl) askorbik asidin eşdeğerinden (0,0156 µg/µl) yüksek olduğu tespit edilmiştir. Kök yağ numunesinde ise antioksidan miktarı troloks eşdeğeri (0,0407 µg/µl) askorbik asidin eşdeğerinden (0,0166 µg/µl) yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre DPPH radikalini süpürme etkisinin, troloks eşdeğerinin tüm yağ numunelerinde daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Apak ve arkadaşları tarafından geliştirilen CUPRAC yöntemi antioksidan aktivite analizlerinde başarılı bir şekilde uygulanmaktadır. CUPRAC yönteminde temel olarak 2,9-dimetil-1, 10-fenantrolin (Neokuproin Nc)’in Cu (II) ile oluşturduğu bakır (II)-neokuproin kompleksinin (Cu(II)-Nc), 450 nm’ de maksimumu absorban veren bakır (I)- neokuproin (Cu(I)-Nc) şelatına indirgenme yeteneğinden yararlanılarak antioksidan kapasite hesaplanmaktadır [122]. CUPRAC metodunun toplam antioksidan kapasite (TAC) analizinde diğer elektron transferi (ET) yöntemlerinden ayırıcı avantajı pH’ın kolay ayarlanabilmesi, rejanların kolay kullanılabilmesi ve stabil olması, basit, düşük maliyetli olması ve hidrofilik antioksidanların yanında lipofilik antioksidanlara uygulanabilmesidir [125]. Cu (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite (CUPRAC) tayini yöntemi için

askorbik asit ve troloks standart referans maddeleri kullanılarak Şekil 4.49’da verilen kalibrasyon eğrileri elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre (Tablo 4.7), Cu (II) iyonunu indirgeyici antioksidan aktivite askorbik asit eşdeğeri çiçek, yaprak ve kök yağ numunelerinde sırasıyla 0,2054 µg/µl, 0,1917 µg/µl ve 0,2309 µg/µl olarak belirlenmiştir. Cu (II) iyonunu indirgeyici antioksidan aktivite troloks eşdeğeri çiçek, yaprak ve kök yağ numunelerinde sırasıyla 0,0005 µg/µl, 0,0005 µg/µl ve 0,0006 µg/µl olarak belirlenmiştir.

Primula vulgaris bitkisinden elde edilen kök, yaprak ve çiçek sabit yağlarının dimetil sülfoksit içerisinde hazırlanan 0,5 mg/ml çözeltilerinden 10 µl alınarak Folin-Ciocalteu (FCR) yöntemine göre toplam fenolik bileşik analizi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla Şekil 4.50’de verilen gallik asit standart kalibrasyon eğrisi oluşturulmuş ve kök, yaprak ve çiçek sabit yağlarının toplam fenolik madde miktarları belirlenmiştir. Tablo 4.8’de gallik asit eşdeğeri olarak verilen toplam fenolik madde miktarları incelendiğinde kök, yaprak ve çiçek sabit yağlarının sırasıyla 0,0099 µg/µl, 0,0094 µg/µl ve 0,0086 µg/µl belirlenmiştir.

Son olarak toplam flavonoid içerikleri tespit edilmiştir. Kuersetin standart referans maddesi kullanılarak standart kalibrasyon eğrisi (Şekil 4.51) oluşturulmuş ve toplam flavonoid içerikleri kuersetin eşdeğeri olarak hesaplanmıştır. Tablo 4.9’da verilen toplam flavonoid miktarlarına göre çiçek, yaprak ve kök yağ numunelerinde sırasıyla 0,1674 µg/µl, 0,2327 µg/µl ve 0,1831 µg/µl olarak tespit edilmiştir.

Kullanılan toplam fenolik madde, toplam flavonoid miktarı, DPPH radikali süpürme etkisi ve Cu (II) indirgeyici antioksidan kapasite yöntemleriyle elde edilen antioksidan özellikler değerlendirildiğinde DPPH yöntemi ile kök yağ numunesinde antioksidan miktarı troloks eşdeğeri 0,0407 µg/µl, toplam fenolik madde antioksidan miktarı gallik asit eşdeğeri kök yağ numunesinde 0,0099 µg/µl, toplam flavonoid antioksidan miktarı kuersetin eşdeğeri yaprak yağ numunesi 0,2327 µg/µl ve CUPRAC antioksidan kapasite kök yağ numunesinde 0,2309 µg/µl olarak maksimum antioksidan aktiviteler tespit edilmiştir. Tüm yöntemler kıyaslandığında 0,2327 µg/µl kuersetin eşdeğeri ile toplam flavonoid miktarı analizinde en yüksek antioksidan aktivite tespit edilmiştir.

6. KAYNAKLAR

- [1] B. Gülgün, C. Dağistanlı ve E. Aktaş, «Tıbbi Ve Aromatik Bitki Olarak da Kullanılan Bazı Süs Bitkileri ve Kullanım Alanları,» *Ziraat Mühendiliği*, cilt 353, pp. 22-27, 2009.
- [2] Ö. Göktaş ve B. Gıdık, «Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanım Alanları,» *Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, cilt 2, no. 1, pp. 136-142, 2019.
- [3] L. Nohutçu, M. Tunçtürk ve R. Tunçtürk, «Yabani Bitkiler ve Sürdürülebilirlik,» *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, cilt 24, no. 2, pp. 142-151, 2019.
- [4] S. Talreja ve S. Tiwari, «A Complete Overview On *Primula Vulgaris*,» *International Journal of Life science and Pharma Research*, cilt 13, no. 6, pp. 277-286, 2023.
- [5] E. Faydaoğlu ve M. S. Sürücüoğlu, «Geçmişten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanılması ve Ekonomik Önemi,» *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, cilt 11, no. 1, pp. 52-67, 2011.
- [6] K. Ok ve Y. Z. Tengiz, «Türkiye’de Odun Dışı Orman Ürünlerinin Yönetimi,» *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, cilt 21, no. 3, pp. 457-471, 2018.
- [7] U. Uzuner, «Kuzey Anadolu Doğal *Primula L.* (Primulaceae) Taksonlarının nrDNA ITS Bölgeleri Bakımından Karşılaştırılması,» *Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon*, 2006.
- [8] H. Jacquemyn, P. Endels, R. Brys, M. Hermy ve S. Woodell, «Biological Flora of the British Isles: *Primula vulgaris* Huds. (*P. acaulis* (L.) Hill),» *Journal of Ecology*, cilt 97, pp. 812-833, 2009.
- [9] M. G. Karlsson, «Flower Formation In *Primula vulgaris* Is Affected by Temperature, Photoperiod and Daily Light Integral,» *Scientia Horticulturae*, cilt 95, pp. 99-110, 2002.
- [10] M. Mizuhiro, K. Ito ve M. Mii, «Production and Characterization of Interspecific Somatic Hybrids Between *Primula malacoides* and *P. obconica*,» *Plant Science*, cilt 161, p. 489–496, 2001.
- [11] T. A. Butt, A. H. Ganie, A. A. Khuroo, R. Ahmad, N. Rasool ve S. Basharat, «New Distributional Record of *Primula atrodentata* W. W. Sm. from Ladakh Region and Assessment of Its Threat Status Across the Himalaya,» *Acta Ecologica Sinica*, cilt 41, pp. 183-188, 2021.
- [12] M. M. Abou-El-Enain, «Chromosomal Variability In the Genus *Primula* (Primulaceae),» *Botanical Journal of the Linnean Society*, cilt 150, pp. 211-219,

2005.

- [13] Ç. Kahraman, S. Sarı, E. Küpeli Akkol ve İ. Tatlı Çankaya, «Bioactive Saponins of *Primula vulgaris* Huds. Promote Wound Healing through Inhibition of Collagenase and Elastase Enzymes: in Vivo, in Vitro and in Silico Evaluations,» *Chemistry & Biodiversity*, cilt 19, no. 12, 2022.
- [14] E. Akkemik, «Çuha Çiçeği (*Oenothera biennis*) ve Tatlı Badem (*Prunus dulcis* Mill) Yağlarının Anti-enzim Aktivitelerinin Araştırılması,» *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, cilt 18, pp. 583-590, 2020.
- [15] H. Bulut, E. Ş. Teloğlu, H. Şentürk, S. Üstünova, Z. Güleken ve Ş. Selek, «Çuha Çiçeği ve Sarı Kantaron Yağlarının Multiple Skleroz Modeli Oluşturulmuş Farelerdeki JAK/STAT Sinyal Yolakları Üzerine Etkisi,» *Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, cilt 24, no. 1, pp. 225-235, 2022.
- [16] <https://www.talyabitkisel.com/ekstrakt-nedir> web adresinden 20.04.2024 tarihinde alınmıştır.. [Çevrimiçi].
- [17] B. Armendáriz-Barragán, N. Zafar, W. Badri, S. A. Galindo-Rodríguez, D. Kabbaj, H. Fessi ve A. Elaissari, «Plant Extracts: From Encapsulation to Application,» *Expert Opinion*, cilt 13, no. 8, pp. 1165-1175, 2016.
- [18] Ç. Zeybek Ünsal ve N. Örnek Büken, «Henrietta Lacks'in Ölümsüzlüğü: Tıp Tarihinin Gılgamış Destanı,» *Turkish Journal of Life Sciences (Türk Yaşam Bilimleri Dergisi)*, cilt 3, no. 2, pp. 248-254, 2018.
- [19] B. P. Lucey, W. A. Nelson-Rees ve G. M. Hutchins, «Henrietta Lacks, HeLa Cells, and Cell,» *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, cilt 133, pp. 1463-1467, 2009.
- [20] G. Dulkadir, «HeLa Hücre Hatlarında *Primula vulgaris* Ekstraktı Yüklü Gümüş Nanopartiküllerin BCL2, MDR1 ve p53 Gen Ekspresyon Seviyeleri Üzerine Etkisinin Araştırılması,» *Yüksek Lisans Tezi, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kırşehir*, 2021.
- [21] R. Aliyazıcıoğlu, Y. Aliyazıcıoğlu, S. Demir, İ. Turan ve S. Yaman, «*Primula vulgaris* Özü Tü İnsan Rahim Ağzı Kanseri Hücrelerinde Hücre Döngüsü Durmasını ve Apoptozu Tetikler,» *Journal of Pharmaceutical Analysis*, cilt 8, pp. 307-311, 2018.
- [22] N. Yaylı, G. Tosun, B. Yaylı, Z. Gündoğan, K. Coşkunçelebi ve Ş. Alpay Karaoğlu, «Altitude Variation in the Composition of Essential Oils, Fatty Acid Methyl Esters, and Antimicrobial Activities of Two Subspecies of *Primula vulgaris* Grown in Turkey,» *Natural Product Communications*, cilt 11, no. 10, pp. 1505-1510, 2016.
- [23] E. Vuko, D. Spahija, N. Bezic, M. Ruscic, V. Dunkic ve S. Topic, «Essential Oil Composition of *Primula veris* var. *columnnae*,» *Chemistry of Natural Compounds*, cilt 53, no. 2, pp. 386-387, 2017.

- [24] P. Nan, S. Peng, Y. Zhang ve Y. Zhong, «Composition of Volatile Oil of Primula Obconica in Central China,» *Natural Product Letters*, cilt 16, no. 4, pp. 249-253, 2002.
- [25] C. Turek ve F. Stintzing, «Stability of Essential Oils: A Review,» *Comprehensive Reviews*, cilt 12, no. 1, pp. 40-53, 2013.
- [26] N. Salih, B. M. Abdullah ve J. Salimon, «Hydrolysis Optimization and Characterization Study of Preparing Fatty Acids From Jatropha curcas Seed Oil,» *Chemistry Central Journal*, cilt 5, no. 67, pp. 1-9, 2011.
- [27] M. Bockisch, *Fats and Oils Handbook*, Chapter 5, The Extraction of Vegetable Oils, Hamburg, Germany: American Oil Chemists' Society Press, 1998.
- [28] M. D. Luque de Castro ve L. E. Garcia Ayuso, «Soxhlet Extraction,» *Environmental Applications*, pp. 2701-2705, 2000.
- [29] S. H. Mohd-Setapar, L. Nian-Yian ve N. S. Mohd-Sharif, «Extraction of Rubber (Hevea brasiliensis) Seed Oil Using Soxhlet Method,» *Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences*, cilt 10, no. 1, pp. 1-6, 2014.
- [30] C. H. Fornasari, D. Secco, R. Ferreira Santos, T. R. Benetoli da Silva, N. B. Galant Lenz, L. K. Tokura, M. L. Lenz, S. N. Melegari de Souza, L. A. Zanão Junior ve F. Gurgacz, «Efficiency of the Use of Solvents In Vegetable Oil Extraction at Oleaginous Crops,» *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, cilt 80, pp. 121-124, 2017.
- [31] E. Büyüktuncel, «Gelişmiş Ekstraksiyon Teknikleri I,» *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, cilt 32, no. 2, pp. 209-242, 2012.
- [32] G. S. Joy ve P. George, «Phytochemical Analysis of Alfalfa (Medicago sativa) Seed Extract by Soxhlet Extraction Using Different Solvents,» *American Journal of Advanced Drug Delivery*, cilt 2, no. 2, pp. 145-152, 2014.
- [33] B. Kılıçoğlu, «Taylara Oral Olarak Uygulanan Bitkisel Yağ Ekstraktı Karışımının (Nane, Kekik, Anason) İmmun Sistem Üzerine Etkisi,» *Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar*, 2015.
- [34] «<https://www.bioterraorganics.com/> web adresinden 10.05.2024 tarihinde alınmıştır».
- [35] T. K. Tiên Do, F. Hadji-Minaglou, S. Antoniotti ve X. Fernandez, «Authenticity of Essential Oils,» *Trends In Analytical Chemistry*, cilt 66, pp. 146-157, 2015.
- [36] Y. Mohammad, M. Rahimi-Nasrabadi, S. M. Pourmortazavi, M. Wysokowski, T. Jesionowski, H. Ehrlich ve S. Mirsadeghi, «Supercritical Fluid Extraction of Essential Oils,» *Trends in Analytical Chemistry*, cilt 118, pp. 182-193, 2019.
- [37] S. Burt, «Essential Oils: Their Antibacterial Properties and Potential Applications In Foods-A Review,» *International Journal of Food Microbiology*, cilt 94, pp. 223-253,

2004.

- [38] J. S. Raut ve S. M. Karuppaiyl, «A Status Review On The Medicinal Properties of Essential Oils,» *Industrial Crops and Products*, cilt 62, pp. 250-264, 2014.
- [39] B. Ali, N. A. Al-Wabel, S. Shams, A. Ahamad, F. Anwar ve S. A. Khan, «Essential Oils Used In Aromatherapy: A Systemic Review,» *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, cilt 5, no. 8, pp. 601-611, 2015.
- [40] A. de Sousa Barros, S. Maia de Moraes, P. A. Travassos Ferreira, I. G. Pinto Vieira, A. Aragão Craveiro, R. Oliveira dos Santos Fontanelle, J. E. Silva Alencar de Menezes, F. W. Ferreira da Silva ve H. Araújo de Souza, «Chemical Composition and Functional Properties of Essential Oils From Mentha Species,» *Industrial Crops and Products*, cilt 76, pp. 557-564, 2015.
- [41] J. Safaei-Ghomi ve A. Abbasi Ahd, «Antimicrobial and Antifungal Properties of The Essential Oil and Methanol Extracts of Eucalyptus largiflorens and Eucalyptus intertexta,» *Pharmacognosy Magazine*, cilt 6, no. 23, pp. 172-175, 2010.
- [42] A. Astani, J. Reichling ve P. Schnitzler, «Comparative Study on the Antiviral Activity of Selected Monoterpenes Derived from Essential Oils,» *Phytotherapy Research*, cilt 24, pp. 673-679, 2010.
- [43] J. Kaloustian, J. Chevalier, C. Mikail, M. Martino, L. Abou ve M. F. Vergnes, «Étude de Six Huiles Essentielles: Composition Chimique et Activité Antibactérienne,» *Phytothérapie*, cilt 3, no. 160-164, p. 6, 2008.
- [44] M. A. Farag, A. Reda, M. Nabeel, D. M. Elimam ve A. Zayed, «Evening Primrose Oil: A Comprehensive Review of Its Bio-Actives, Extraction, Analysis, Oil Quality, Therapeutic Merits, and Safety,» *Food & Function*, cilt 14, pp. 8049-8070, 2023.
- [45] B. Bayles ve R. Usatine, «Evening Primrose Oil,» *American Family Physician*, cilt 80, no. 12, pp. 1405-1408, 2009.
- [46] S. Toroğlu ve M. Çenet, «Tedavi Amaçlı Kullanılan Bazı Bitkilerin Kullanım Alanları ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi İçin Kullanılan Metodlar,» *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen ve Mühendislik Dergisi*, cilt 9, no. 2, pp. 12-20, 2006.
- [47] E. Keskin Uslu, «Soğuk Pres Teknolojisi: Soğuk Pres Yağ, Soğuk Pres Keki Eldesi ve Değerlendirilmesi,» *Çanakkale Onsekiz Mayıs Üniversitesi LJAR*, cilt 4, no. 8, pp. 58-66, 2023.
- [48] Y. İmer ve M. Taşar, «Çeşitli Soğuk Pres Yağların Bazı Mikro ve Makro Element İçeriklerinin Belirlenmesi,» *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, cilt 15, no. 1, pp. 14-25, 2018.
- [49] E. Yılmaz, B. Aydeniz, O. Güneşer ve E. S. Arsunar, «Sensory and Physico-Chemical Properties of Cold Press-Produced Tomato (Lycopersicon

- esculentum L.) Seed Oils,» *Journal of The American Oil Chemists*, cilt 92, no. 6, pp. 833-842, 2015.
- [50] O. Sevindik ve S. Selli, «Üzüm Çekirdek Yağı Eldesinde Kullanılan Ekstraksiyon Yöntemleri,» *Gıda-The Journal of Food*, cilt 42, no. 1, pp. 95-103, 2017.
- [51] T. G. Kemper, W. Hamm, R. J. Hamilton ve G. Calliau, «Chapter 4-Solvent Extraction,» %1 içinde *Edible Oil Processing*, Hoboken, NJ, USA, Wiley-Blackwell, 2013, pp. 97-125.
- [52] A. Rajaei, M. Barzegar ve Y. Yamini, «Supercritical Fluid Extraction of Tea Seed Oil and Its Comparison With Solvent Extraction,» *European Food Research and Technology*, cilt 220, pp. 401-405, 2005.
- [53] H. Yılmaz, «Origanum L. Cinsi Brevifilamentum Seksiyonu Türlerinin Fitokimyasal Analizleri ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları,» *Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir*, 2018.
- [54] M. Bağırhan, «Ornithogalum sigmoideum Bitkisinin Uçucu Yağ ve Kloroform Ekstraktının GC-MS Analizi,» *Yüksek Lisans Tezi, Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Giresun*, 2014.
- [55] W. Pensuk, T. Padumanonda ve C. Pichaensoonthon, «Comparison of The Chemical Constituents In Michelia alba Flower Oil Extracted by Steam Distillation, Hexane Extraction and Enfleurage Method,» *Journal of Thai Traditional & Alternative Medicine*, cilt 5, no. 1, pp. 30-39, 2007.
- [56] S. N. Şenol Yazkan ve M. Hendek Ertop, «Maserasyon, Refluks ve Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon Yöntemleri İle Üretilen Kestane Propolis Ekstraktlarının Farklı Gıda Modellerinde Kullanımı: Fizikokimyasal, Duyusal ve Biyoaktif Niteliklere Etkisi,» *Food and Health*, cilt 10, no. 1, pp. 22-39, 2024.
- [57] M. Yüngül, B. Altınterim ve M. Dörücü, «The Investigation of Antibacterial Effects of Macerated and Distilled Oil Obtained from Endemic Plants Against Yersinia ruckeri with Aromatogram Method,» *Bilim ve Gençlik Dergisi*, cilt 2, no. 2, pp. 1-7, 2014.
- [58] A. Korkut Altıntaş ve H. Kuleaşan, «Soğuk Sıkma ve Soğuk Maserasyon Yöntemiyle Elde Edilen Bitki Ekstraktlarının Yaygın Patojenler Üzerindeki Etkileri,» *Gıda-The Journal of Food*, cilt 45, no. 1, pp. 161-170, 2020.
- [59] K. Cellat, «Bazı Endemik Bitkilerin Uçucu Yağ Bileşenlerinin Ekstrakte Edilmesi ve İçeriklerinin Araştırılması,» *Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana*, 2011.
- [60] W. Paibon, C. A. Yimnoi, N. Tembap, W. Boonlue, K. Jampachaisri, N. Nuengchamng, N. Waranuch ve K. Ingkaninan, «Comparison and Evaluation of Volatile Oils from Three Different Extraction Methods for Some Thai Fragrant Flowers,» *International Journal of Cosmetic Science*, cilt 33, no. 2, pp. 150-156,

2011.

- [61] E. Şengezer ve T. Güngör, «Esansiyel Yağlar ve Hayvanlar Üzerindeki Etkileri (Derleme),» *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, cilt 48, no. 2, pp. 101-110, 2008.
- [62] N. Kurt ve İ. Tatlı Çankaya, «Aromaterapi Uygulamaları ve Uçucu Yağlar,» *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Dergisi*, cilt 11, no. 2, pp. 230-241, 2021.
- [63] R. Ye, K. Tian, H. Hu, P. Li ve X. Tian, «Extraction Process Optimization of Essential Oil from *Melissa officinalis* L. Using A New Ultrasound-Microwave Hybrid-Assisted Clevenger Hydrodistillation,» *Industrial Crops and Products*, cilt 203, p. 117165, 2023.
- [64] G. O. de Elguea-Culebras, L. A. Panamá-Tapia, E. Melero-Bravo, N. Cerro-Ibanez, A. Calvo-Martínez ve R. Sanchez-Vioque, «Comparison of The Phenolic Composition and Biological Capacities of Wastewater from *Origanum vulgare* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Salvia lavandulifolia* Vahl. and *Thymus mastichina* L. Resulting from Two Hydrodistillation Systems: Clevenger and MAE,» *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, cilt 34, p. 100480, 2023.
- [65] S. Hasanvandi, E. Neisi ve M. H. Meshkat, «Comparative Analysis of Essential Oils from Two *Satureja* species; Extraction Methods, Chemical Composition, and Antimicrobial Activities,» *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, cilt 50, p. 102731, 2023.
- [66] W. Dhifi, S. Bellili, S. Jazi, N. Bahloul ve W. Mnif, «Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review,» *Medicines*, cilt 3, no. 4, p. 25, 2016.
- [67] A. Kılıç, «Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri,» *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, cilt 10, no. 13, pp. 37-45, 2008.
- [68] D. Kaya ve P. Ergönül, «Uçucu Yağları Elde Etme Yöntemleri,» *Gıda-The Journal of Food*, cilt 40, no. 5, pp. 303-310, 2015.
- [69] B. Gıdık, H. Serencam, V. Gül ve A. Sefalı, *Tıbbi ve Aromatik Bitkiler: Uçucu Yağlı Bitkiler*, İksad Publishing House, 2018.
- [70] I. M. Mujtaba, *Batch Distillation Design and Operation*, Series on Chemical Engineering Vol. 3, London, 4-10: Imperial College Press, 2004.
- [71] P. Masango, «Cleaner Production of Essential Oils by Steam Distillation,» *Journal of Cleaner Production*, cilt 13, no. 8, pp. 833-839, 2005.
- [72] H. F. Linskens ve J. F. Jackson, *Modern Methods of Plant Analysis*, Vol. 12: *Essential Oils and Waxes*, Springer, Germany, 1997.

- [73] Ü. Tuğlu, H. Baydar ve S. Erbaş, «Distilasyon Yöntemlerinin, Sürelerinin ve Fraksiyonlarının Kekik (*Origanum onites* L.) Uçucu Yağ Oranları ve Bileşenleri Üzerine Etkisi,» *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, cilt 11, no. 4, pp. 3195-3202, 2021.
- [74] H. C. Başer, A. G. Gülbaba, N. Azcan, M. Kara, N. Kırimer, M. Kürkçüoğlu, T. Özek ve N. Özkurt, «Türkiye’de Yetiştirilen Bazı Okaliptüs (*Eucalyptus*) Türlerinin Uçucu Yağ Verim Ve Bileşimlerinin Ve Üretim Teknolojilerinin Belirlenmesi,» *Orman Bakanlığı Doğu Akdeniz Ormanlık Araştırma Enstitüsü, Tarsus, Teknik Bülten No: 7*, cilt 84, no. 11.
- [75] I. Asofiei, I. Calinescu, A. I. Gavrilă, D. Ighigeanu, D. Martin ve C. Matei, «Microwave Hydrodiffusion and Gravity, A Green Method for The Essential Oil Extraction from Ginger-Energy Considerations,» *University Politehnica of Bucharest Scientific Bulletin Series B: Chemistry and Materials Science*, cilt 79, no. 4, pp. 81-92, 2017.
- [76] G. Ç. Dülger, Ü. Geçgel ve E. Culpan, «Mikrodalga Ekstraksiyon Yöntemiyle Uçucu Yağ Eldesi,» %1 içinde *Proceedins Book of International Eurasian Congress on Natural Nutrition & Healthy Life*, Ankara, 2018.
- [77] G. A. Cardoso-Ugarte, G. P. Juárez-Becerra, M. E. Sosa-Morales ve A. López-Malo, «Microwave-assisted Extraction of Essential Oils from Herbs,» *Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy*, cilt 47, no. 1, pp. 63-72, 2016.
- [78] N. Joshee, S. A. Dhekney ve P. Parajuli, *Medicinal Plants From Farm to Pharmacy*, Cham: Springer Nature Switzerland AG, 2019.
- [79] R. Paduch, M. Kandefér-Szerszeń, M. Trytek ve J. Fiedurek, «Terpenes: Substances Useful In Human Healthcare,» *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, cilt 55, pp. 315-327, 2007.
- [80] C. C. de Carvalho ve M. M. R. da Fonseca, «Biotransformation of Terpenes,» *Biotechnology Advances*, cilt 24, pp. 134-142, 2006.
- [81] T. J. Maimone ve P. S. Baran, «Modern Synthetic Efforts Toward Biologically Active Terpenes,» *Nature Chemical Biology*, cilt 3, no. 7, pp. 396-407, 2007.
- [82] A. Masyita, R. M. Sari, A. D. Astuti, B. Yasir, N. R. Rumata, T. Bin Emran, F. Nainu ve J. Simal-Gandara, «Terpenes and Terpenoids As Main Bioactive Compounds of Essential Oils, Their Roles In Human Health and Potential Application As Natural Food Preservatives,» *Food Chemistry: X*, cilt 13, p. 100217, 2022.
- [83] Ö. Erken, «Mannich Reaksiyonunun Bazı Ketonlara Uygulanması,» *Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, İstanbul*, 2018.
- [84] K. S. Fritz ve D. R. Petersen, «An Overview of The Chemistry and Biology of

- Reactive Aldehydes,» *Free Radical Biology and Medicine*, cilt 59, pp. 85-91, 2013.
- [85] M. G. Di Pasquale, «The Essentials of Essential Fatty Acids,» *Journal of Dietary Supplements*, cilt 6, no. 2, pp. 143-161, 2009.
- [86] H. Eseceli, A. Değirmencioğlu ve R. Kahraman, «Omega Yağ Asitlerinin İnsan Sağlığı Yönünden Önemi,» *Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bolu*, pp. 403-406, 2006.
- [87] S. Çakmakçı ve D. Tahmas Kahyaoğlu, «Yağ Asitlerinin Sağlık ve Beslenme Üzerine Etkileri,» *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, cilt 5, no. 2, pp. 133-137, 2012.
- [88] H. Salihoğlu, «Yeni Beta-Amino Alkollerin Sentezi ve Karakterizasyonu,» *Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, İstanbul*, 2020.
- [89] M. Kartal, İ. Demirbolat ve F. Demirci, «Avrupa Farmakopesinde Bulunan Uçucu Yağlar ve Aromaterapide Klinik Kullanımları,» *Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp-Aromaterapi*, pp. 26-42, 2021.
- [90] S. Çevik, «Aromatik Bitkilerden Uçucu Yağ Üretimi İçin Buhar Distilasyonu Optimizasyonu,» *Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara*, 2021.
- [91] P. Sumithran ve J. Proietto, «Ketogenic Diets for Weight Loss: A Review of Their Principles, Safety and Efficacy,» *Obesity Research & Clinical Practice*, cilt 2, no. 1, pp. 1-13, 2008.
- [92] T. Kolaç, P. Gürbüz ve G. Yetiş, «Doğal Ürünlerin Fenolik İçeriği ve Antioksidan Özellikleri,» *İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Dergisi*, cilt 5, no. 1, pp. 26-42, 2017.
- [93] J. P. Spencer, «Flavonoids: Modulators of Brain Function?,» *British Journal of Nutrition*, cilt 99, no. E-S1, pp. ES60-ES77, 2008.
- [94] S. Karakaya ve S. N. El, «Flavonoidler ve Sağlık,» *Beslenme ve Diyet Dergisi*, cilt 26, no. 2, pp. 54-60, 1997.
- [95] M. Atınç ve İ. Kalkan, «Flavonoidler ve Sağlık Üzerine Etkileri,» *Aydın Gastronomy*, cilt 2, no. 1, pp. 31-38, 2018.
- [96] L. Lebanov, S. Chatterjee, L. Tedone, S. C. Chapman, M. R. Linford ve B. Paull, «Comprehensive Characterisation of Ylang-Ylang Essential Oils According to Distillation Time, Origin, and Chemical Composition Using a Multivariate Approach Applied to Average Mass Spectra and Segmented Average Mass Spectral Data,» *Journal of Chromatography A*, cilt 1618, p. 460853, 2020.
- [97] A. Amirav, A. B. Fialkov ve T. Alon, «What Can Be Improved In GC-MS-When Multi Benefits Can Be Transformed into a GC-MS Revolution,» *International Journal of Analytical Mass Spectrometry and Chromatography*, cilt 1, no. 01, pp. 31-

47, 2013.

- [98] J. M. Amigo, T. Skov, J. Coello, S. Maspoch ve R. Bro, «Solving GC-MS Problems with PARAFAC2,» *Trends in Analytical Chemistry*, cilt 27, no. 8, pp. 714-725, 2008.
- [99] A. F. Al-Rubaye, I. H. Hameed ve M. J. Kadhim, «A Review: Uses of Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) Technique for Analysis of Bioactive Natural Compounds of Some Plants,» *International Journal of Toxicological and Pharmacological Research*, cilt 9, no. 1, pp. 81-85, 2017.
- [100] L. Lebanov, A. Ghiasvand ve B. Paull, «Data Handling and Data Analysis In Metabolomic Studies of Essential Oils Using GC-MS,» *Journal of Chromatography A*, cilt 1640, p. 461896, 2021.
- [101] Y.-Y. Zhang, Q. Zhang, Y.-M. Zhang, W.-W. Wang, L. Zhang, Y.-J. Yu, C.-C. Bai, J.-Z. Guo, H.-Y. Fu ve Y. She, «A Comprehensive Automatic Data Analysis Strategy for Gas Chromatography-Mass Spectrometry Based Untargeted Metabolomics,» *Journal of Chromatography A*, cilt 1616, p. 460787, 2020.
- [102] J. Chen, C. Tang, R. Zhang, S. Ye, Z. Zhao, Y. Huang, X. Xu, W. Lan ve D. Yang, «Metabolomics Analysis to Evaluate The Antibacterial Activity of The Essential Oil from The Leaves of *Cinnamomum camphora* (Linn.) Presl,» *Journal of Ethnopharmacology*, cilt 253, p. 112652, 2020.
- [103] D. R. Das, A. K. Sachan, M. Shuaib ve M. Imtiyaz, «Chemical Charecterization of Volatile Oil Components of *Citrus reticulata* By GC-MS Analysis,» *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, cilt 3, no. 7, pp. 1197-1204, 2014.
- [104] G. Güneş, «*Primula vulgaris* subs. *sibthorpii* Bitkisinin Toprak Üstü Kısımlarının Uçucu Yağ ve Çözücü Ekstraktının GC/MS Analizi,» *Yüksek Lisans Tezi, Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Giresun*, 2016.
- [105] V. De Feo, F. De Simone ve F. Senatore, «Potential Allelochemicals from The Essential Oil of *Ruta graveolens*,» *Phytochemistry*, cilt 61, pp. 573-578, 2002.
- [106] S. Montserrat-de la Paz, M. A. Fernandez-Arche, M. Angel-Martin ve M. D. Garcia-Gimenez, «Phytochemical Characterization of Potential Nutraceutical Ingredients from Evening Primrose Oil (*Oenothera biennis* L.),» *Phytochemistry Letters*, cilt 8, pp. 158-162, 2014.
- [107] D. Villano, M. S. Fernandez-Pachon, M. L. Moya, A. M. Troncoso ve M. C. Garcia-Parrilla, «Radical Scavenging Ability of Polyphenolic Compounds Towards DPPH Free Radical,» *Talanta*, cilt 71, pp. 230-235, 2007.
- [108] N. Noguchi, A. Watanabe ve H. Shi, «Diverse Functions of Antioxidants,» *Free Radical Research*, cilt 33, no. 6, pp. 809-817, 2000.
- [109] V. Lobo, A. Patil, A. Phatak ve N. Chandra, «Free Radicals, Antioxidants and

- Functional Foods: Impact on Human Health,» *Pharmacognosy Reviews*, cilt 4, no. 8, pp. 118-126, 2010.
- [110] L. Baroni, A. R. Sarni ve C. Zuliani, «Plant Foods Rich In Antioxidants and Human Cognition: A Systematic Review,» *Antioxidants*, cilt 10, no. 5, p. 714, 2021.
- [111] M. Burits ve F. Bucar, «Antioxidant Activity of Nigella sativa Essential Oil,» *Phytotherapy Research*, cilt 14, no. 5, pp. 323-328, 2000.
- [112] A. Lupitu, D. Tomescu, C. A. Mot, C. Moisa, D. M. Copolovici ve L. Copolovici, «Variation In Phenolic Content and Antioxidant Activity of Different Plant Parts of *Primula veris*,» *Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies*, cilt 22, pp. 50-53, 2018.
- [113] M. N. Aslan Öz, «Balıkesir Yöresinde Doğal Olarak Yetişen Biberiye ve Fesleğen Bitkilerine Ait Uçucu Yağların Antioksidan ve Antimikotik Özelliklerinin Belirlenmesi,» *Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Tekirdağ*, 2017.
- [114] Ç. Karapınar ve M. Öz, «Chemical Content of Volatile Oil of *Primula veris* subsp. *columnae*, Obtaining The Methanol Extracts and Their Biological Activities,» *BioResources*, cilt 18, no. 3, pp. 4475-4491, 2023.
- [115] P. Kaur, S. S. Purewal, K. S. Sandhu ve M. Kaur, «DNA Damage Protection: An Excellent Application of Bioactive Compounds,» *Bioresources and Bioprocessing*, cilt 6, no. 2, pp. 1-11, 2019.
- [116] İ. Turan, D. Canbolat, S. Demir, G. Kerimoğlu, F. Çolak, N. Türkmen Alemdar, A. Menteşe ve Y. Aliyazıcıoğlu, «The Ameliorative effect of *Primula vulgaris* on Cisplatin-Induced Nephrotoxicity In Rats and Quantification of Its Phenolic Components Using LC-ESI-MS/MS,» *Saudi Pharmaceutical Journal*, cilt 31, no. 9, p. 101730, 2023.
- [117] E. Menteşe, F. Yılmaz, N. Baltaş, O. Bekircan ve B. Kahveci, «Synthesis and Antioxidant Activities of Some New Triheterocyclic Compounds Containing Benzimidazole, Thiophene, and 1,2,4-Triazole Rings,» *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, cilt 30, no. 3, pp. 435-441, 2014.
- [118] M. T. Özkan, R. Aliyazıcıoğlu, S. Demir, S. Mısır, İ. Turan, S. Yıldırım ve Y. Aliyazıcıoğlu, «Phenolic Characterisation and Antioxidant Activity of *Primula vulgaris* and Its Antigenotoxic Effect on Fibroblast Cells,» *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, cilt 12, no. 1, p. e40073, 2017.
- [119] E. Akkemik, M. Fidan, M. Balaban ve B. İnal, «ICP-OES and LC-ESI-MS/MS Analyses, Enzyme Inhibition and DNA Protection Potential of *Pelargonium quercetorum* Agnew,» *Studia Universitatis Babeş-Bolyai, Chemia*, cilt 67, no. 4, pp. 197-213, 2022.
- [120] S. Yardan, «Asetoguanamin Taç Eterlerin Mikrodalga Yöntemiyle Sentezi ve

Karakterizasyonu,» *Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir, 2023.*

- [121] O. Özdemir, N. Yılmaz, M. Gök ve M. O. Kaya, «Determination of Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Lavandula angustifolia* Volatile Oil,» *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, cilt 9, no. 3, pp. 265-273, 2022.
- [122] R. Apak, K. Güçlü, M. Özyürek ve S. E. Karademir, «Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability In The Presence of Neocuproine: CUPRAC Method,» *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, cilt 52, no. 26, pp. 7970-7981, 2004.
- [123] İ. Gülçin, E. Kireççi, E. Akkemik, F. Topal ve O. Hisar, «Antioxidant, Antibacterial, and Anticandidal Activities of An Aquatic Plant: Duckweed,» *Turkish Journal of Biology*, cilt 34, no. 2, pp. 175-188, 2010.
- [124] İ. Tegin, E. Yabalak, B. Sadık ve M. Fidan, «Evaluation of Chemical Content and Radical Scavenging Activity of *Allium Vineale* L. Extract and Its Elemental Analysis,» *Rev. Roum. Chim*, cilt 64, no. 8, pp. 673-679, 2019.
- [125] M. Özyürek, K. Güçlü ve R. Apak, «The Main and Modified CUPRAC Methods of Antioxidant Measurement,» *TrAC Trends In Analytical Chemistry*, cilt 30, no. 4, pp. 652-664, 2011.
- [126] F. G. Pan, X. M. Chen, Y. Pang, E. Q. Yang, S. Y. Wang, Y. F. Wang ve B. Q. Liu, «Characterization of Volatile Compounds In Evening Primrose Oil After γ -Irradiate,» *Flavour and Fragrance Journal*, cilt 37, no. 3, pp. 181-191, 2022.
- [127] M. Tekin, «*Phytolacca americana* L. Bitkisinin Meyve, Yaprak ve Gövde Kısımlarının Esansiyel Yağ ve Çözücü Ekstraktının GC-MS Analizi,» *Yüksek Lisans Tezi, Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Giresun, 2017.*
- [128] F. G. Boztaş, «Bazı Terpenlerin Tetrasiyanoetilen (TCNE) Katalizörlüğünde Alkoliz Reaksiyonları ve Stereokimyaların İncelenmesi,» *Yüksek Lisans Tezi, Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kocaeli, 2012.*
- [129] S. Gümüş, «*Achillea cucullata* (Hausskn.) Bornm. Bitkisinin Fitokimyasal İncelenmesi,» *Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü Analitik Kimya Ana Bilim Dalı Genel Kimya Birimi, 1990.*
- [130] A. Ayaz, «*Sideritis hololeuca* Boiss. & Heldr. apud Bentham ve *Sideritis libanotica* Labill. subsp. *violascens* Ekstraktlarının Antibakteriyel Aktivitelerinin Belirlenmesi,» *Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Konya, 2008.*
- [131] G. Tiring, S. Satar ve O. Özkaya, «Sekonder Metabolitler,» *Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, cilt 35, no. 1, pp. 203-215, 2021.

- [132] G. Zhang, W. S. Zhang, X. Y. Wang, Y. Yang, D. W. Ji, B. Wan ve Q. A. Chen, «Ni-catalyzed Unnatural Prenylation and Cyclic Monoterpenation of Heteroarenes with Isoprene,» *Chinese Journal of Catalysis*, cilt 49, pp. 123-131, 2023.
- [133] A. Yürüker, «*Viburnum orientale* Pallas Üzerinde Fitokimyasal Araştırmalar,» *Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara*, 1993.
- [134] M. N. Gould, «Cancer Chemoprevention and Therapy by Monoterpenes,» *Environmental Health Perspectives*, cilt 105, no. 4, pp. 977-979, 1997.
- [135] M. Kürkçüoğlu, «Türk Gül Yağı, Koncreti ve Absolüsünün Üretimi ve Özellikleri,» *Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir*, 1995.
- [136] G. Rücker, «Sesquiterpenes,» *Angewandte Chemie International Edition in English*, cilt 12, no. 10, pp. 793-806, 1973.
- [137] I. Merfort, «Review of The Analytical Techniques for Sesquiterpenes and Sesquiterpene Lactones,» *Journal of Chromatography A*, cilt 967, no. 1, pp. 115-130, 2002.
- [138] B. Şener, T. Baykal, S. Köniköl ve F. Bingöl, «Diterpenler ve Biyolojik Aktiviteleri,» *Farmasötik Bilimler Ankara Derneği-FABAD Farm. Bil. Der.*, cilt 14, pp. 94-104, 1989.
- [139] H. Gürsul, «Yabani Pancar (*Beta maritima* L. var. *pilosa* Del.) Bitkisinin Sekonder Metabolitlerinin Yapı Tayini ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi,» *Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*, 2015.
- [140] P. Dzubak, M. Hajdich, D. Vydra, A. Hustova, M. Kvasnica, D. Biedermann, L. Markova, M. Urban ve J. Sarek, «Pharmacological Activities of Natural Triterpenoids and Their Therapeutic Implications,» *Natural Product Reports*, cilt 23, no. 3, pp. 394-411, 2006.
- [141] Z. Sağır, «Türkiye’de Yetişen Endemik *Sideritis* L. Türlerinin (*Sideritis Pisidica* Boiss. et Heldr. Apud Bentham, *S. phrygia* Bornm., *S. brevibracteata* P. H. Davis) Fitokimyasal Analizleri,» *Doktora Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir*, 2016.
- [142] B. Kiraz Kınoğlu, «*Satureja pilosa* ve *Satureja icarica* Bitkilerinin Sekonder Metabolitlerinin ve Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi,» *Yüksek Lisans Tezi, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognosi ve Doğal Ürünler Kimyası Anabilim Dalı, İstanbul*, 2021.
- [143] B. Laribi, K. Kouki, T. Bettaieb, A. Mougou ve B. Marzouk, «Essential Oils and Fatty Acids Composition of Tunisian, German and Egyptian Caraway (*Carum carvi* L.) Seed Ecotypes: A Comparative Study,» *Industrial Crops and Products*, cilt 41, pp. 312-318, 2013.

- [144] J. Ródenas-Montano, E. J. Carrasco-Correa, M. Beneito-Cambra, G. Ramis-Ramos ve J. M. Herrero-Martínez, «Determination of Alcohols In Essential Oils by Liquid Chromatography with Ultraviolet Detection After Chromogenic Derivatization,» *Journal of Chromatography A*, cilt 1296, pp. 157-163, 2013.
- [145] S. Mondal ve S. T. Rahaman, «Flavonoids: A Vital Resource In Healthcare and Medicine,» *Pharmacy & Pharmacology International Journal*, cilt 8, no. 2, pp. 91-104, 2020.
- [146] M. Viuda-Martos, E. Sendra, J. A. Pérez-Alvarez, J. Fernández-López, M. Amensour ve J. Abrini, «Identification of Flavonoid Content and Chemical Composition of the Essential Oils of Moroccan Herbs: Myrtle (*Myrtus communis* L.), Rockrose (*Cistus ladanifer* L.) and Montpellier cistus (*Cistus monspeliensis* L.),» *Journal of Essential Oil Research*, cilt 23, no. 2, pp. 1-9, 2011.
- [147] R. Wang, R. Wang ve B. Yang, «Extraction of Essential Oils from Five Cinnamon Leaves and Identification of Their Volatile Compound Compositions,» *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, cilt 10, pp. 289-292, 2009.