

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İSTANBUL SİLİVRİ VE İZMİR MENEMEN BÖLGESİNDE KÜLTÜRÜ
YAPILAN *HELICHRYSUM ITALICUM*(ROTH) GUSS. DON. BİTKİSİNİN
UÇUCU YAĞI VE SIVI EKSTRELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Gamze KILIÇASLAN**

Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Anabilim Dalı

Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Murat KARTAL

OCAK 2020

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İSTANBUL SİLİVRİ VE İZMİR MENEMEN BÖLGESİNDE KÜLTÜRÜ
YAPILAN *HELICHRYSUM ITALICUM*(ROTH) GUSS. DON. BİTKİSİNİN
UÇUCU YAĞI VE SIVI EKSTRELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Gamze KILIÇASLAN
(161005003)**

Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Anabilim Dalı

Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Murat KARTAL

OCAK 2020

Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün 161005003 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Gamze KILIÇASLAN, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "İSTANBUL-SİLİVRİ VE İZMİR MENEMEN BÖLGESİNDE KÜLTÜRÜ YAPILAN *HELICHRYSUM ITALICUM* (ROTH) G. DON BİTKİSİNİN UÇUCU YAĞI VE SIVI EKSTRELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI" başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Prof. Dr. Murat KARTAL**
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Gülaçtı TOPÇU**
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Prof. Dr. Nur TAN
İstanbul Üniversitesi

Teslim Tarihi : 13 Mart 2020
Savunma Tarihi : 20 Ocak 2020



Eşime, oğluma ve tüm aileme...

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tez danışmanlığım süresince bilgisinden ve deneyimlerinden yararlandığım saygıdeğer hocam sayın Prof. Dr. Murat KARTAL'a bana desteği için teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans proğmanına başladığımda benimle tüm bilgilerini cömertçe paylaşip kendimi geliştirmeme vesile olan saygıdeğer hocam Prof. Dr. Gülaçtı TOPÇU'ya teşekkürlerimi sunarım.

Uçucu yağ ekstraksiyonu aşamasında benden desteğini esirgemeyen sevgili Nihal ZORLU'ya, GC-MS analizlerimi yapan Arge şefi İlker DEMİRBOLAT'a ve tüm Bezmialem Fitoterapi Eğitim, Uygulama ve Araştırma Merkezi (BİTEM) çalışanlarına teşekkür ederim.

Hayatımın tüm evrelerinde olduğu gibi tez çalışmam boyunca da benden desteğini esirgemeyen, yanımda olduklarını her zaman hissettiğim başta sevgili eşime, değerli aile büyüklerime, motivasyon kaynağım olan oğluma ve tüm dostlarıma desteğiniz için sonsuz teşekkür ederim.

Ocak 2020

Gamze Kılıçaslan
(Kimyager)

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.



Gamze Kılıçaslan

İmza

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	iv
BEYAN.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR	viii
SEMBOLLER	ix
TABLO LİSTESİ.....	x
ŞEKİL LİSTESİ.....	xi
ÖZET.....	xii
SUMMARY	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1 Tezin Amacı.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Türün Sistematikteki Yeri.....	3
2.1.1 Taksonomik bilgiler	3
2.1.2 Asteraceae (Compositae) familyası.....	4
2.1.3 <i>Helichrysum</i> bitkisinin genel özellikleri ve yapılan çalışmalar	5
2.1.4 <i>Helichrysum</i> bitkisinin Türkiye’de bulunan taksonları.....	7
2.1.5 <i>Helichrysum italicum</i> bitkisinin genel özellikleri	11
2.2 <i>Helichrysum</i> bitkisinin halk arasında kullanımı.....	14
2.3 <i>Helichrysum italicum</i> ile yapılan kimyasal araştırmalar, aktivite çalışmaları ve ürünler	15
2.3.1 Uçucu yağ üzerine yapılan çalışmalar.....	15
2.3.2 Biyolojik aktivite çalışmaları	21
2.3.3 Fitokimyasal çalışmalar	23
2.3.4 <i>Helichrysum italicum</i> bitkisinin aromaterapi’de kullanımı	23
2.3.5 <i>Helichrysum italicum</i> bitkisinin kozmetik ürünlerdeki yeri.....	24
2.4 Sekonder metabolitler	27
2.4.1 Terpenler	29
2.4.1.1 Hemiterpenler.....	31
2.4.1.2 Monoterpenler	31
2.4.1.3 Seskiterpenler	31
2.4.1.4 Diterpenler.....	32
2.4.2 Terpenlerin esans sektöründeki yeri.....	32
2.5 Antioksidanlar	33
2.5.1 Antioksidanların etki mekanizmaları	36
2.5.2 Antioksidanların sınıflandırılması.....	37

2.5.2.1 Birincil antioksidanlar	38
2.5.2.2 İkincil antioksidanlar	40
2.6 Uçucu yağların elde edilme yöntemleri	41
2.6.1 Su buharı destilasyonu	41
2.6.2 Hidro destilasyon	41
2.7 Uçucu yağların analiz yöntemleri	43
2.7.1 Gaz kromatografisi kütle spektroskopisi.....	43
2.7.1.1 GC/MS çalışma prensibi	43
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	44
3.1 Bitkisel Materyal	44
3.2 Kimyasal maddeler, çözücüler ve çözeltiler	45
3.2.1 Kimyasal maddeler ve çözücüler	45
3.2.2 Kullanılan cihazlar	45
3.3 Çözeltilerin hazırlanması	46
3.3.1 Toplam fenolik miktar tayininde kullanılan ekstre ve çözeltiler	46
3.3.2 Toplam flavanoid miktar tayininde kullanılan ekstre ve çözeltiler.....	48
3.3.3 Antioksidan aktivite tayin yönteminde kullanılan çözeltiler	49
3.4 Toplam fenolik ve toplam flavanoid miktar tayin yöntemleri	51
3.4.1 Toplam fenolik miktar tayini yöntemi	51
3.4.1.1 Folin Ciocalteau yöntemi	51
3.4.2 Toplam flavanoid miktar tayini yöntemi	51
3.4.2.1 Alüminyum klorür kolorimetrik yöntemi	51
3.5 Antioksidan aktivite tayin yöntemleri.....	51
3.5.1 Dpph serbest radikal giderimi aktivitesi yöntemi	52
3.6 Spektroskopik yöntemler	52
3.6.1 Elisa spektroskopisi.....	52
3.7 Kromatografik yöntemleri.....	52
3.7.1 Gaz kromatografisi.....	52
4. DENEYSEL BÖLÜM.....	54
4.1 Bitkilerin Ekstre edilmesi.....	54
4.1.1 Ekstrelerin toplam fenolik ve toplam flavanoid miktarlar tayini	56
4.1.1.1 Toplam fenolik miktar tayini	58
4.1.1.2 Toplam flavanoid miktar tayini.....	58
4.2 Uçucu yağ elde edilmesi	58
4.3 Antioksidan aktivite yöntemleri.....	59
4.3.1 Dpph serbest radikal giderim aktivitesinin belirlenmesi.....	59
5. BULGULAR	61
5.1 Ekstrelerin Toplam Fenolik Ve Toplam Flavonoit Analizlerinin Bulguları.....	61
5.1.1 Total fenolik madde miktarı tayini analiz bulguları.....	61
5.1.2 Total flavanoit madde miktarı tayini analiz bulguları.....	61
5.2 Ekstrelerin antioksidan aktivite sonuçları	63
5.2.1 Dpph serbest radikal giderim aktivitesi sonuçları	63
5.3 Uçucu yağ GC/MS analiz sonuçları	63
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	70
KAYNAKLAR	74
ÖZGEÇMİŞ.....	79

KISALTMALAR

BHA	: Bütillenmiş hidroksi anisol
BHT	: Bütillenmiş hidroksi tolüen
CCl4	: Karbon tetraklorür
DPPH	: 2,2- difenil-1-pikrilhidrazil
E	: Endemik
EtOH	: Etanol
FCR	: Folin-Ciocalteu reaktifi
Gly	: Gliserin
H₂O	: Su
İÇ	: İzmir çiçek
İTÜ	: İzmir toprak üstü
pH	: Hidrojen gücü
SÇ	: Silivri çiçek
STD	: Silivri toprak üstü
UV-VIS	: Ultraviyole görünür bölge

SEMBOLLER

cm	: santimetre
g	: gram
mg	: miligram
ml	: militre
µl	: mikro litre



TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1 : <i>Helichrysum</i> cinsi bitkinin Türkiye'de bulunan taksonları.....	7
Tablo 2.2 : İlgili kaynaktan alınan GC/MS analiz sonuçları.....	17
Tablo 2.3 : <i>Helichrysum italicum</i> bitkisinin uçucu yağının analiz sonuçları.....	19
Tablo 2.4 : <i>Helichrysum italicum</i> bitkisinin aromaterapi'de kullanımı	24
Tablo 2.5 : Avrupa ticari olarak kullanımına izin verilen 12 <i>Helichrysum italicum</i> bitkisinden elde edilen hammaddeler ve kullanım alanları.....	26
Tablo 2.6 : Karbon sayısına göre (n) terpenlerin sınıflandırılması.	30
Tablo 2.7 : Terpenlerin koku tiplerine örnekler	33
Tablo 2.8 : Oksidatif strese neden olan reaktif oksijen ve azot türleri.....	34
Tablo 3.1 : Kullanılan çözücü sistemleri.....	46
Tablo 5.1 : <i>Helichrysum italicum</i> bitkisinin total fenolik ve flavanoit % miktarları	62
Tablo 5.2 : <i>Helichrysum italicum</i> bitkisinin dpph serbest radikal giderim aktivitesi sonuçları (% inhibisyon cinsinden).....	64
Tablo 5.3 : Ege Tarımsal Araştırma Merkezinde yetişen <i>Helichrysum italicum</i> bitkisinin çiçek kısmından analiz edilen bileşikleri	66
Tablo 5.4 : Ege Tarımsal Araştırma Merkezinde yetişen <i>Helichrysum italicum</i> bitkisinin toprak üstü kısmından analiz edilen bileşikleri.....	67
Tablo 5.5 : Silivri Türam'da yetişen <i>Helichrysum italicum</i> bitkisinin toprak üstü kısmından analiz edilen bileşikler	68
Tablo 5.6 : Silivri Türam'da yetişen <i>Helichrysum italicum</i> bitkisinin çiçek kısmından analiz edilen bileşikler.....	69

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Tüpsü çiçek ve dilsî çiçek	4
Şekil 2.2 : Tiren denizi üzerine bulunan adalar	5
Şekil 2.3 : <i>Helichrysum italicum</i> bitkisinin Türkiye’deki bulunuşu.....	12
Şekil 2.4 : <i>Helichrysum italicum</i> bitkisi (İzmir Menemen).....	13
Şekil 2.5 : <i>Helichrysum italicum</i> bitkisi (Silivri Türam).....	14
Şekil 2.6 : <i>Helichrysum</i> cinsi bitkinin kullanıldığı kozmetik ürünlere örnekler.....	25
Şekil 2.7 : Avrupa’da ticari olarak kullanımına izin verilen 12 <i>Helichrysum italicum</i> bitkisinden elde edilen hammaddeler ve kullanım alanları.....	26
Şekil 2.8 : Sekonder metabolitlerin oluşum mekanizması.....	28
Şekil 2.9 : İzopentan ve izopren molekülleri.....	29
Şekil 2.10 : İzopren moleküllerinin birleşme şekilleri.....	29
Şekil 2.11 : Terpenlerin oluşum mekanizması	30
Şekil 2.12 : Monoterpenlere örnekler.....	31
Şekil 2.13 : Sentetik antioksidan bileşiklerine örnekler.....	36
Şekil 2.14 : Antioksidanların sınıflandırılması.....	38
Şekil 2.15 : İkincil antioksidan bileşiklere örnekler.....	41
Şekil 2.16 : Clevenger tipi laboratuvar ölçekli hidrodestilasyon aparatı.....	42
Şekil 3.1 : Türam Silivri belediyesi Tarımsal Araştırma Merkezi <i>Helichrysum italicum</i> bitkisi’nin hasadına ait fotoğraf.....	44
Şekil 3.2 : Total fenolik ve flavonoit miktarının belirlenmesi için hazırlanan Ekstreler.....	47
Şekil 3.3 : Dpph antioksidan mekanizma tepkimesi	52
Şekil 4.1 : Silivri Türam’da yetiştirilen <i>Helichrysum italicum</i> bitkinin kullanılan bölgesi ve ekstre çözücüleri.....	54
Şekil 4.2 : Menemen Ege Tarımsal Araştırma Enstitü’sünde yetiştirilen <i>Helichrysum italicum</i> bitkisinin kullanılan bölgesi ve ekstre çözücüleri.....	55
Şekil 4.3 : Silivri Türam’da yetiştirilen <i>Helichrysum italicum</i> bitkisinin çiçek kısımları	56
Şekil 4.4 : Menemen Ege Araştırma Enstitü’sünde yetiştirilen <i>Helichrysum italicum</i> bitkisinin çiçek kısımları.....	56
Şekil 4.5 : Hazırlanan bitki materyeli ve çözücü karışımları.....	57
Şekil 4.6 : Elde edilen ekstreler.....	57
Şekil 4.7 : Serbest radikal giderim aktivitesi hesaplanmasında kullanılan eşitlik.....	60
Şekil 5.1 : <i>Helichrysum italicum</i> bitkisinin içerdiği toplam % fenolik madde miktarı	62
Şekil 5.2 : <i>Helichrysum italicum</i> bitkisinin içerdiği toplam % flavonoit madde miktarı.....	63

İSTANBUL SİLİVRİ VE İZMİR MENEMEN BÖLGESİNDE KÜLTÜRÜ YAPILAN *HELICHRYSUM ITALICUM* (ROTH) GUSS. DON. BİTKİSİNİN UÇUCU YAĞI VE SIVI EKSTRELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

ÖZET

İzmir'in Menemen ilçesinde ve İstanbul'un Silivri ilçesinde eş zamanlı kültür çalışmalarını yaptığımız *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don. bitkisinden elde ettiğimiz uçucu yağlarının % verim kıyaslaması yapıldığında İzmir'in Menemen ilçesinde yetişen *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don bitkisinin çiçeklerinin hidro destilasyonu ile elde edilen uçucu yağın verimi 0,15 % olup aynı bölgede yetişen *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don bitkisinin toprak üstü kısmının hidro destilasyonu ile elde edilen uçucu yağ 0,20 % olarak belirlenmiştir. İstanbul'un Silivri ilçesinde yetişen *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don bitkisinin çiçeklerinin hidro destilasyonu ile elde edilen uçucu yağın verimi 0,04 % olup aynı bölgede yetişen *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don bitkisinin toprak üstü kısmının hidro destilasyonu ile elde edilen uçucu yağın verimi 0,05 % olarak belirlenmiştir. Uçucu yağ verim analizleri göstermektedir ki İzmir'in Menemen ilçesinde kültürünü yaptığımız *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don. Bitkisinin % uçucu yağ verimi fazla olup yapılan literatür taramalarında elde ettiğimiz verilere uymaktadır. Uçucu yağ elde işlemlerinden sonra GC-MS analiz metodu kullanılarak bileşimlerini belirlediğimiz İzmir Menemen'de yetişen *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don bitkisinde α -pinene, himachalene ve itolidion (I+II+III) bileşiklerinin öne çıktığını, İstanbul Silivri bölgesinde yetişen *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don bitkisinde ise neryl acetate, α -cedrene, guaiol, α -eudesmol ve β -eudesmol bileşikleriyle öne çıktığı görülmektedir. Ayrıca *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don bitkisinden 4 farklı çözücü ile elde edilen ekstratlar total fenolik ve flavanoit tayini yapılarak ekstratlerden elde edilen total fenolik madde miktarının 0,01 % ile 0,13 % arasında olduğu, total flavanoit miktarının 0,009% ile 0,02% arasında olduğu belirlenmiştir. Son olarak antioksidan kapasiteleri Dpph yöntemi ile belirlenmiştir. Elde edilen bulgular ışığında *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don. bitkisinin İzmir Menemen bölgesinde yetiştirilmesi ve Türkiye ekonomisine kazandırılması tavsiye edilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Helichrysum italicum*, hidro destilasyon, uçucu yağ verimi, antioksidan kapasitesi.

COMPARING THE VOLATILE OILS AND LIQUID EXTRACTS OF *HELICHRYSUM ITALICUM* (ROTH) GUSS. DON. PLANT WHICH IS CULTIVATED IN ISTANBUL SILIVRI AND IZMIR MENEMEN AREA.

SUMMARY

We compare with the yield of volatile oils of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don plant that have been cultivated at the same time in Izmir Menemen and Istanbul Silivri. According to the results yield of volatile oils by hydrodistillation from flower part of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don is found to be 0,15 % for Izmir/Menemen area, from aerial part 0,20 % yield of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don by hydrodistillation. The yield of volatile oils of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don plant that have been cultivated in Istanbul Silivri by hydrodistillation from flower part of is 0,04. While that 0,05 % yield was obtained from the aerial part of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don. by hydrodistillation. According to the yield analysis of volatile oils, *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don that is cultivated in Izmir Menemen is higher than the one cultivated in Silivri/Istanbul. Also, comparison of the results with those of the previous studying showed that the same results. We analysed the components of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don by GC/MS method. *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don plant cultivated in Izmir Menemen contains α -pinene ve himachalene and italdion (I+II+III) mainly. *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don plant cultivated in Istanbul Silivri contains neryl acetate, α -cedrene, guaiol, α -eudesmol and β -eudesmol. Also analysed the total phenolic and flavanoid components of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don plant and found that total phenolics percantage is between 0,01 % 0,13 % . The total flavanoid components of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don are between 0,009% and 0,02%. Also antioxidan capacity was determined with DPPH method. According to all the results, the cultivation *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don plant in Izmir Menemen is highly recommended.

Key words: *Helichrysum italicum*, hidro distillation, volatile oils yield, antioxidant capacity.

1.GİRİŞ

1.1 Tezin Amacı

Bitkiler yüzyıllardır buldukları coğrafyada insanoğluna hizmet etmekte olup içerdikleri zengin kimyasallar ile günümüze ışık tutarak birçok sektörde hammadde olarak kullanılmaktadır. *Helichrysum* bitkileri halk arasında ‘altın otu’ veya ‘ölmez çiçek’ olarak bilinir. *Helichrysum* taksonlarından bazıları yüzyıllardır buldukları coğrafyada geleneksel olarak halk tıbbında kullanılmaktadır. *Helichrysum* türleri diüretik ve safra düzenleyici etkilerinden dolayı çay formunda safra kesesi düzensizliğine karşı halk tarafından kullanılmaktadır [1]. *Helichrysum* türleri iltihaplı, yaralar, soğuk algınlığı ve solunum rahatsızlıklarının tedavisinde de kullanılmaktadır [2,3]. Aynı zamanda Türkiye’de birçok *Helichrysum* türünün böbrek taşıyı yok etmek için halk tarafından kullanıldığı bilinmektedir [4]. Bitkinin bu özelliklerinin içerdiği flavanoidlerden kaynaklandığı araştırma sonuçlarına göre ortaya konulmaktadır. Uçucu bileşiklerinden dolayı böcek kovucu ve süs bitkisi olarak da kullanımı mevcuttur. Bu değerli bitki Asteraceae familyasına mensuptur. *Helichrysum* Mill. cinsinin 500 türünden biri olan *Helichrysum italicum* (Roth) D. Don. bitkisi önemli bir ekonomik değere sahiptir, birçok kozmetik preparatın içerisinde bulunup içerdiği değerli uçucu yağlardan dolayı parfümlerin eşsiz kokularının yaratılmasında rol almaktadır. *Helichrysum* Mill. cinsi Güney Afrika, Avustralya, Madagaskar, Avrasya, Yeni Zelanda ve Papua Yeni Guinea’de yayılış göstermektedir. Türkiye’de ise 15’i endemik 26 taksonla temsil edilmektedir [4,5]. *Helichrysum italicum* ülkemiz için endemik olmayıp tipik bir Akdeniz bitkisidir. Akdeniz bölgesinde 25 türünden 8 türü İtalya’da yetişmektedir [6]. Günümüzde birçok ilacın içeriğine içerdiği flavonlar, tanen, reçine, kumarin ve esansiyel yağların zenginliği dolayısı ile girmiştir. 200 yıldır geleneksel tıpta kullanılan bu bitki anti-enflamatuvar, karaciğer koruyucu, detoksifiye edici, kolagog ve koloretik etkilerinden dolayı mide rahatlatıcı ve yara kapatıcı olarak da kullanılmıştır [7].

Bu alışmada İzmir'in Menemen ilçesinde ve İstanbul'un Silivri ilçesinde eş zamanlı kültür çalışmalarını yaptığımız *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don. bitkisinin uçucu yağ bileşimleri analiz edilip, total fenolik madde miktarları ve total flavonoid madde miktarları tespiti yapılmıştır.

Ayrıca her iki bölgede yetişen bitkilerin uçucu yağları Dpph yöntemi kullanılarak antioksidan aktivite tayini edilmiş ve elde edilen tüm veriler ışığında bu bitkinin ticari olarak Türkiye ekonomisine kazandırılması üzerine tez çalışması yürütülmüştür.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 Türün Sistematikteki Yeri

2.1.1 Taksonomik genel bilgiler

Asteraceae familyasının yeryüzünde 1000'e yakın cinsi 20.000 kadar türü bulunan en zengin familyasıdır [8]. *Helichrysum* cinsinin dünyada yaklaşık olarak 500 türü bulunmaktadır. Türkiye'de ise 15'i endemik olup 27 taksonu bulunmaktadır [9,10].

Alem : Plantae

Alt Alem : Tracheobionta

Bölüm : Magnoliophyta

Sınıf : Magnoliopsida

Alt Sınıf : Asteridae

Takım : Asterales

Familya : Asteraceae

Cins : *Helichrysum*

Tür : *Helichrysum italicum* (Roth) D. Don.

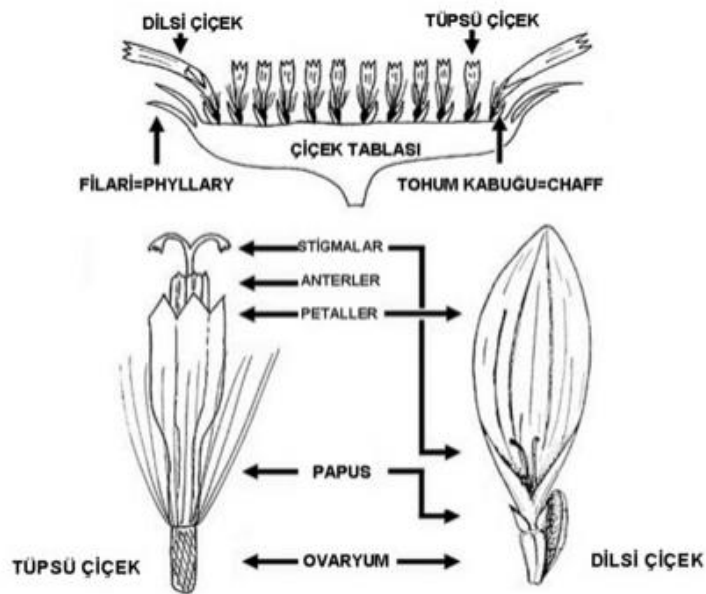
2.1.2. Asteraceae (Compositae) Familyası

Asteraceae familyası dünyanın en zengin çiçekli bitkiler familyasıdır. Dünyada 1600 cinsi ve 23.000 kadar türü bulunmaktadır [11]. Türkiye'de 134 cinsi ve 1300'den fazla türü bulunmaktadır. Asteraceae familyası Papatyagiller familyası olarak da bilinir. Genellikle otsu seyrek olarak ağaç ve çalı formunda bulunup tırmanıcı bitkilerdir. Yaprakları çoğunlukla karşılıklı ve nadiren dairesel, birleşik veya basittir.

Çiçekleri kapitulum durumunda ve kapitulumun taban kısmında brakelerden meydana gelmiş involukrum mevcuttur. Çiçekler erdişi veya tek eşeyli, aktinomorf veya zigomorftur. Kaliks çoğunlukla pappus halinde veya neredeyse körelmiştir. Korolla 5 petalli, tüp, simpetal veya dil şeklinde uzamış olarak bulunmaktadır. Meyva tipi aken olup tepesinde papus veya kaliks artığı bulunmaktadır [12].

Bu familya 2 alt familyaya ayrılarak incelenir.

Alt familyalar: *Tubuliflorae* (*Asteroideae*), *Liguliflorae* (*Cichorioideae*) alt familyasında kapitulumdaki bütün çiçekler tüp şeklinde bulunmaktadır. Kapitulumda ortada bulunan çiçekler tüpsü olup çevresinde de dilsî çiçekler bulunmaktadır. *Tubuliflorae* alt familyasında süt borusu çoğunlukla yoktur. Eczacılıkta drog olarak kullanılan bitkilerin birçoğu bu taksondadır. *Liguliflorae* (*Cichorioideae*) alt familyasında kapitulumdaki bütün çiçekler dilsîdir ve süt boruları mevcuttur. Çiçekleri tek eşeyli veya erdişidir, kaliks papus halka veya pul şeklinde olup veya bazen bulunmamaktadır. Korolla 5 tane tüp veya dil şeklinde birleşmiş olarak bulunmaktadır. Meyva aken tipidir bazen tepesinde papus artığı bulunmaktadır ve genellikle *Compositae* tipi salgı ve örtü tüyü taşırlar. Bu familyanın tıbbi olarak, gıda olarak ve sanayide kullanımı mevcuttur. Uçucu yağ ve acı maddeleri tıbbi amaçlı, inulin ve sabit yağ gıda olarak ve lateksi kauçuk taşıdığından dolayı sanayide kullanımı yaygındır [12]. Aşağıdaki Şekil 2.1’de tüpsü çiçek ve dilsî çiçek arasındaki fark belirtilmiştir.



Şekil 2.1: Tüpsü çiçek ve dilsî çiçek [13].

2.1.3. *Helichrysum* bitkisinin genel özellikleri ve yapılan çalışmalar

Dünya üzerinde 500 türü bulunan *Helichrysum* cinsi birbiri ile jeolojik ve coğrafi olarak bağlantılı olmayan 3 farklı bölgede bulunur. Bunlar biyolojik çeşitliliğinin gen merkezi konumunda olan Akdeniz bölgesi, Güney Afrika ve Avustralya'dır. *Helichrysum*'un Avrupa dillerinde birçok karşılığı bulunmaktadır. İtalyanca 'Perpetuino' and 'semprevivo', Fransızca 'immortelle', İngilizce 'everlasting', İspanyolca 'siempreviva' olarak adlandırılmaktadır. *Helichrysum* cinsi bitki'nin en bilindik türleri en çok Kuzey Tiren denizindeki Sardunya, Korsika ve Toskana adalarının üzerinde görülmektedir [18]. Aşağıda Şekil 2.2'de detaylı bir şekilde harita ile belirtilmektedir.



Şekil 2.2 : Tiren denizi üzerine bulunan adalar.

Tyrrhenian *Helichrysum* genellikle *H. italicum* Don. subsp. *microphyllum* (Willd.) Nyman'ı temsil etmektedir bu bitki İspanya'nın doğu kıyılarında bulunan Balearik adalarında (Majorca and Minorca) da yetişmektedir fakat son yapılan taksonomik çalışmalar *H. microphyllum* subsp. *tyrrhenicum* Bacch, Brullo Giusso Tyrrhenian *Helichrysum* türlerinin parfümeri ve kişisel bakım ürünlerinde kullanılmak üzere en değerli esansiyel yağların elde edilebildiği türler olarak belirlenmiştir. Pazarda *Helichrysum* koku notu ikonikleşmiş, hem bayan hem de erkek parfümlerinde

kullanılmaktadır. Lancome'un Magie Noire, Rochas'ın Femme, Van Cleef & Arpels'in Homme gibi birçok k ltleŒmiŒ parf mde kullanılmaktadır. *Helichrysum italicum* etnobotanik olarak ve bitkinin içerdiği kimyasallar bakımından en çok araŒtırması yapılan *Helichrysum* türüdür. AŒaĐıda belirtilen diğer 6 türü ise Batı Akdeniz bölgesinde endemiktir ve bu türlerin her biri belirgin bir coğrafi alana yayılmıŒtır. *H. frigidum* (Labill.) Willd. *H. montelinasanum* E. Schmid, *H. nebrodense* Heldr. *H. Saxatile* Moris, *H. siculum* (Sprengel) Boiss. and *H. Rupestre* (Rafin.) DC. sadece *H. montelinasanum* bitkisi Sardunya adasına özgü olarak bulunmaktadır.

Helichrysum italicum kokusu ile çok değerli ve ünlüdür. Koku karakteri baharatımsı ve biraz da tropik esintileri içerir. 1.yy'da Pliny Elder *Naturalis Historia* adlı eserinde bu bitkinin kendine has güzel bir koku karakteri olduğunu ve kıyafetleri g velerden koruduğunu anlatmıŒtır [18]. *Helichrysum* bitkisinin tıbbi kullanımları ile ilgili en eski tanımlamaları milattan önce 2. ve 3 yüzyıllarda kullanımı olduğu Theophrastus Eresos'un 'Historia Plantarum' adlı alıŒmasında deĐinilmiŒtir. *Helichrysum* bitkisinin 'Heleiochrysos' adıyla kaynakta geçmektedir. Bu eserde *Helichrysum* bitkisi yanık tedavisinde bal ile karıŒtırılıp kullanımından, zehirli hayvanların ısırıklarına karŒı kullanımından bahsedilmektedir. Diğer bir örnek ise çok eski raporlarda milattan sonra 1.yy'da Yunan yazar Pedanius Dioscordies'in 4 ciltlik 'De Materia Medica' eserinde *Helichrysum* ieklerinin sapıklarının dekoksiyonunun Œarap ile masere edildiğinde idrar söktürücü özelliğinin olması, üriner bozuklukların, yılan ısırıklarının, siyatik ve fitiğın tedavisinde yararlı olduğu anlatılmaktadır. Rönesans döneminde ise Güney Afrika'daki *Helichrysum* türlerinin tıbbi kullanımı ile ilgili ilk yazılı kayıt Alman Botanist Herman Boerhaave'nin kaydına dayandırılmaktadır. 1927'de Herman Boerhaave *Helichrysum* türlerinin nervosizm ve histeri'nin tedavisinde kullanımından bahsetmiŒtir. *Helichrysum* bitkisi bazı türleri arasındaki büyük benzerlikten dolayı çok kompleks bir cins olarak d Œ n lm Œt r. Geçtiğimiz 10 yıl içerisinde *Helichrysum arenarium* (L.) Moench, *Helichrysum chrysumstoechas* (L.) Moench, *Helichrysum graveolens* (M.Bieb.) Sweet ve *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don türleri üzerine eŒitli alıŒmalar yapılmıŒtır. Bu türlere olan alıŒmalar bu türlerin geleneksel terapötik uygulamaları ile harekete geirilmiŒtir [19]. *Helichrysum arenarium* iekleri'nin kullanımı Avrupa merkezli alıŒmalarda antiseptik, koloretik, spazm önleyici özellikleri ile rapor edilmiŒtir [20]. *Helichrysum graveolens*'in tip 2 diyabet semptomları'nın kontrolünde, yara iyileŒtirici ve idrar s kt c   zellikleri Türkiye'den yapılan alıŒma ile rapor edilmiŒtir [21].

Helichrysum stoechas İspanya’da geleneksel tıpta anti-enflamatuar ve yara iyileştirici özelliği yanı sıra diş ağrısı, çeşitli ürolojik rahatsızlıkların tedavisinde kullanımından, sindirim sistemi rahatsızlıklarına karşı birçok çalışma yapılmıştır [19].

2.1.4. *Helichrysum* bitkisinin Türkiye’de bulunan taksonları

Aşağıdaki Tablo 2.1’de *Helichrysum* bitkisinin Türkiye’de bulunan taksonları, coğrafi dağılımlar ve endemik olup olmadığı hakkında bilgiler verilmiştir [17].

Tablo 2.1 : *Helichrysum* bitkisinin Türkiye’de bulunan taksonları [17].

Takson	Türkiye Dağılımı	Endemik (E)
<i>Helichrysum sanguineum</i> (L.) KOSTEL	Güney Doğu Anadolu, Hatay	
<i>Helichrysum pamphylicum</i> DAVIS ET KUPICHA	Güney Doğu Anadolu Antalya, İçel	(E)
<i>Helichrysum stoechas</i> (L.) MOENCH	Batı ve Güney Doğu Anadolu Adana, Antalya, Aydın, Balıkesir, Bursa, Çanakkale, Hatay, İçel, İzmir, Muğla	
<i>Helichrysum italicum</i> (ROTH) D. DON	Kuzey Batı Türkiye ve Batı Anadolu Bursa, İzmir	
<i>Helichrysum orientale</i> (L.) DC.	Batı ve Güney Batı Anadolu İzmir, Muğla	
<i>Helichrysum chasmolycicum</i> P. H. DAVIS	Güney Batı Anadolu Antalya	(E)
<i>Helichrysum compactum</i> BOISS.	Güney Batı Anadolu Antalya, Denizli	(E)
<i>Helichrysum kitianum</i> YILDIZ	Batı Anadolu Sivas	(E)
<i>Helichrysum heywoodianum</i> P. H. DAVIS	Batı Anadolu Aydın	(E)
<i>Helichrysum armenium</i> DC. subsp. <i>araxinum</i> (KIRP.) TAKHT.	Doğu ve Güney Doğu Anadolu Mardin, Artvin, Bingöl, Elazığ, Erzincan, Erzurum, Kayseri, Malatya, Kahramanmaraş, Muş, Sivas, Tunceli	
<i>Helichrysum sivasicum</i> KIT TAN ET YILDIZ	Sivas	(E)
<i>Helichrysum noeanum</i> BOISS.	Doğu Anadolu Ankara, Erzincan, Konya, Niğde, Sivas, Tokat	(E)

Tablo 2.1 (devam) : *Helichrysum* bitkisinin Türkiye’de bulunan taksonları [17].

Takson	Türkiye Dağılımı	Endemik (E)
<i>Helichrysum plicatum</i> DC. subsp. <i>pseudoplicatum</i> (NAB.) DAVIS ET KUPICHA	Güney Doğu Anadolu Hakkâri, Bitlis, Van	
<i>Helichrysum plicatum</i> DC. subsp. <i>isauricum</i> PAROLLY	Güney Doğu Anadolu Antalya, Karaman	(E)
<i>Helichrysum armenium</i> DC. subsp. <i>armenium</i> DC.	Doğu ve Komşu Orta ve Güney Doğu Anadolu	
<i>Helichrysum armenium</i> DC. subsp. <i>araxinum</i> (KIRP.) TAKHT.	Doğu Anadolu Adana, Hakkâri, Mardin, Artvin, Diyarbakır, Erzincan, Erzurum, Gümüşhane, Kayseri, Sivas, Van	
<i>Helichrysum sivasicum</i> KIT TAN ET YILDIZ	Sivas	(E)
<i>Helichrysum goulandrionum</i> E. GEORGIADOU	Güney Doğu Anadolu Kahramanmaraş	(E)
<i>Helichrysum arenarium</i> (L.) MOENCH subsp. <i>rubicundum</i> (C. KOCH) DAVIS ET KUPICHA	Doğu Anadolu Iğdır, Kars, Ardahan, Ağrı, Malatya, Van	
<i>Helichrysum arenarium</i> (L.) MOENCH subsp. <i>aucheri</i> (BOISS.) DAVIS ET KUPICHA	Karasal Anadolu ve komşu K. Anadolu	(E)
<i>Helichrysum arenarium</i> (L.) MOENCH subsp. <i>erzincanicum</i> DAVIS ET KUPICHA	Doğu Anadolu Kastamonu, Ağrı, Erzincan, Kayseri	(E)
<i>Helichrysum artvinense</i> DAVIS ET KUPICHA	Kuzey Doğu Anadolu, Artvin	(E)
<i>Helichrysum pamphylicum</i> DAVIS ET KUPICHA	Güney Doğu Anadolu Antalya, İçel	(E)
<i>Helichrysum italicum</i> (ROTH) D. DON	Kuzey Batı Türkiye ve Batı Anadolu Bursa, İzmir	

Tablo 2.1 (devam) : *Helichrysum* bitkisinin Türkiye’de bulunan taksonları [17].

Takson	Türkiye Dağılımı	Endemik (E)
<i>Helichrysum graveolens</i> (BIEB.) SWEET	Kuzey ve Karasal Anadolu Bolu, Kars, Hakkâri, Karabük, Bitlis, Adıyaman, Bursa, Eskişehir, Gümüşhane, Manisa, Samsun, Tunceli, Van	
<i>Helichrysum plicatum</i> DC. subsp. <i>plicatum</i> DC.	Batı hariç Anadolu Bolu, Kars, Hakkâri, Karabük, Bitlis, Ağrı, Amasya, Ankara, Antalya, Bursa, Denizli, Erzincan, Erzurum, Hatay, Isparta, Kayseri, Konya, Kütahya, Kahramanmaraş, Niğde, Sivas, Trabzon, Karaman	
<i>Helichrysum armenium</i> DC. subsp. <i>araxinum</i> (KIRP.) TAKHT.	Doğu ve Güney Doğu Anadolu Mardin, Artvin, Bingöl, Elazığ, Erzincan, Erzurum, Kayseri, Malatya, Kahramanmaraş, Muş, Sivas, Tunceli	
<i>Helichrysum plicatum</i> DC. subsp. <i>Pseudoplicatum</i> (NAB.) DAVIS ET KUPICHA	Güney Doğu Anadolu Hakkâri, Bitlis, Van	
<i>Helichrysum goulandrionum</i> E. GEORGIADOU	Güney Doğu Anadolu Kahramanmaraş	(E)
<i>Helichrysum arenarium</i> (L.) MOENCH subsp. <i>rubicundum</i> (C. KOCH) DAVIS ET KUPICHA	Doğu Anadolu Iğdır, Kars, Ardahan, Ağrı, Malatya, Van	
<i>Helichrysum artvinense</i> DAVIS ET KUPICHA	Kuzey Doğu Anadolu, Artvin	(E)
<i>Helichrysum pamphylicum</i> DAVIS ET KUPICHA	Güney Doğu Anadolu Antalya, İçel	(E)
<i>Helichrysum armenium</i> DC. subsp. <i>araxinum</i> (KIRP.) TAKHT.	Doğu Anadolu Adana, Hakkâri, Mardin, Artvin, Diyarbakır, Erzincan, Erzurum, Gümüşhane, Kayseri, Sivas, Van	
<i>Helichrysum plicatum</i> DC. subsp. <i>isauricum</i> PAROLLY	Güney Doğu Anadolu Antalya, Karaman	(E)

Tablo 2.1 (devam) : *Helichrysum* bitkisinin Türkiye’de bulunan taksonları [17].

Takson	Türkiye Dağılımı	Endemik (E)
<i>Helichrysum stoechas</i> (L.) MOENCH	Batı ve Güney Doğu Anadolu Adana, Antalya, Aydın, Balıkesir, Bursa, Çanakkale, Hatay, İçel, İzmir, Muğla	
<i>Helichrysum stoechas</i> (L.) MOENCH	Batı ve Güney Doğu Anadolu Adana, Antalya, Aydın, Balıkesir, Bursa, Çanakkale, Hatay, İçel, İzmir, Muğla	
<i>Helichrysum italicum</i> (ROTH) D. DON	Kuzey Batı Türkiye ve Batı Anadolu Bursa, İzmir	
<i>Helichrysum orientale</i> (L.) DC.	Batı ve Güney Batı Anadolu İzmir, Muğla	
<i>Helichrysum chasmolycicum</i> P. H. DAVIS	Güney Batı Anadolu Antalya	(E)
<i>Helichrysum compactum</i> BOISS.	Güney Batı Anadolu Antalya, Denizli	(E)
<i>Helichrysum kitianum</i> YILDIZ	Batı Anadolu Sivas	(E)
<i>Helichrysum heywoodianum</i> P. H. DAVIS	Batı Anadolu Aydın	(E)
<i>Helichrysum noeanum</i> BOISS.	Doğu Anadolu Ankara, Erzincan, Konya, Niğde, Sivas, Tokat	(E)
<i>Helichrysum pallasii</i> (SPRENGEL) LEDEB.	Doğu ve Güney Doğu Anadolu Hakkâri, Antalya, Ağrı, Bingöl, Gümüşhane, Konya, Malatya, Kahramanmaraş, Muğla, Niğde, Bayburt	
<i>Helichrysum chasmolycicum</i> P. H. DAVIS	Güney Batı Anadolu Antalya	(E)
<i>Helichrysum peshmenianum</i> S. ERİK	Orta Anadolu Konya	(E)
<i>Helichrysum italicum</i> (ROTH) D. DON	Kuzey Batı Türkiye ve Batı Anadolu Bursa, İzmir	
<i>Helichrysum orientale</i> (L.) DC.	Batı ve Güney Batı Anadolu İzmir, Muğla	
<i>Helichrysum chionophilum</i> BOISS. ET BAL.	Güney ve Orta Anadolu Adana, Gümüşhane, Isparta, İçel, Kayseri, Kahramanmaraş, Sivas	
<i>Helichrysum orientale</i> (L.) DC.	Batı ve Güney Batı Anadolu İzmir, Muğla	

Tablo 2.1 (devam) : *Helichrysum* bitkisinin Türkiye’de bulunan taksonları [17].

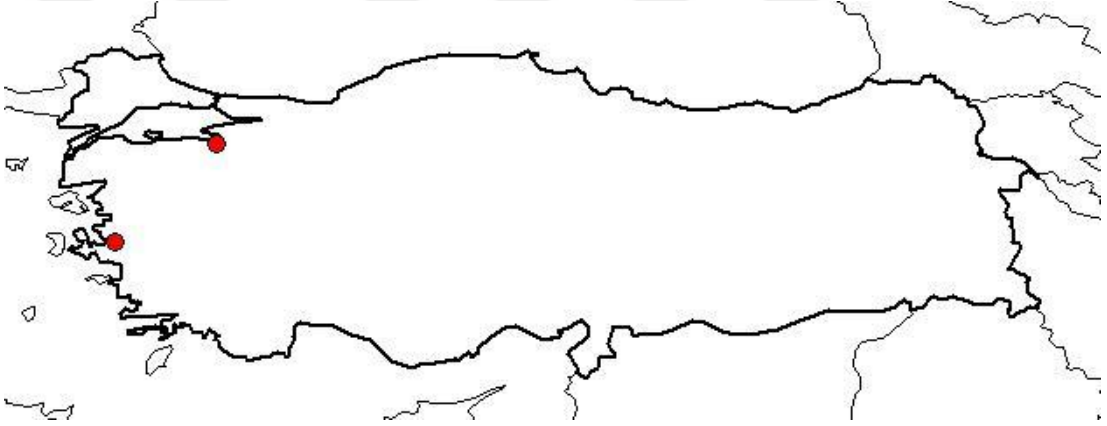
Takson	Türkiye Dağılımı	Endemik (E)
<i>Helichrysum stoechas</i> (L.) MOENCH	Batı ve Güney Doğu Anadolu Adana, Antalya, Aydın, Balıkesir, Bursa, Çanakkale, Hatay, İçel, İzmir, Muğla	
<i>Helichrysum chionophilum</i> BOISS. ET BAL.	Güney ve Orta Anadolu Adana, Gümüşhane, Isparta, İçel, Kayseri, Kahramanmaraş, Sivas	(E)
<i>Helichrysum armenium</i> DC. subsp. <i>armenium</i> DC.	Doğu ve Komşu Orta ve Güney Doğu Anadolu	
<i>Helichrysum stoechas</i> (L.) MOENCH	Batı ve Güney Doğu Anadolu Adana, Antalya, Aydın, Balıkesir, Bursa, Çanakkale, Hatay, İçel, İzmir, Muğla	

2.1.5. *Helichrysum italicum* bitkisinin genel özellikleri

Helichrysum italicum küçük tüpsü çiçekli, çok yıllık çalı bitkisidir. Bitkinin toprak üstü kısmının uzunluğu 30-50 cm dir. Altın sarısı çiçekleri kümelmiş olup bitki hem erkek hemde dişi organı bulundurduğundan hermafrodittir. *Helichrysum italicum* bitkisinin çiçeklenme zamanı yaz aylarıdır. Çiçeğinin yaprağı doğrusaldır. Yaprakları çok narin, dar ve uzun olup 2-3 cm uzunluğuna sahiptir. Yapracağının her iki tarafı da yeşildir. Yapracağı ezildiği zaman çok yoğun bir koku vermektedir. Kökler, odunsu olup boyu 60cm veya daha uzun olabilmektedir. Meyvesi Aken yapıda olup beyaz ve küçük kapakçık ile sarılmış durumdadır [24]. *Helichrysum italicum* bitkisi tipik bir Akdeniz bitki türü olup toprak üstü boyu 30-50 cm’e uzanan sarı çiçekli bodur aromatik bir bitkidir [14]. Asteraceae familyasına ait olan *Helichrysum* cinsi bitkinin dünyada yaklaşık 500 türü bulunmaktadır.

Helichrysum türleri yarı nemli biyoiklimsel bölgede bulunarak yetiştikleri toprak yapısı genellikle kumlu veya killi topraklar olup yetiştikleri rakım deniz seviyesinden 1700m’ye kadar uzanmaktadır [15]. Bitkinin ismi, Yunanca ‘Helios’ (Güneş) ve ‘chryos’ (Altın) kelimelerinin birleşiminden meydana gelmektedir [6].

Helichrysum italicum bitkisi 3 alt türden oluşmaktadır. Bunlar; subs. *microphyllum* (Wild.) Nyman akdeniz adalarında yetişir (Balear adaları, Korsika, Sardunya), subsp. *serotinum* (Boiss.) Fourn. genellikle İber yarımadasında ve subsp. *italicum* ise tüm akdeniz havzasında geniş bir yayılım göstermektedir [14]. Ülkemizde *Helichrysum italicum* geniş bir yayılım göstermemesi ile beraber ülkemizde bazı bölgelerde kültürü yapılmaktadır. *Helichrysum italicum* bitkisinin tüm yeşil toprak üstü kısımlarına uçucu yağ bulunmaktadır. Uçucu yağı çok sayıda monoterpen ve seskiterpen bileşikleri içermesi dolayısı ile parfüm endüstrisinde kullanılan önemli bitkiler arasındadır ayrıca uçucu yağının içerdiği neryl asetat'dan dolayı Akdeniz bölgesinde önemli bir ekonomik değere sahiptir [16]. Aşağıda Şekil 2.3'de *Helichrysum italicum* bitkisinin doğal olarak Türkiye genelindeki (Bursa ve İzmir) bulunuşunun haritasal dağılımı gösterilmiştir [17].



Şekil 2.3 : *Helichrysum italicum* bitkisinin Türkiye'de bulunuşu [17].

Helichrysum italicum enflamatuar alerji nedeniyle yaşanan solunum zorluğu ve cilt problemleri üzerine çalışmalar yapıp raporlanmış olup diğer türler içinde *Helichrysum italicum* uçucu yağının aromaterapik uygulamalarının yaralarda ve cilt problemlerine karşı tedavisinde ikna edici bir şekilde olumlu sonuçlara erişilmiş ve raporlanmıştır. Böcek kovucu ve öldürücü aktiviteleri de araştırılmıştır.

Aedes albopictus and *Aedes aegypti* sinekleri sarı humma ve kızıl salgın hastalıklarının ana taşıyıcılarıdır.

Bir çok uçucu yağın böcek kovucu ve *Aedes* cinsi sivrisineklerin larvalarına karşı aktiviteleri gerçekleştirilip *Helichrysum italicum* esansiyel yağının *Aedes albopictus* larvalarına karşı etkisi üzerine çalışma yapılmıştır ve sonuç olarak *Helichrysum italicum* esansiyel yağının larvalar için yüksek toksik düzeyde olduğunu ortaya koymuştur. Bulgulara göre 300ppm konsantrasyonda 100% lük böcek ölümü gerçekleşmiştir. *Helichrysum italicum* tıbbi özellikleri üzerine yapılan ilk bilimsel çalışma Leonardo Santini'ye atfedilmiştir ve onun hastaları üzerindeki sedef hastalığına karşı yaptığı klinik araştırmaları 20. yy dan 40. ve 50. yy'a kadar aktarılmıştır. Bilimsel veri tabanlarında *Helichrysum italicum* türü ile ilgili çalışmalar 90'lı yıllarda yayınlanmaya başlayıp günümüze kadar gelmektedir [19]. Aşağıda Şekil 2.4'de Ege Araştırma Enstitüsünde yetişen *Helichrysum italicum* bitkisinin fotoğrafı paylaşılmıştır. Şekil 2.5'de Türam Silivri belediyesi Tarımsal Araştırma Merkezinde yetişen *Helichrysum italicum* bitkisinin fotoğrafı paylaşılmıştır.



Şekil 2.4 : *Helichrysum italicum* (İzmir Menemen)



Şekil 2.5 : *Helichrysum italicum* (Silivri Türam)

2.2 *Helichrysum* bitkisinin halk arasında kullanımı

Kökeni Avrupa olmasına rağmen Anadolu’da iyi bilinen bir bitkidir ve *Helichrysum* cinsi bitki’den bulunduğu bölgede yerel halk genellikle şifa amacıyla bitkiden yararlanmaktadır. *Helichrysum* türleri Anadolu’da halk arasında ‘Ölmez Çiçek’ veya ‘Altınotu’ olarak bilinir. Uçucu yağının direkt kullanımı ve bitki çayı olarak tüketimi yaygındır. İçeriğindeki Flavonoidlerin böbrek taşı düşürücü etkisinden dolayı halk çayını tüketerek böbrek taşlarının düşürülmesi için kullanmaktadır [22,23].

Altın sarısı çiçeklerinin güzelliğinden dolayı parklarda ve bahçelerde süs bitkisi olarak yetiştirilmektedir. Anadolu’da halk topladıkları bu bitkiyi evlerinde kurutarak süs bitkisi olarak kullanmaktadır.

Günümüzde birçok ilacın içeriğine içerdiği flavonlar, tanen, reçine, kumarin ve esansiyel yağların zenginliği dolayısı ile girmiştir. 200 yıldır geleneksel tıpta kullanılan bu bitki safra’yı düzenlemesi ve idrar söktürücü etkisinden dolayı safrakesesi hastalıkları tedavisinde de kullanılmıştır. Anti-enfektif, karaciğer koruyucu, detoksifiye edici, kalagog ve koloretik etkilerinden dolayı mide rahatlatıcı ve yara kapatıcı olarak da kullanılmıştır [19].

Helichrysum italicum Avrupa'da genel olarak solunum yolları rahatsızlıkları tedavisine yardımcı, sindirime yardımcı ve cilt enflamasyonunu önleyici olarak kullanılmaktadır.

2.3. *Helichrysum italicum* ile yapılan kimyasal araştırmalar, aktivite çalışmaları ve rnler

Helichrysum italicum bitkisi üzerine birçok fitokimyasal, biyolojik, farmakolojik çalışmalar yapılmıştır. Bitki üzerinde yapılan çalışmalarda kullanılan izolasyon methodlarına değinecek olursak literatür analizlerinde *Helichrysum italicum* bitkisinin ekstraktlarının ve kimyasal bileşiklerinin elde edilerek araştırmalar yapılmıştır. Hidrodestilasyon veya buhar destilasyonu yöntemi ile uçucu yağlar elde edilerek zengin terpen bileşikleri analiz edilmektedir. Literatür analiz sonuçlarına göre en çok kullanılan yöntem olan Clevenger aparatı kullanılarak yapılan hidrodestilasyonda edilen uçucu yağ üzerinde birçok antibakteriyel, antifungal, antioksidan, antikarsinojenik, antimitojenik, sitotoksik, fitotoksik, aktivite çalışmaları yapılmıştır [29].

Literatür çalışmalarında geçen diğer ekstraksiyon yöntemi Süper Kritik CO₂ ekstraksiyonudur. Bu ekstraksiyon yönteminde çalışma koşullarının kolay ve sürdürülebilir olması, solventinin kolay ayrıştırılabilmesi, solventinin yanıcı olmaması gibi avantajlarına rağmen *Helichrysum italicum* bitkisinin adı çok az çalışmada geçmektedir. Diğer önemli bir ekstraksiyon metodlarından biri ise çözücü ekstraksiyonudur. Literatür çalışmalarında popüler olmasının sebebi bir çok fenolik, flavanoit, asetofenon, kumarin, fenolik asitlerin ve esterlerin eldesine imkan vermesidir. Kullanılan en önemli çözücüler metanol ve ethanoldr. Kromatografik metodlarda ise en çok kullanılan yöntemin Mass Spektroskopisi olup bu kromatografik yöntem ile birçok mono- ve seskiterpenlerin tanımlandığı görülmüştür.

2.3.1 Uçucu yağı üzerine yapılan araştırmalar

nemli ekonomik değere sahip olan ve bir çok sektörde kullanımı olan *Helichrysum italicum* bitkisinin uçucu yağı üzerine birçok çalışma yapılmıştır ve yapılan literatür taramaları ile bu çalışmalar özetlenmiştir. *Helichrysum italicum* bitkisi ile yapılan uçucu yağ eldesinde Hidrodistilasyon yöntemi ile Clevenger tipi aparat kullanımı birçok literatür çalışmasında ortaktır. Genellikle 1 ile 5 saat arasında bir destilasyon süresi geçerli olup verim ise 0,01 ile 0,78% arasında değişmektedir.

Uçucu yağ analizinde ise en yaygın kullanılan methodlar GC-FID ve GC-MS analiz methodlarıdır [29].

2016 yılında Bosnak Hersek Lubuşka’da yapılan bir çalışmada *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don fil. ssp. *italicum* bitkisinden hidrodestilasyon yöntemi ile uçucu yağ eldesinden sonra yapılan GC/MS analizinde ana bileşenini seskiterpenlerden curcumene (23.2%), β -selinene (9.9%) ve α -selinene (6.7%) oluşturur. Monoterpenlerden ise α -pinene (13.7%) ve limonene (3.1%) karakteristik bileşik olan neryl acetate (5.4%) analiz edilmiştir. Aşağıda Tablo 2.2’de ilgili kaynaktan alınan sonuçlar paylaşılmıştır [30].



Tablo 2.2 : İlgili kaynaktan alınan GC/MS analiz sonuçları.

Bileşik	Ri	%
4-methyl hexan- 3-one	<900	0.1
Nonane	900	0.1
α -pinene	940	13.7
β -fenchene	953	0.5
β -pinene	982	0.6
α -terpinene	1022	0.6
Limonene	1034	3.1
Isobutyl 2 methyl but- 2-enoate	1055	0.3
γ -Terpinene	1064	0.6
Linanool	1105	0.7
Isopropyl 2 methyl but -2-onate	1158	0.8
Terpinene-4-ol	1184	0.4
α -terpineol	1197	0.2
Decanal	1209	0.1
Nerol	1241	0.5
Linalyl acetate	1262	0.1
(Z)-hex-3-enyl tiglate	1282	0.1
Hexyl 3 methyl but-2 onate	1289	0.4
undecan-2-one	1297	0.1
Neryl acetate	1369	5.4
α -ylangene	1375	0.2
α -copaene	1380	2.9
İtalicene	1407	4.5
cis- α -bergamatone	1419	1.2
Trans- caryophyllene	1424	4.7
trans α -bergamatone	1440	1.1
Geranyl propionate	1479	1.9
γ -selinene	1479	2.4
γ -curcumene	1485	23.2
β - selinene	1492	9.9
δ -cadinene	1528	1.7
nerolidol	1570	0.3
α -cadiol	1650	0.2
7-epi-amiteol	1665	1.3
α -bisabolol	1691	0.4
Hexahydrofarnesyl acetone	1849	0.1
guaiol	1603	0.8
α -gurjunene	1640	0.7
α - selinene	1499	6.7
		92.8%

2016 yılında Kuzey Cezayirden toplanan *Helichrysum italicum* bitkisinin toprak üstü kısımlarından hidrodistilasyon yöntemi ile uçucu yağı elde edilmiş olup GC/MS yöntemi ile analiz edilmiştir. Ayrıca uçucu yağı 12 bakteri'ye karşı antimikrobiyal aktivitesi ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre uçucu yağ elde verim oranı 0,44% (v/w) bulunmuştur. Uçucu yağın analizinde 67 bileşik 99.24% oranında tanımlanarak ana bileşen olarak (61.42%) oranda oksijenlenmiş seskiterpenler belirlenmiştir. Oksijenlenmiş seskiterpenlerden en fazla α -cedrene (13.61%), α -curcumene (11.41%), geranyl acetate (10.05%), limonene (6.07%), nerol (5.04%), neryl acetate (4.91%) ve α -pinene (3.78%) içerdiği analiz sonuçlarına göre raporlanmıştır. Elde edilen verilere göre Kuzey Cezayir bölgesinden toplanan *Helichrysum italicum* bitkisinin analiz sonuçları diğer ülkelerde yetişen *Helichrysum italicum* bitkisinin uçucu yağ bileşimi ile farklılık gösterir. Bu bileşenler α -cedrene, α -curcumen ve geranyl acetate ana bileşendir. Ayrıca yapılan antimikrobiyal aktivite sonuçlarına göre α -Pinene , β -pinene ve limonene'in yüksek oranda antimikrobiyal aktivite gösterdiği raporlanmıştır [31]. Aşağıdaki Tablo 2.3'de *Helichrysum italicum* bitkisinin uçucu yağının analiz sonuçları paylaşılmıştır.

Tablo 2.3 : *Helichrysum italicum* bitkisinin uçucu yağının analiz sonuçları.

Bileşik	Ri	%
Ethylether	529	0.04
Methyl butanoate	721	0.22
2-Methyl-2-heptene	981	0.29
2-Methyl-Hexanoic acid	1027	0.53
δ -3-carene	1008	1, 08
α -pinene	932	3, 78
α -fenchene	945	1, 43
β -Pinene	974	1, 52
Cyclopentanol	780	0.28
Isopropyl-2-methyl butyrate	880	0.37
Terpinolene	1086	0.40
Acetic acid	1393	1, 38
ρ -methylanisol	1015	0.15
ρ -Cymene	1020	1, 02
Limonene	1024	6, 07
(E)- β -ocimene	1044	0.37
2-Butenoic acid, 3-methyl	881	2, 24
γ -terpinen	1054	1, 26
2-nonanone	1087	0.46
3-hexanone	945	0.34
Linalool	1095	2, 98
Isovaleric acid	827	0.23
(+)- fenchol	1114	0.12
Adamantane	1118	0.11
Borneol	1165	0.25
α -terpineol	1014	2, 47
3-pentanone	788	1, 26
Myrtenol	1194	0.18
cis- pinocarveol	1182	0.15
Nerol	1227	5, 04
Neral	1235	0.12
Camphene	946	0.09
Geraniol	1249	0.06
Linalool	1095	0.15
Bornyl acetate	1284	0.05
2-Undecanone	1293	0.3
n-Tridecane	1300	0.07
α -Terpinlyl acetate	1346	0.09
Geranlyl acetate	1379	10, 05
α -cedrene	1410	13,61
1.3.8- ρ -menthatriene	1108	0.58
n-tetradecene	1400	0.18
α -bergamotene	1411	1, 06
Caryophyllene	1417	0.48
α -curcumene	1479	11, 41

Tablo 2.3 (devam) : *Helichrysum italicum* bitkisinin uçucu yağının analiz sonuçları.

Bileşik	Ri	%
Neryl acetate	1359	4, 91
β -himachalene	1500	1, 87
(Z)-nerolidol	1531	1, 65
β -curcumene	1514	2, 25
cis-4-caranone	1200	0.23
Guaiol	1600	2, 36
Anisole	913	2, 99
δ -selinene	1492	0.33
ρ -cresol	1071	2, 42
α -eudesmol	1652	2, 88
δ -cadinene	1522	0.14
cis-carveol	12226	0.11
Dehydro-1,8-cineole	988	0.39
o-cresol	1050	0.12
Eugenol	1356	0.62
Bulnesol	1670	0.59
(Z)- α -trans-bergamotol	1690	0.35

2013 yılında İtalya'nın Toskana bölgesindeki Elba adası'nın 7 farklı bölgesinden toplanan *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don ssp. *Italicum* bitkisinden 21 farklı esansiyel yağ elde edilmiştir ve toplanma süreleri Ocak, Mayıs ve Aralık ayı olarak belirlenerek bitkinin yetiştiği toprak belirlenmiştir. Elde edilen esansiyel yağların bileşimi GC-FID GC /EI-MS analiz yöntemleri ile analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre 115 farklı bileşik 96,8-99% oranda tanımlanmıştır. Yağ bileşiminde (38.6-62.7%) aralığında oksijenlenmiş monoterenlere, (2.3-41.9%) aralığında seskiterpenlere ve (5.1-20.1%) aralığında monoterenlere rastlanmıştır. Oksijenlenmiş ana türev olarak nerol (2.8-12.8%) ve onun esteri olan neryl asetat (5.6-45.9%) aralığında analiz edilmiştir. İntrüsif volkanik kayalarda yetişen bu bitkinin daha çok α -humulene, γ -muurolene, β -caryophyllene, cis-a-bergamotene, eudesm-5-en-11-ol, eudesmol izomerleri, ve neryl acetate içerdiği analiz edilmiştir. Kumlu topraklarda yetişen *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don ssp. *Italicum*'un α - ve β -pinen, camphene, γ -terpinene, 1,8-cineole, α -terpineol ve α -borneol, nerol, and linalool içerdiği analiz edilmiştir. Aynı şekilde serpantin toprak çeşidinde yetişen *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don ssp. *italicum*'un ise neryl acetate, neryl propanoate, α -curcumene, italicene ve limonene ana bileşenlerini içerdiği yapılan çalışma ile rapor edilmiştir.

Aynı çalışmada Elba adasında yetişen *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don ssp. *italicum* bitkisi Toskana bölgesindeki diğer adalarda yetişen *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don ssp. *italicum* bitkisine göre toprak çeşidi farklılıkları kaynaklı uçucu yağı'nın bileşimlerinde geniş farklılıkların olduğu ortaya konulmaktadır. 'Le Tomb' bölgesinden Mayıs ayında toplanan *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don ssp. *italicum* bitki'sinin uçucu yağ veriminin diğer bölgelere göre en yüksek olduğu raporlanmıştır. Uçucu yağ'ın bileşiminde ayrıca γ -curcumene (0.8 – 7.2%), α -pinene (0.8 – 32.9%), limonen (0.4 – 12.9%), 1,8-cineole (eser miktar ile 18.2 % arası), ve neryl propionate (0.4 – 7.6%) analiz edilmiştir.

Bu çalışmada toprak yapısının farklılıkları ve toplanma sürelerinden kaynaklı farklılıklara değinilmiş olup Elba adasından toplanan bitki ile Toskana bölgesindeki diğer adalarda yetişen bitki kıyaslanmış olup Mayıs ayında 'Le Tombe' bölgesinden toplanmış olan *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don ssp. *italicum* en yüksek uçucu yağ verimine sahip olduğu ortaya konulmaktadır [32].

2.3.2 Biyolojik aktivite çalışmaları

2010 yılında 6 Akdeniz bölgesinde yetişen farklı familyalardaki bitkiler'in esansiyel yağının ve *Helichrysum italicum* bitkisinin uçucu yağının 20 li 3'lü gruplardaki *Aedes albopictus* sivrisineğinin larvaları üzerine aktivitesi ölçülmüştür. Test aşamasında larvaların beslenmesi engellenmiş olup Lethal doz konstanstasyonu LC50 ve LC90 olarak hesaplanmıştır. Test sonucuna göre çalışılan bitkilerden sadece *Helichrysum italicum* bitkisinin 300 ppm dozajda 100% 'lük bir ölüm oranı sağladığı sonucuna ulaşılmıştır [33].

2009 yılında *Helichrysum italicum* bitkisinin böcek kovucu etkisi üzerine çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada 18 farklı uçucu yağ ile *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don bitkisinin esansiyel yağı'nın Sarı humma Sivrisineği'ne (*A. aegyptii*) karşı böcek kovucu etkileri üzerine bir çalışma yapılmış olup sonuçlar gösteriyor ki *Helichrysum italicum* bitkisinin uçucu yağının Y-tüp olfactometre'de Sarı humma sivrisineğine karşı insan teninin çekiciliğini azaltmıştır [34].

2012 yılında *Helichrysum italicum* bitkisinin uçucu yağı ve 5 farklı esansiyel yağın depolanmış gıdalardaki Mısır Biti'ne (*Sitophilus zeamais*) karşı biyoaktivitesi üzerine araştırma yapılmıştır.

Araştırma sonucuna göre *Helichrysum italicum* bitkisinin uçucu yağının *Ledum groenlandicum* bitkisinin uçucu yağı ile beraber karışım halinde kullanıldığında etkili böcek kovucu preparatlardan biri olduğu raporlanmıştır [35].

2007 yılında Korsika adasında yetişen 28 bitkinin antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. İnsan'da patojenik hastalıklara sebep olan gram-pozitif (*S. aureus*) ve gram-negatif bakterileri olan *Escherichia coli* (koli basili), *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*(Enterobakter) ve *Campylobacter jejuni*'ye karşı bitkinin antimikrobiyal aktivitesi test edilmiştir. Araştırma sonuçlarına göre *Helichrysum italicum* bitkisinin uçucu yağı en yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olan uçucu yağ olarak raporlanmıştır [36].

2006 yılında *Helichrysum* cinsi bitkinin 12 farklı türünden elde edilen esansiyel yağların kimyasal bileşimleri ve total antioksidan kapasitesi analiz edilmiştir. Antioksidan etkileri DPPH , FRAP, TBARS ve RANCIMAT metotları ile test edilmiş olup *Helichrysum italicum* bitkisinin esansiyel yağının yüksek antioksidan değere sahip olduğu raporlanmıştır [37].

2010 yılında *Helichrysum italicum* bitkisinin antiinflamatuvar etkisi üzerine yapılan çalışmada bitkinin içerdiği azarnol, prenylated heterodimeric phloroglucinyl α -pyrone ana bileşiklerin enflamasyonu azaltan ana bileşikler olduğu araştırma sonuçlarına göre raporlanıp azarnol'un biyolojik sistemlerde lipit oksidasyonuna karşı etkili doğal antioksidan olduğu ortaya konulmuştur [38].

2009 yılında Türkiye'den toplanan 4 farklı *Helichrysum* Mill. türü üzerine yapılan çalışmada bitkinin fenolik bileşikleri, antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri üzerine çalışmalar yapılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre 4 farklı *Helichrysum* Mill. cins bitkinin (*Helichrysum* Mill. (Asteraceae) [*H. arenarium* (L.) Moench subsp. *erzincanicum* Davis & Kupicha, *H. arenarium* (L.) Moench subsp. *rubicundum* (C.Koch.) Davis & Kupicha, *H. armenium* DC. subsp. *araxinum* (Kirp.) Takht. ve *H. plicatum* DC. subsp. *pseudoplicatum* (Nab.) Davis & Kupicha) metanol ekstraksiyonu ile antioksidan aktiviteleri DPPH ve radikal süpürücü test yöntemleri ile bakılmış olup en yüksek antioksidan aktiviteyi *H. plicatum* subsp. *Pseudoplicatum* göstermiş.

En yüksek antioksidan aktiviteyi ($161,79 \pm 0,3$ mg askorbik asit eşiti/g özüt). 23,03 $\mu\text{g/mL}$ IC50 değeri ile en yüksek serbest radikal süpürücü aktivite gösteren *H. arenarium* subsp. *erzincanicum*'dur. Total fenolik madde içerikleri ise 71,81 ile 144,50 mg (gallic acid/g kuru özüt) arasında bulunmuştur [39].

2.3.3 Fitokimyasal çalışmalar

Günümüz kadar yapılan birçok çalışmada *Helichrysum italicum* bitkisinin içerdiği bileşikler farklı yöntemler ile tanımlanıp içerikler aşağıda listelenmiştir.

Asitler grubunda asetik asit, kaprilik asit ve bazı doymuş asitler içerir. Fenolik bileşik grubunda kafeik asit, *p*-kumarik ve ferülik asitler, benzofuran, piron, 7-hidroksi-5-metoksifitalat içerir. Triterpenler grubundan sitosterol, ursolik asit laktonu, uvaol ve amirin içerir.

Flavanol grubundan apigenin, glikozil- apigenin, luteolin, naringenin, glikozil naringenin, kamferol, 3-glikozit naringenin içerir. Kalkon grubundan glikozil kalkon, 4,2',4',6' tetrahidroksi kalkon içerir.

Asetonfenon glukozitleri ve benzo piron glukozitlerinden ise arzanol, helipiron, piron, dimerik piron içerdiği raporlanmıştır [40].

2.3.4. *Helichrysum italicum* bitkisinin aromaterapi'de kullanımı

Helichrysum italicum bitkisinin birçok türünün aromaterapi'de kullanımı bulunmaktadır. Bitkinin sikatrizan özelliğinden dolayı uçucu yağının yara iyileştirici ve cildi yenilemeye yardımcı olarak kullanımı önerilmektedir [40].

Fransa'da yapılan bir çalışmada Musk rose (*Rosa rubiginosa*) çekirdek sabit yağı ile masere edilen *Helichrysum italicum* bitkisinin terapötik etkisi ve potansiyel klinik uygulamaları araştırılmıştır. Daha sonra rekonstrüktif cerrahi ve kozmetik uygulamaları üzerine çalışmalar yapılmıştır. Enflamasyonu düşürücü, ödem azaltıcı, morarmaları azaltıcı etkileri üzerine hedeflenen çalışmalarda başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmada *Helichrysum italicum* bitkisinin uçucu yağındaki ağrı gidermeye yardımcı ana bileşen neryl acetate üzerinde çok durulmuştur. Terpen sınıfındaki bu molekül antihematom(kan toplanmayı önleyici) özelliğinden dolayı öne çıkmaktadır. Birçok yararlı etkisinden dolayı *Helichrysum italicum* bitkisinin uçucu yağı sıklıkla 'Aromaterapi'nin Süper Arnikası' olarak adlandırılmaktadır. Yüzdeki kızarıklıkları, kan toplanmasını ve ciltteki morarmaları iyileştirici etkilerinden dolayı uçucu yağının kullanımı önerilmektedir.

H. italicum uçucu yağının diğer özel uçucu yağlar ile karıştırıldığında, karışımın anti alerjik olduğu düşünülmektedir [41,42]. Aşağıdaki Tablo 2.4’ de *Helichrysum italicum* bitkisinin uçucu yağının aromaterapi reçetelerindeki yeri ve etkili olduğu sistemler anlatılmaktadır [40].

Tablo 2.4 : *Helichrysum italicum* bitkisinin aromaterapi’de kullanımı [40].

Sistem	<i>Helichrysum italicum</i> 'un karışım yapıldığı esansiyel yağlar
Deri (egzama, enflamasyon, yara iyileştirici)	Lavanta, Roman Papatyası, Geranium, Civanperçemi, Vetiver, Paçuli, Sandalağacı, Selvi ve Gül yağı. Direkt veya (10-50%) oranda seyreltilerek kullanılabilir
İmmün (Alerjik)	Gül, Sandalağacı, Alman papatyası

2.3.5 *Helichrysum italicum* bitkisinin kozmetik ürünlerdeki yeri

Helichrysum italicum bitkisinin yenileyici özelliğinden dolayı cilt yaşlanmasını önleyici etkisi ile ünlenmiş olup ‘Anti aging’ iddası taşıyan krem preparatlarının içerisinde yer almaktadır. Bu kozmetik ürünlere örnek olarak L’occitane’ın ‘Divine’ cilt bakım serisi, Essentio’nun kuru ciltler için özel nemlendirici kremi, Olival’in cilt bakım kremi ve Ladrôme’nin hidrolatı örnek olarak verilebilir. Aşağıdaki Şekil 2.6’de *Helichrysum* cinsi bitkinin bulunduğu kozmetik ürünler belirtilmiştir.

Avrupa’da ticari olarak kullanımına izin verilen 12 *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don bitkisinden elde edilen hammadde vardır bunlar aşağıda Tablo 2.5’de belirtilmiştir. Şekil 2.7’de CAS NO: 90045-56-0 olan *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don bitkisinin çiçeğinden elde edilen ekstraktın Parfümeride kullanıldığı açıklanmaktadır [43].



Şekil 2.6 : *Helihrysum* bitkisinin kullanıldığı kozmetik ürünlere örnekler [44].

Tablo 2.5 : Avrupa ticari olarak kullanımına izin verilen 12 *Helichrysum italicum* bitkisinden elde edilen hammaddeler ve kullanım alanları [43].

INCI Name/Substance Name	CAS No.
BELLIS PERENIS FLOWER/HELICHRYSUM ITALICUM EXTRACT	
HELICHRYSUM ITALICUM CALLUS EXTRACT	
HELICHRYSUM ITALICUM FLOWER EXTRACT	90045-56-0
HELICHRYSUM ITALICUM FLOWER OIL	90045-56-0
HELICHRYSUM ITALICUM FLOWER WATER	90045-56-0
HELICHRYSUM ITALICUM FLOWER/LEAF/STEM OIL	8023-95-8, 90045-56-0
HELICHRYSUM ITALICUM FLOWER/LEAF/STEM WATER	
HELICHRYSUM ITALICUM FLOWER STEM EXTRACT	
HELICHRYSUM ITALICUM LEAF CELL EXTRACT	90045-56-0
HELICHRYSUM ITALICUM PHYTOPLACENTA EXTRACT	
HELICHRYSUM ITALICUM ROOT EXTRACT	
HELICHRYSUM ITALICUM EXTRACT	90045-56-0

Cosmetics - CosIng

05/01/2020 23:53

Ingredient: HELICHRYSUM ITALICUM FLOWER EXTRACT

INCI Name	HELICHRYSUM ITALICUM FLOWER EXTRACT
Description	Helichrysum Italicum Flower Extract is an extract obtained from the flowers of the Everlasting, Helichrysum italicum, Compositae
INN Name	
Ph. Eur. Name	
CAS #	90045-56-0
EC #	289-918-2
Chemical/IUPAC Name	
Cosmetic Restriction	
Other Restriction(s)	
Functions	PERFUMING
SCCS opinions	
Identified INGREDIENTS or substances e.g.	

Şekil 2.7 : CAS NO: 90045-56-0 olan *Helichrysum italicum* bitkisinin çiçeğinden elde edilen ekstraktın kullanım alanı [43].

2.4 Sekonder Metabolitler

Yeryüzündeki tüm canlılar yaşamsal aktivitelerini devam ettirebilmek için en küçük yapı taşımız olan hücre düzeyinden kendi doku ve sistemlerini oluşturabilmek amacı ile bazı organik yapı taşlarını ihtiyaç duymaktadırlar. Sekonder metabolitler primer metabolitlerden bitkiler tarafından biyosentetik yolla üretilmektedir. Sekonder metabolitlerin bitkinin temel yaşamsal faaliyetleri ile ilgili doğrudan ilişkisi yoktur. Primer metabolitler canlıların tümünde yapı taşlarını oluşturan organik moleküllerdir, organizmaların yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmesi için primer metabolitlere ihtiyaçları vardır. Primer metabolitler bitkilerin, hayvanların ve insanların tüm hücrelerinde mevcut olan, büyüme, gelişme ve çoğalma için 'olmazsa olmaz' nitelikteki maddelerdir [23].

Primer metabolitler 4 ana grup altında incelenir;

Nükleik asitler

Proteinler

Yağlar

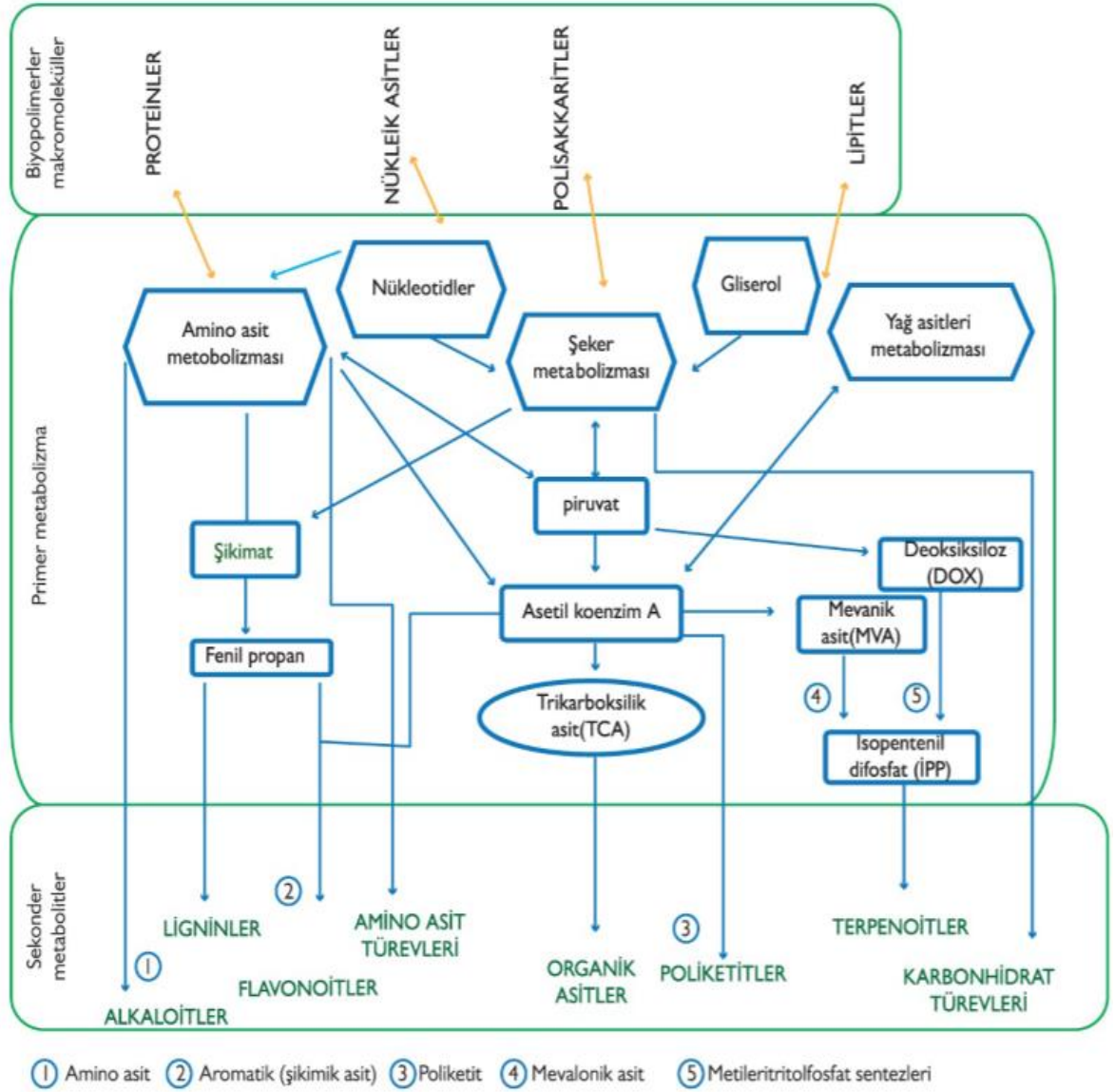
Karbonhidratlardır.

Sekonder metabolitler primer metabolitlerden yola çıkarak oluşturulmuş bitkide korunma, çevresel uyum, avcılara karşı kimyasal savunma ve nesillerini devam ettirebilmek için bitkiler tarafından geliştirilen karmaşık mekanizmaların ürünleridir. Günümüzde birçok sektörde hammadde olarak kullanılmaktadır.

Sekonder metabolitlerin özellikleri;

- Sekonder metabolitler bitkiyi mikroorganizma, böcek, bakteriyel, fungal, patojen saldırılarına ve diğer avcılara karşı koruyarak aynı ortamdaki diğer bitkilerle rakabet gücünü arttırlar.
- Ekstraksiyon ve saflaştırma işlemleri bitkinin farklı büyüme evrelerinde sentezlendiklerinden dolayı zordur.
- Bitkiyi Stres faktörlerine karşı korur; sıcaklık değişimleri, su, ışık, ultraviyole ve mineral madde.
- Böcekleri cezbettirici özelliğe sahip olup bitkilerin tozlaşmasında önemli rol oynar.
- Sadece belirli bir cins veya türe özel olabilir biyokimyasal çeşitlilik sınırlıdır.

- Moleküllerin stereokimyasal varyasyonları ve yapısal türevleri çok fazladır.
- Özelleşmiş organ, doku veya sistemlerde depolanarak sentezlendikleri yerden farklı bir depolanma şekline sahiptirler [25]. Aşağıda Şekil 2.8’de sekonder metabolitlerin oluşum mekanizması detaylı bir şekilde anlatılmıştır [25].



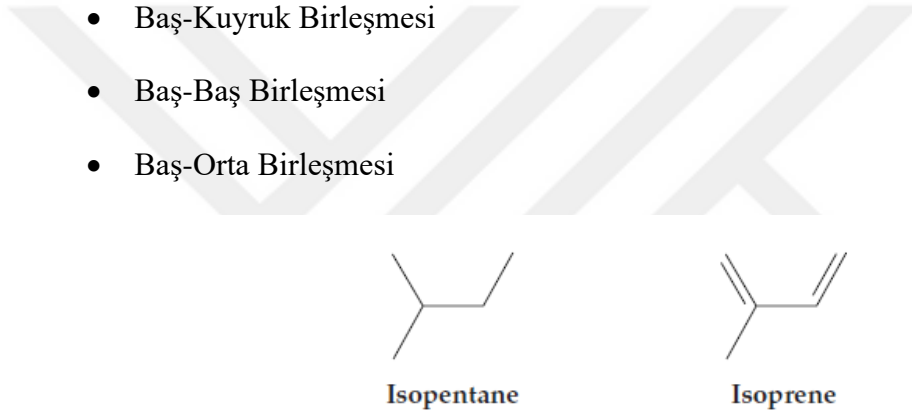
Şekil 2.8 : Sekonder Metabolitlerin Oluşum Mekanizması [25].

2.4.1 Terpenler

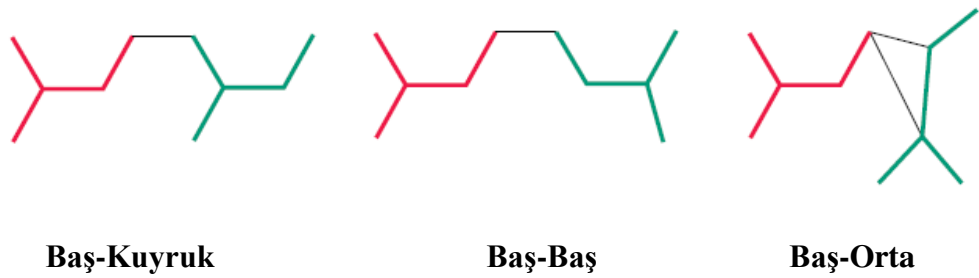
Terpenler doğal ürünlerin en büyük sınıfını oluşturmaktadır. Terpenler bitkilerin çiçek, yaprak, gövde, tohum ve kökünde bulunmaktadır. Ayrıca bazı böcek türleri, Liken ve yosunlarda karşımıza çıkmaktadır. Tüm terpenler 5 karbonlu izopren birimlerinin farklı şekillerde birleşmesiyle meydana gelirler. Aşağıda Şekil 2.9'da izopren ve izopentan moleküllerini, Şekil 2.10'da ise izopren birimlerinin birbirleriyle birleşme şekilleri gösterilmiştir. Terpenlerin karbon sayılarına göre sınıflandırılması Tablo 2.6'da belirtilmiştir [26]. Terpenlerin oluşum mekanizması Şekil 2.11'de gösterilmiştir [27].

Bu birleşmeler 3 farklı şekilde olabilir.

- Baş-Kuyruk Birleşmesi
- Baş-Baş Birleşmesi
- Baş-Orta Birleşmesi



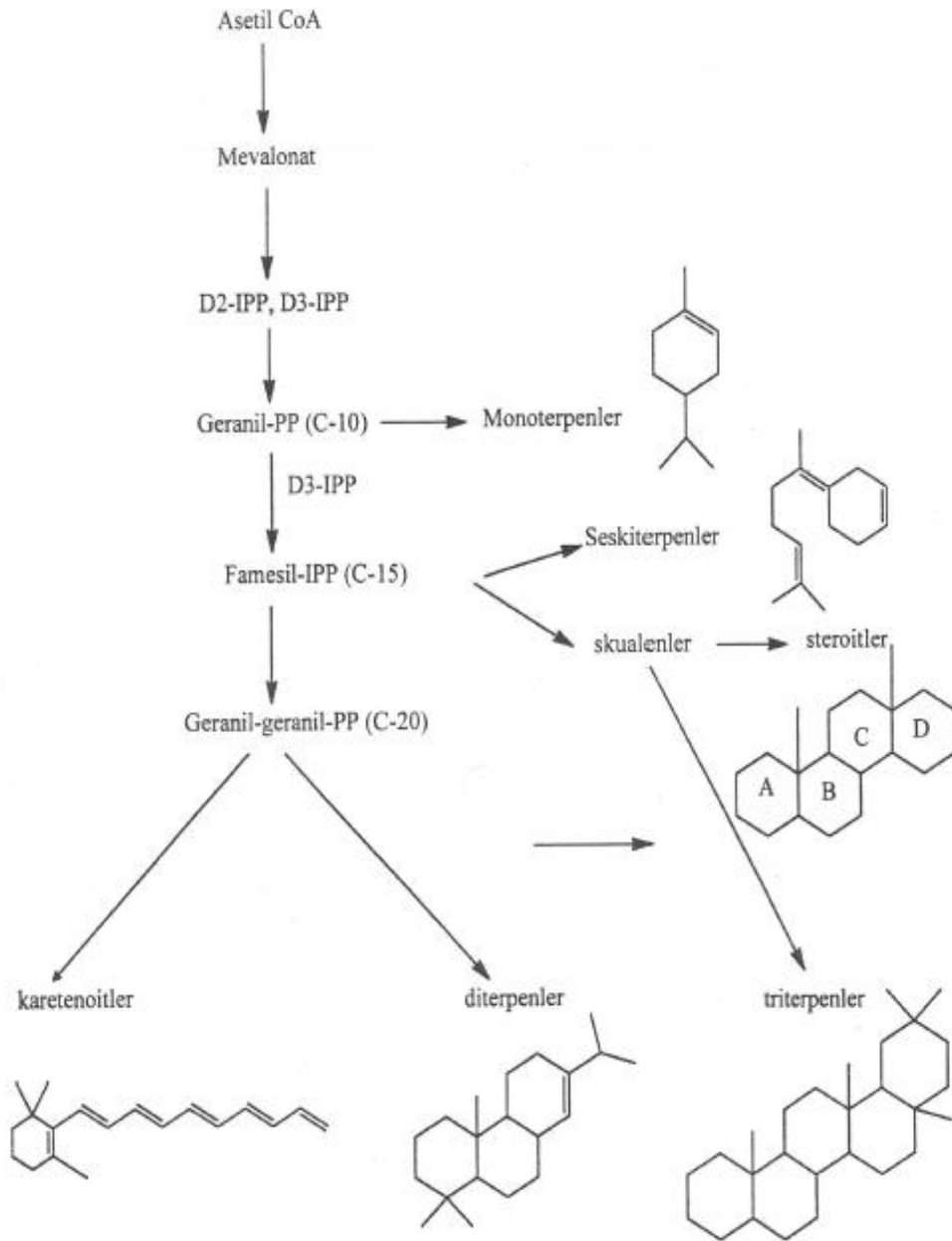
Şekil 2.9 İzopentan ve İzopren molekülleri.



Şekil 2.10 : İzopren moleküllerinin birleşme şekilleri [27].

Tablo 2.6 : Karbon sayısına göre (n) terpenlerin sınıflandırılması.

n	Adı	Bulunuş Yeri
10	Monoterpen	Uçucu yağ
15	Seskiterpen	Uçucu Yağlar, Reçineler
20	Diterpen	Reçineler, Acı Maddeler
25	Sesterterpen	Reçineler, Acı Maddeler
30	Triterpenler	Reçineler, Acı Maddeler
40	Tetraterpenler	Kökler, Meyveler
100-	Politerpenler	Lateksler, Kökler



Şekil 2.11 : Terpenlerin Oluşum mekanizması [27].

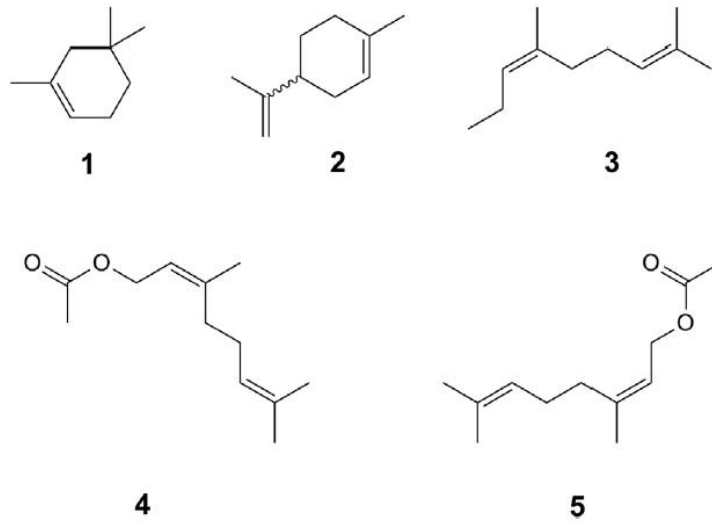
2.4.1.1 Hemiterpenler

Küçük bir grup olan 5 Karbonlu Yarı Terpenlerdir. En bilinen hemiterpenlere örnek prenil asetat ve benzoattır.

2.4.1.2 Monoterpenler

Monoterpenler 10 karbonlu olup iki izopren biriminin birleşmesi ile meydana gelen terpenlerdir. Monoterpenler hoş kokulu aromatik bitkilerden, baharatlardan elde edilen uçucu yağların birleşenlerini oluşturur. Güzel kokuları nedeni ile kozmetik sanayinde ve en çok da Parfüm sanayinde esans ve aromaların üretilmesinde kullanılmaktadır örnek olarak alpha-pinen, geraniol, limonen ve menthol verilebilir.

Helichrysum italicum uçucu yağının içerdiği ana monoterpeneri Şekil 2.12'de 1 numara'da α -pinene, 2 numara'da limonene, 3 numara'da nerol, 4 numara'da 4-neryl acetate ve 5 numara'da neryl propanoate'in molekül yapıları belirtilmiştir.



Şekil 2.12 : Monoterpenlere örnekler.

2.4.1.3 Seskiterpenler

3 izopren biriminin bileşmesi ile meydana gelen 15 karbonlu terpenlerdir. Monoterpenlere göre daha yüksek molekül ağırlıklarının sonucu olarak buhar basınçları monoterpenerine göre daha düşük kaynama noktaları ise daha yüksektir.

Bu nedenle seskiterpenlerin monoterpenlere göre havadaki konsantrasyonları daha düşüktür bu da onların burundaki reseptörler tarafından çok hızlı ve etkili şekilde tanınmasını sağlar. Bu özelliklerinin bir sonucu olarak çok az di-terpen ve yüksek karbonlu terpenlerin kokuları vardır. Sonuç olarak seskiterpenlerin kokuları yoğundur çünkü düşük uçuculuklarından dolayı içinde olduğu kompozisyonu geç terkederler bu da onların içinde bulunduğu kompozisyondaki çok uçucu materyalleri sabitleyerek daha doğrusal bir karakter değişimi göstermelerini sağlar [28]. Seskiterpenlere örnek olarak alpha-vetivone, patchouly alcohol, artemisinin, abscisic asit, guaiol, alpha-eudesmol, verilebilir.

2.4.1.4 Diterpenler

Yapılarında 20 karbon barındıran 4 izopren biriminden oluşan terpen grubudur. Molekül ağırlıklarının yüksek olması ve yeteri kadar uçucu olmadıkları için koku verici özellikleri çok azdır. Sadece abiyatik asit koku verici olarak kullanılır. Karakteristik olarak amberimsi koku notlarına sahiptir. Bu özelliklerinden dolayı diterpenler çoğunlukla koku verici materyal olmak yerine çözücü olarak kullanılırlar. Hidrofob olmaları ve düşük uçuculuklarından dolayı çok iyi bir solvent ve koku sabitleyici görevi görmektedirler. Diğer diterpenlere örnek olarak Ferruginol ve Manoil oksit verilebilir.

2.4.2 Terpenler'in esans sektöründeki yeri

Terpenler doğal kokulu moleküllerin en büyük kısmını oluşturur bu nedenle modern esans sektöründe kullanılan yüzlerce doğal ve sentetik esans hammaddelerinin en geniş kısmını terpenler oluşturur diyebiliriz. Çok çeşitli koku karakterlerine sahiptir. Gül kokusu veren geraniol, çam kokusu veren borneol, nane kokusu veren menthol, menekşe kokusu veren methyl ionane örnek olarak verilebilir. Genellikle ferah, çiçeksi, narenciye, yeşil ve aromatik koku notlarına sahiptir. Parfüm materyallerinde en çok kullanılan terpen üyeleri oksijenlenmiş monoterpenlerdir. Hidrokarbon içeren monoterpenler genellikle hafif kokuya sahiptirler bu nedenle sadece hammadde bazlı kullanımı mevcuttur [28]. Aşağıda Tablo 2.7'de esans sektöründe kullanılan önemli terpenler ve koku karakterleri ile beraber detaylandırılmıştır.

Tablo 2.7 : Terpenlerin koku tiplerine örnekler [28].

Materyal	Verdiği Koku
Karvon	Bahçe nanesi
Sitronelol ve esterleri	Gül
Dihidromirsenol	Narenciye ve Çiçeksi
Geraniol, nerol ve esterleri	Gül
Linalol	Çiçeksi ve Odunumsu
Linalil asetat	Meyvemsi ve Çiçeksi
(Metil) iyonon	Menekşe
Menthol	Nane

2.5 Antioksidanlar

Bir veya birden fazla ortaklanmamış elektron taşıyan yapılar serbest radikal olarak adlandırılır ve bu yapılarıdaki elektronlar orbitallerde tek başlarına bulunurlar. Bu durum maddeninin çok aktif olmasına bazen de magnetik alana çekilmesine sebep olur [45]. Antioksidanlar reaktif molekülüdür. Dış yörüngede eşleşmemiş elektron bulundur ve besinlerin oksijen kullanarak enerjiye dönüşümü sırasında meydana gelmektedir. Serbest radikaller sürekli elektron alır ve verirler bu sebeple yüklü (+/-) veya nötr olabilirler. Vücudumuzdaki DNA, Lipit ve Karbonhidratların yapıları serbest radikaller tarafından zarar görmektedir bu da oksidatif stres olarak tanımlanmaktadır. Bu yapısal bozulmaların önlenmesinden, hasarlı yapıların yok edilmesinden ve radikal reaksiyonların ortadan kaldırılmasından antioksidanlar sorumludur. Oksidatif Stres kanser, diyabet, yaşlanma ve kalp hastalıkları gibi birçok hastalığa sebep olmaktadır. Canlıların yaşamları için gerekli olan oksijen solunum mekanizması ile mitokondrilerde elektron taşıma sisteminde (ETS) indirgenerek suya metabolize olur fakat bazı durumlarda oksijen reaksiyon zincirlerini tamamlamadan vücuttan ayrılırsa geride reaktif ara ürünler bırakır. Bunlar ise (ROS) reaktif oksijen türleri olarak adlandırılır. Radikalik zincir reaksiyonları ile oksidasyon meydana gelir ve radikaller zayıf bağlı elektronları kopartarak eşleşmemiş elektronları eşleştirme eğilimindedir. Bu durum radikallerin kimyasal olarak yeterince aktif olmalarına ve vücudumuzdaki varlıkları ile biyomoleküllerimizin hasarına neden olur [46]. Oksidatif stresin kaynağı reaktif oksijen ve azot türleridir. Radikalik olan ve olmayan şekilde çeşitleri mevcuttur. Süperoksit anyon (O₂⁻), hidroksil (OH[.]), peroksit (HOO[.]) ve alkoksi (RO[.]) radikalleri radikalik olan oksijen türlerine örnektir. Azot monoksit (NO[.]) radikalleri ise radikalik azot türlerine örnektir.

Nitröz asit (HNO₂), nitrozil katyonu (NO⁺) ve nitroksi anyonu (NO⁻) ise radikalik olmayan oksijen türlerine örnek olarak verilebilir [47]. Aşağıda Tablo 2.8’de oksidatif strese neden olan reaktif oksijen ve azot türleri detaylı bir şekilde anlatılmıştır.

Tablo 2.8: Oksidatif strese neden olan reaktif oksijen ve azot türleri [47].

Reaktif Türler	Radikaller	Radikal olmayanlar
Reaktif oksijen türleri	Süperoksit	Hidrojen peroksit
Reaktif oksijen türleri	Hidroksi	Hipokloröz asit
Reaktif oksijen türleri	Peroksi	Hipobromöz asit
Reaktif oksijen türleri	Alkoksi	Ozon
Reaktif oksijen türleri	Hidroperoksi	Singlet oksijen
Reaktif azot türleri	Nitrik oksit	Nitröz asit
Reaktif azot türleri	Azot dioksit	Nitrozil katyonu
Reaktif azot türleri	-	Nitroksi anyonu
Reaktif azot türleri	-	Diazot tetraoksit
Reaktif azot türleri	-	Peroksinitröz asit
Reaktif azot türleri	-	Peroksitsinitrit
Reaktif azot türleri	-	Nitronyum katyonu
Reaktif azot türleri	-	Alkiperoksit nitriller

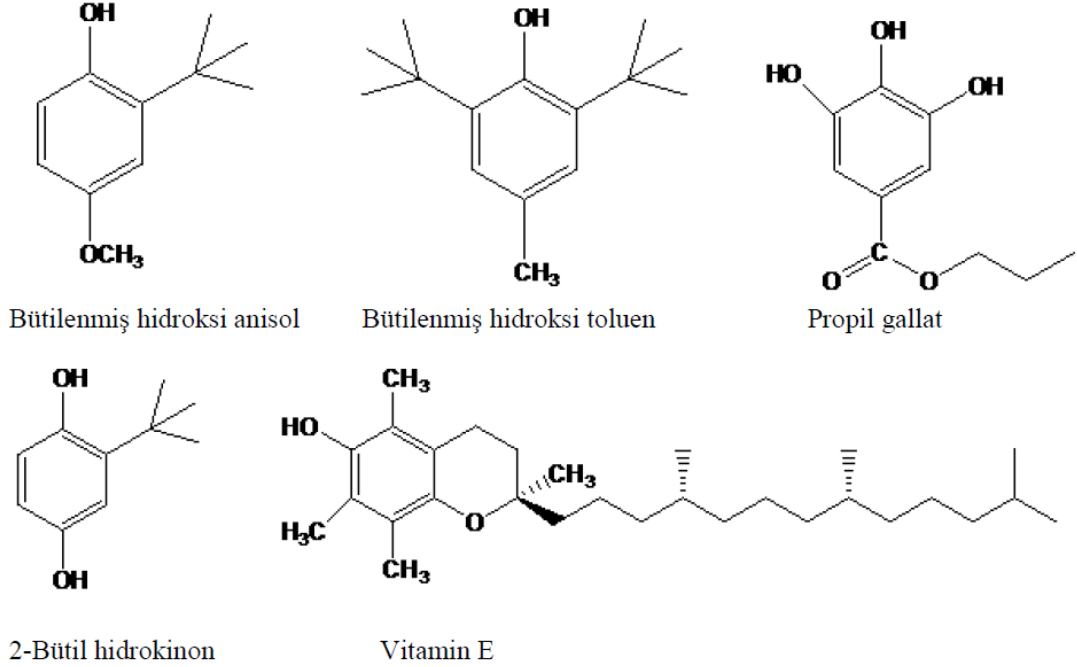
Reaktif oksijenlerin vücudumuza vereceği tahribatlar antioksidanlar tarafından tamamen önlenir veya azaltılır. Antioksidan içeriği yüksek olan meyve ve sebzelerin tüketilmesi ile reaktif oksijen türlerinin sorumlu olduğu biyomoleküllerimizdeki hasarların meydana getireceği hastalıklardan korunmuş oluruz [47].

Birçok işlenmiş gıdanın bozulmasını önlemek ve raf ömürlerini uzatmak için sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır bunlara örnek olarak kullanımı en yaygın olan BHA (Bütillenmiş hidroksi anisol), BHT (Bütillenmiş hidroksi toluen), PG (propil gallat) ve TBHQ (*t*-bütilhidrokinon) verilebilir. Yapılan araştırmalarda sentetik antioksidanlar ve bunların yan ürünlerinin birçok kanser hastalığına sebep olduğu ortaya konulmuştur [48,49]. Gün geçtikçe tüketiciler tükettikleri gıdalar konusunda daha da bilinçli hale gelerek sentetik antioksidanların kullanımı ile ilgili ciddi endişe taşımaktadır. Örnek verecek olursak karaciğerimizde CYP-450 enzim sistemine zarar verdiğine dair birçok çalışması olan BHT non toksik olarak belirtilen sentetik bir antioksidandır. Birçok araştırmaların sonucu olarak bazı sentetik oksidanların tüketiminin fazla olması durumunda vücuttan atılmasının mümkün olmadığı ve adipoz dokularda depolandığını belirtebiliriz [50]. Bazı sentetik antioksidan bileşiklere örnek Şekil 2.17’de verilmiştir.

Tüm bu olumsuz sonuçlar sentetik antioksidanlara kullanım olarak muadil olabilecek doğal kaynaklı yeni antioksidanların bulunması için yapılan çalışmalara hız kazandırmıştır. Ticari kullanımı olan doğal kaynaklı en önemli antioksidanlar askorbik asit ve tokoferollerdir. Diğer doğal kaynaklı antioksidanlara örnek verecek olursak Fenolik bileşikleri, Flavonoidleri, Aminoasitleri, Karotenoidleri ve Enzimatik antioksidanları (glukoz oksidaz, süperoksit dismutaz, katalaz) verebiliriz [51].

Doğal antioksidanlar bitkilerin tüm kısımlarında doğal yollar ile meydana gelmişlerdir. Doğal antioksidanlar fenoller, flavonoidler, vitaminler, karotenoidler, glutatyon ve endojen metabolitlerini içermektedir. Yapılan çalışmalar fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesinin yüksek olduğunu ortaya çıkarmıştır. Fenolik antioksidanlar hidroksil grubunun elektron yoğunluğunu arttırdığından reaktifliğini sonuç olarak azaltmış olur. Hidroksil grubuna bağlı olarak para konumundaki bütül ve etil gruplarının süstitüsüonu ile antioksidan aktiviteyi arttırdığı ayrıca bilinmelidir. Para konumundaki uzun zincir ve dallanmış alkil grupları sterik engellemeye neden olacağından antioksidan etkiyi azaltmaktadır. Orto pozisyonundaki dallanmış olarak bulunan alkil gruplarının süstitüsyonları kararlı rezonans yapıları oluşturduğundan fenolik antioksidan etkilerini artırır ve sonuç olarak antioksidan radikalinin reaksiyonlara katılma eğilimini azaltıcı yönde etki gösterir [52]. Doğal antioksidanların ana kaynakları sebzeler, kabuklu ve kabuksuz meyveler, tohumlar, yapraklar, çiçekler, kökler ve kabuklardır bu nedenle doğal antioksidan kaynaklardan yararlanabilmek için sebze ve meyve tüketimi çok önemlidir. Taze sebze ve meyvelerin tüketimi bizim hastalıklara yakalanma riskimizi azaltarak kanser hastalığından kaynaklı ölüm oranını da düşürmektedir. Tokoferoller, karotenoidler, askorbik asit ve skualenler en önemli antioksidanlardır. Askorbik asit ise bazı memelilerin karaciğerinde ve bitkilerde glukozdan sentezlenerek enzimlerde kofaktör olarak görev almaktadır. Kollajenin biyosentezinde görev alan prolinin hidroksilasyon reaksiyonlarına katılması örnek olarak verilebilir. Askorbik asitin bilinen en önemli özelliği indirgeyici olmasıdır, Fe^{3+} 'ü Fe^{2+} 'ye indirgeyebilir. Ayrıca in vivo indirgeyici özelliğinden kaynaklı olarak bazı organik radikallerin söndürülmesinde de önemli rolü vardır. Flavonoidler fenolik yapıları nedeniyle antioksidan özellik gösterir, etkili bir şekilde dokuları ve hücreleri reaktif oksijen türlerinin olumsuz etkilerine karşı korurlar [53]. Günümüze dek yapılan çalışmalarda binlerce bitkinin antioksidan aktivitesi test edilmiş olup bitki ekstraktları ve izole edilen bazı saf maddeler sentetik antioksidanlardan (BHT ve E vitamini) çok daha aktif olduğu ortaya konulmuştur.

Bu sonuçlardan yola çıkarak bitkiler doğal antioksidanlardır diyebiliriz. Aşağıda Şekil 2.13’de sentetik antioksidanlara örnekler verilmiştir [54].



Şekil 2.13 : Sentetik antioksidan bileşiklerine örnekler.

2.5.1 Antioksidanların Etki Mekanizmaları

Antioksidanlar dört farklı yolla etki gösterirler.

- **Toplayıcı etki**

Antioksidan enzimlerinin (SOD, Katalaz) gösterdiği etkidir. Serbest antioksidan radikallerin etkilenmesi ile tutularak veya daha az reaktif bir moleküle çevrilmesi ile gösterdiği etkiye toparlayıcı etki denir.

- **Bastırıcı etki**

Askorbik asit (C Vitamini), α -tokoferol (E Vitamini), flavonoidler’in (kersetin, kateşin vb.) gösterdiği etki olup serbet oksijen radikalleriyle etkileşmesi ve üzerine bir hidrojen aktarımı sağlayarak aktivitelerini azaltma yada inaktif şekle dönüştürmesi ile gerçekleşen etkidir.

- **Zincir kırıcı etki**

Hemoglobin, albumin gibi bileşiklerinin gösterdiği etkidir olup serbest oksijen radikallerini bağlaması ve zincir reaksiyonlarını kırıp fonksiyonlarını engellemesi ile gerçekleşen etkidir.

- **Onarıcı etki**

Serbest halde bulunan radikallerin sebep olduğu hasarın onarılması ile gerçekleşen etkidir.

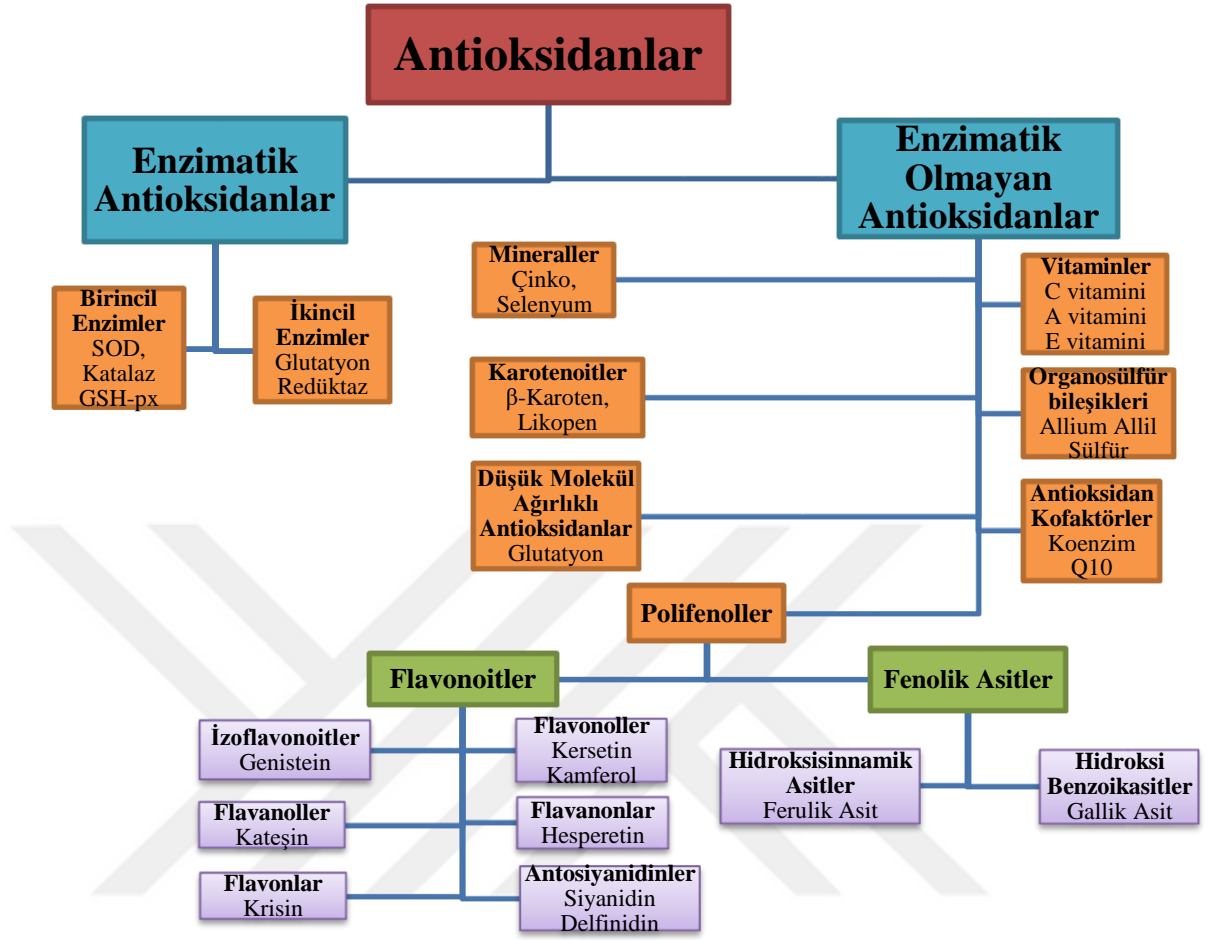
Antioksidanlar yapısı gereği yükseltgenen maddeler oldukları için kendileri yükseltgenerek bozunurlar bu sebeple antioksidanlar sadece kısa bir süreliğine yükseltgenme gösteren maddeleri koruyabilirler bir noktadan sonra yükseltgenen madde ortamda antioksidan yokmuşçasına yükseltgenmeye devam eder [55].

Bir antioksidanın aktivitesi şu husulara bağlı olarak gelişir;

- Hidrojen veya elektron donör olarak göstermiş olduğu reaktivite (redüksiyon potansiyeline bağlı olan) ile.
- Radikal süpürme yeteneği ile.
- Metal kelatlama potansiyeli ile.
- Diğer antioksidanlarla olan iletişim şekli ile.

2.5.2 Antioksidanların Sınıflandırılması

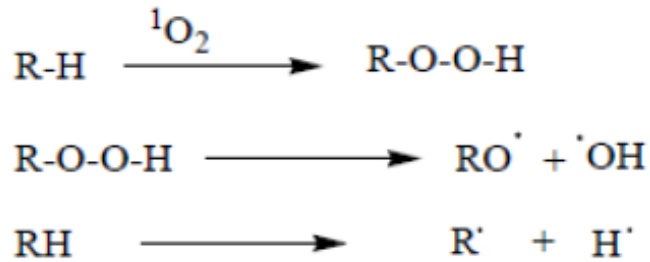
Antioksidanlar reaksiyon mekanizmaları baz alınarak birincil ve ikincil antioksidanlar olarak iki grupta toplanırlar. Bazı antioksidanlar ise birden fazla aktivite mekanizması gösterir bunlara da çok fonksiyonlu antioksidanlar denilmektedir [55]. Antioksidanların aşağıdaki Şekil 2.14'de gıdalarda ve biyolojik yapılardaki enzimatik ve enzimatik olmayan çeşitleri ile sınıflandırılması anlatılmaktadır.



Şekil 2.14 : Antioksidanların sınıflandırılması.

2.5.2.1 Birincil antioksidanlar

Zincir kırıcı antioksidanlar olarak da bahsedilen 1. tip antioksidanlar serbest radikal alıcılar olup otooksidasyonun başlangıç aşamasını erteler veya engeller ya da otooksidasyonun ileri aşamasını yarıda keser. Doymamış yağdan α -metilenik hidrojen ayrıldığında otooksidasyon başlar ve bir lipit (alkil) radikali (R.) oluşturur [57].



Otooksidasyon sonucu oluşmuş olan lipit radikali çok reaktif olup daha sonraki aşamalarda peroksi radikali (ROO.) oluşturmak amacıyla oksijenle tepkimeye girer.



Oluşan peroksi radikalleri lipitler ile muamele edilerek hidroperoksit ve yeni bir kararsız lipit radikali oluştururlar.



Sonraki aşamada bu lipit radikali bir başka peroksi radikali meydana getirmek için oksijen ile reaksiyona girer ve bu oksidatif mekanizma kendiliğinden gerçekleşir sonuç olarak otooksidasyon devam eder.



(ROOH) hidroperoksitler kararsız yapıdadırlar bu nedenle ve bozunma eğilimi göstererek radikaller meydana getirirler ve bu kararsız yapıları reaksiyonun hızlanmasına sebep olur.



Birincil antioksidanlar (AH) lipit radikalleri (R.) ve peroksi radikallerle (ROO.) reaksiyona girerek lipit radikallerini ve peroksi radikallerini daha stabil radikal olmayan ürünlere dönüştürürler. Birincil antioksidanlar lipit radikallerinden daha fazla peroksi radikallerine ilgi gösterirler bu nedenle otooksidasyon tepkimesi sonucunda meydana gelen peroksi (ROO.) ve oksil (RO.) serbest radikalleri birincil antioksidanlar tarafından yok edilirler [58].

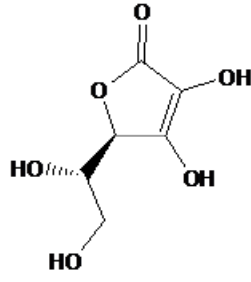


Hidrojenin verilmesi sonucu oluşan antioksidan radikali lipitlerle çok az reaksiyona girm eğilimindedir. Reaksiyon hızı Oksijen veya lipitlerle antioksidan radikalinin reaksiyonu çok yavaş olduğundan azalma gösterir. Fenol halkasının çevresinde ortaklanmamış elektronun dağılması sonucunda antioksidan radikali kararlı olur ve kararlı rezonans hibritleri oluşmuş olur. [57].

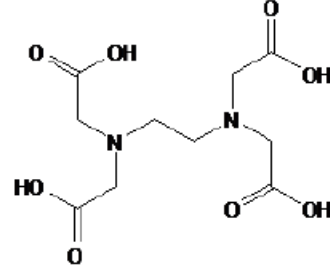
2.5.2.2 İkincil antioksidanlar

Koruyucu antioksidanlar olarak bilinen ve tip 2 olarak da ifade edilebilen ikincil tip antioksidanlar çok sayıda reaksiyon mekanizmalarına sahiptirler. Serbest radikalleri kararlı (stabil) yapılara dönüştüremeyen tip 2 antioksidanları tepkimedeki oksidasyon hızını yavaşlatırlar. Koruyucu antioksidanlar prooksidan metaller ile muamelesinde kelat meydana getirirler ve onları deaktive etme özelliği gösterirler.

İkincil antioksidanlar singlet oksijeni deaktive edebilir, oksijen giderici olarak davranabilir ve hidroperoksitlerin radikal olmayan yapılara parçalanmasını sağlarlar. Birincil antioksidanların aktivitesini çoğunlukla ikincil antioksidanlar arttırmaktadır. İkincil antioksidanlara örnek olarak Sitrik asit, askorbik asit, askorbil palmitat, lesitin, tartarik asit, EDTA ve β -karoten verilebilir [58]. İkincil antioksidanlar belli başlı etki mekanizmalarına göre Oksijen Gidericiler, İndirgenme Ajanları Kelat yapıcılar ve Singlet Oksijen gidericiler olarak 3 gruba ayrılırlar. Kelat yapıcılara Sitrik asit, fosforik asit, etilendiamintetraasetik asit (EDTA), tartarik asit, Oksijen giderici ve indirgenme ajanlarına askorbik asit, askorbil palmitat, eritorbikasit, sodyum eritorbat, sülfidler ve Singlet oksijen gidericilere ise Karotenoitler (β -Karoten, likopen ve lutein) örnek olarak verilebilir. Aşağıda Şekil 2.15'de İkinci Antioksidanlara örnekler verilmiştir.



Askorbik asit (C vitamini)



Etilendiamintetraasetik asit (EDTA)

Şekil 2.15 : İkincil antioksidan bileşiklere örnekler.

2.6 Uçucu yağların elde edilme yöntemleri

2.6.1 Su buharı destilasyonu

Bu metot da bitkisel materyali tamamen suyun içerisinde. Cam kap içine yerleştirilen bitki materyeline basınç yardımıyla buhar uygulanarak uçucu yağ elde etme ilkesine dayanır. Su buharı Destilasyonunda sisteme verilen buhar bitki materyelindeki uçucu yağı sürükleyerek yoğunlaşma alanda ise uçucu yağ yoğunlaşarak su'dan ayrılmış olur. Genellikle Clevenger aparatı ile beraber kullanılır [59]. Aşağıda Şekil 2.16'da Clevenger aparatının görseli paylaşılmıştır.

2.6.2 Hidro destilasyon

Hidro destilasyon metodu ile uçucu yağ elde etme yönteminde aromatik bitki materyali üzerine bitki miktarına bağlı olacak şekilde su eklenerek kaynatılıp yoğunlaştırma işlemleri yoluyla uçucu yağ elde edilme yöntemidir. Yaygın olarak kullanılan geleneksel bir yöntemdir. Küçük ölçekli çalışmalarda clevenger aparatı kullanılır, endüstriyel uygulamalarda büyük kazanlar kullanılmaktadır. Bitkiye sıcak su buharının nüfuz etmesi aromatik uçucu bileşikler bitki materyalinden ayrılarak su buharı ile sürüklenmeye başlar. Su ve yağ buhar karışımı endirekt yolla su vasıtası ile soğumaya başlayarak yoğunlaşır. Yoğunlaşma işleminden sonra su ve uçucu yağ birbirinden ayrışır.

Bitki materyalinin hidro distilasyon sürecinde 3 ana fitokimyasal süreç vardır.[59].
Hidro Distilasyon toz haldeki bitki materyallerinde çok başarılı sonuçlar vermektedir.

- Hidro diffüzyon
- Hidroliz
- Isı ile bozunma
-

3 çeşit hidro destilasyon türü vardır.

- 1) Su destilasyonu
- 2) Su-Buhar Destilasyonu
- 3) Direkt Buhar Destilasyonu



Şekil 2.16 : Clevenger tipi laboratuvar ölçekli hidrodestilasyon aparatı.

2.7 Uçucu yağların analiz yöntemleri

2.7.1 Gaz kromatografisi kütle spektroskopisi

2.7.1.1 GC/MS çalışma prensibi

Gaz Kromatografisi bir karışımda gaz halinde bulunan veya uçucu bileşikleri içeren karışımların birbirinden ayrılması amacı ile kullanılan en yaygın yöntemlerdendir.

Bu sistem hareketli ve sabit fazlar vasıtası ile uçucu moleküllerin ayrıştırma işlemi gerçekleştirir. Hareketli fazlar Gazlar oluşturur. Hareketli fazda kullanılan gazlar ise Azot, Helyum ve Argon örnek olarak verilebilir. Sabit faz ise Sıvı maddeler oluşturur.

Gaz kromatografisi tekniği sıvın fazın içindeki çözünürlük farkları vasıtasıyla belli bir sıcaklıkta taşıyıcı gaz akışı hızındaki ayrılmaları temeline dayanır. Gaz haline getirilebilen tüm örnekler Gaz kromatografisinde analiz edilebilir. Gaz kromatografisinde analiz edilebilecek metaryeller mutlaka uçucu ve sıcaklığa dayanıklı formda olmalıdır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Bitkisel materyal

Helichrysum italicum (Roth) G. Don. Bitkisi'nin 300 adet fideleri İzmir'in Menemen ilçesinde bulunan Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü'ne Mart 2017'de dikimi enstitü personeli tarafından yapılmış olup, eş zamanlı olarak İstanbul'un Silivri ilçesinde bulunan Türam Silivri belediyesi Tarımsal Araştırma Merkezine merkezin personeli tarafından Mart 2017'de dikimi yapılmıştır. Haziran 2018'de hem Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsünden hem de Türam Silivri belediyesi Tarımsal Araştırma Merkezinden bitkilerin toprak üstü kısımları hasat edilerek Bezmialem Fitoterapi Eğitim, Uygulama ve Araştırma merkezine getirilmiş olup deneysel çalışmaların hazırlığına Temmuz 2018'de başlanmıştır. Aşağıdaki Şekil 3.1'de Türam Silivri belediyesi Tarımsal Araştırma merkezinde bitkinin hasat edilme anına ait bir fotoğraf paylaşılmıştır.



Şekil 3.1 : Türam Silivri belediyesi Tarımsal Araştırma Merkezi *Helichrysum italicum* bitkisi'nin hasadına ait fotoğraf.

3.2 Kimyasal maddeler, çözücüler ve çözeltiler

3.2.1 Kimyasal maddeler ve çözücüler

Deneysel çalışmalar süresi boyunca uçucu yağ elde edilmesi ve özellikle bitki ekstralarının hazırlanması aşamasında çözücü madde olarak deiyonize su, etanol (C₂H₅OH, %96, CARLO ERBA REAGENT, CAS NO:64-17-5), gliserin (C₃H₈O₃, %99, düzey lab, CAS NO:56-81-5) ve Hekzan (C₆H₁₄, N HEXAN 100%, CAS NO:110-54-3) kullanıldı. Total Fenolik ve Flavonoit madde miktar tayini aşamalarında pH 1.0 (ChemBio Buffer Solution CB2209), sodium acetate (C₂H₃NaO₂, %99, MERCK, CAS NO:127-09-3), acetic acid (CH₃COOH, %100, MERCK, CAS NO:64-19-7), Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR)(MERCK-HC60433201), sodyum karbonat pure grade (Na₂CO₃, %99, TEKKİM, CAS NO:497-19-8), aluminium chloride (AlCl₃, %98, MERCK, Index No:013-003-00-7), amonyum asetat pure grade (CH₃COONH₄, %95, TEKKİM, CAS NO:631-61-8), pirogalol (GR for analysis, MERCK, CAS NO:87-66-1), jelatin, formic acid (CH₂O₂, %98-100, SIGMA-ALDRICH, CAS NO:64-18-6), 1-Butanol (CH₃(CH₂)₃OH, %99,5, MERCK, Index No:603-004-00-6), DPPH, BHT, BHA, gallic acid (Sigma-Aldrich, %99,8, CAS NO: 149-91-7), quercetin (Sigma-Aldrich, %95, CAS NO: 117-39-5) kimyasalları kullanıldı.

3.2.2 Kullanılan cihazlar

Uçucu yağ elde etme aşamasında kullanılan cihazlar Soğutmalı Sirkülasyon Banyosu (Julabo Vivo RT4), Manyetik Karıştırıcılı Balon Isıtıcı (MS-ES 5000ML), Reaksiyon Balonu (5000ML), Reaksiyon balon Başlığı (DILEX NO 29/32 3 boyunlu), Clevenger Aparatı. Elde edilen ekstralar üzerine yapılan deneysel çalışmalarda Eliza cihazı (BioTek Epoch), döner buharlaştırıcı (Soxhlet cihazı) (HEİDOLPH Rotary Evaporatör Panel Hei-VAP 43. Precision ML P/N:569-40000-00-1), (HOTPLATE ve hassas terazi (SHIMADZU AUW220D), cihazları kullanıldı. İlave olarak çeşitli teknik cam ve plastik ekipmanları kullanıldı.

3.3 Çözeltilerin hazırlanması

Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsünde ve Türam Silivri belediyesi Tarımsal Araştırma Merkezinde yetiştirilmiş olan *Helichrysum italicum* bitkisinin hem toprak üstü kısımları hemde çiçek kısmından hazırlanacak ekstreler için 4 farklı çözücü sistemi kullanılmıştır. Aşağıdaki Tablo 3.1’de kullanılan çözücü sistemleri belirtilmiştir.

Tablo 3.1 : Kullanılan Çözücü Sistemleri.

Çözücü çeşidi	Çözücü
Çözücü 1	H ₂ O(Su)
Çözücü 2	96% EtOH
Çözücü 3	70% EtOH
Çözücü 4	H ₂ O + Gly(Gliserin) (1: 1)

10 gr kurutulup öğütülen *Helichrysum italicum* bitkisinin hem toprak üstü hem de çiçek kısımları hazırlanmıştır. 200 ml çözücü eklenerek 16 farklı karışım hazırlandı ve sıklıkla karıştırarak 1 gün ortam sıcaklığında 25 °C beklemeye bırakıldı. 1 gün sonra filtre kâğıdı yardımıyla süzüldü. Ekstreler’in toplam fenolik ve flavonoid miktar tayinlerine ek olarak Dpph yöntemi ile antioksidan aktiviteleri belirlendi.

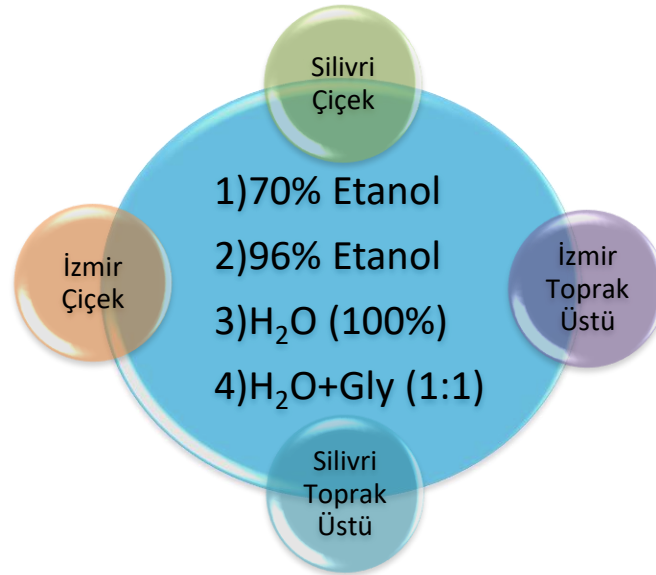
3.3.1 Toplam fenolik miktar tayininde kullanılan ekstre ve çözeltiler

Toplam Fenolik Miktar tayinlerinde 4 farklı çözücü sistemi kullanıldı.Bitkiler bu çözücülerin içerisinde 1 gün bekletildi. Ana ekstrelerin ve kullanılan kimyasalların hazırlığı aşağıda detaylı bir şekilde anlatılmıştır.

- 70% Etanol kullanılarak hazırlanan ekstre: İzmir Menemen ve Silivri Türam’da yetiştirilen *Helichrysum italicum* bitkisinin hem toprak üstü hem de çiçek kısımlarından 10’ar gr öğütülüp hazırlandı. Herbirine ayrı ayrı 200 ml 70% lik etanol ilave edildi. 1 gün bekletildikten sonra filtre kâğıdı yardımıyla süzüldü ve 4 ayrı ekstre elde edilmiş oldu.
- 96% Etanol kullanılarak hazırlanan ekstre: İzmir Menemen ve Silivri Türam’da yetiştirilen *Helichrysum italicum* bitkisinin hem toprak üstü hem de çiçek kısımlarından 10’ar gr öğütülüp hazırlandı.

Herbirine ayrı ayrı 200 ml 96% lik etanol ilave edildi. 1 gün bekletildikten sonra filtre kâğıdı yardımıyla süzüldü ve 4 ayrı ekstre elde edilmiş oldu.

- H₂O (Su) (100%) kullanılarak hazırlanan ekstre: İzmir Menemen ve Silivri Türam'da yetiştirilen *Helichrysum italicum* bitkisinin hem toprak üstü hem de çiçek kısımlarından 10'ar gr öğütülüp hazırlandı. Herbirine ayrı ayrı 200 ml su ilave edildi. 1 gün bekletildikten sonra filtre kâğıdı yardımıyla süzüldü ve 4 ayrı ekstre elde edilmiş oldu.
- H₂O (Su) + Gly (Gliserin) (1:1) kullanılarak hazırlanan ekstre: İzmir Menemen ve Silivri Türam'da yetiştirilen *Helichrysum italicum* bitkisinin hem toprak üstü hem de çiçek kısımlarından 10'ar gr öğütülüp hazırlandı. Herbirine ayrı ayrı 200 ml Su ve Gliserin karışımı (1:1) ilave edildi. 1 gün bekletildikten sonra filtre kâğıdı yardımıyla süzüldü ve 4 ayrı ekstre elde edilmiş oldu.
- % 7 lik Na₂CO₃ çözeltisi: 7 gr Na₂CO₃ tartılarak 100 ml'ye saf su ile tamamlanarak ultrasonik banyoda çözülene dek bekletilir.
- Referans olarak kullanılan gallik asit çözeltisi: 1000 ppm gallik asit stok çözeltisi hazırlanarak farklı konsantrasyonlarda seyreltmeler yapılarak kalibrasyon eğrisi belirlendi.



Şekil 3.2 : Total fenolik ve flavonoit miktarının belirlenmesi için hazırlanan ekstrereleler.

3.3.2 Toplam flavonoid miktar tayininde kullanılan çözeltiler

Toplam fenolik miktar tayinlerinde 4 farklı çözücü sistemi kullanıldı. Bitkiler bu çözücülerin içerisinde 1 gün bekletildi. ana ekstrelerin ve kullanılan kimyasalların hazırlığı aşağıda detaylı bir şekilde anlatılmıştır.

- 70% Etanol kullanılarak hazırlanan ekstre: İzmir Menemen ve Silivri Türam'da yetiştirilen *Helichrysum italicum* bitkisinin hem toprak üstü hem de çiçek kısımlarından 10'ar gr öğütülüp hazırlandı. Herbirine ayrı ayrı 200 ml 70% lik Etanol ilave edildi. 1 gün bekletildikten sonra filtre kâğıdı yardımıyla süzüldü ve 4 ayrı ekstre elde edilmiş oldu.
- 96% Etanol kullanılarak hazırlanan ekstre: İzmir Menemen ve Silivri Türam'da yetiştirilen *Helichrysum italicum* bitkisinin hem toprak üstü hem de çiçek kısımlarından 10'ar gr öğütülüp hazırlandı. Herbirine ayrı ayrı 200 ml 96% lik Etanol ilave edildi. 1 gün bekletildikten sonra filtre kâğıdı yardımıyla süzüldü ve 4 ayrı ekstre elde edilmiş oldu.
- H₂O (Su) (100%) kullanılarak hazırlanan ekstre: İzmir Menemen ve Silivri Türam'da yetiştirilen *Helichrysum italicum* bitkisinin hem toprak üstü hem de çiçek kısımlarından 10'ar gr öğütülüp hazırlandı. Herbirine ayrı ayrı 200 ml Su ilave edildi. 1 gün bekletildikten sonra filtre kâğıdı yardımıyla süzüldü ve 4 ayrı ekstre elde edilmiş oldu.
- H₂O (Su) +Gly (1:1) kullanılarak hazırlanan ekstre: İzmir Menemen ve Silivri Türam'da yetiştirilen *Helichrysum italicum* bitkisinin hem toprak üstü hem de çiçek kısımlarından 10'ar gr öğütülüp hazırlandı. Herbirine ayrı ayrı 200 ml Su ve Gliserin karışımı (1:1) ilave edildi. 1 gün bekletildikten sonra filtre kâğıdı yardımıyla süzüldü ve 4 ayrı ekstre elde edilmiş oldu
- 10% lik hazırlanan AlCl₃ çözeltisi: 10 gr alüminyum klorit tartıldı ve 100 ml' ye saf suyla tamamlandı.
- 1M CH₃COONH₄ çözeltisi: 7,7 gr amonyum asetat tartılarak 100 ml' ye suyla tamamlandı. Ultrasonik banyoda çözünme işlemi tamamlanana dek bekletildi.

- Referans kersetin çözeltisi: 1000 ppm kersetin stok çözeltisi hazırlanarak farklı konsantrasyonlarda olacak şekilde seyreltmeler yapıldı ve kalibrasyon eğrisi belirlendi.

3.3.3 Antioksidan aktivite tayin yönteminde kullanılan çözeltiler

4 farklı çözücü sistemi kullanıldı. En ideal şartlarda ekstralar hazırlandı ve hazırlanan ekstralar süzildükten sonra döner buharlaştırıcıda kurutuldu ve kuru ekstralar antioksidan tayininde esas ekstre olarak kullanıldı.

- H₂O (Su) (100 %) kullanılarak hazırlanan ekstre: İzmir Menemen ve Silivri Türam'da yetiştirilen *Helichrysum italicum* bitkisinin hem toprak üstü hem de çiçek kısımlarından 10'ar gr öğütülüp hazırlandı. Herbirine ayrı ayrı 200 ml su ilave edildi. 1 gün bekletildikten sonra filtre kâğıdı yardımıyla süzüldü ve 4 ayrı ekstre elde edilmiş oldu. Elde edilen süzüntü döner buharlaştırıcıda yeterli kuruluğa ulaşınca dek kurutulularak kuru ekstre elde edildi. Elde edilen kuru ekstre antioksidan aktivite tayininde ana ekstre olarak kullanıldı.
 - ❖ 1000 ppm (H₂O (Su) Stok çözeltisi): H₂O çözücülü ana ekstreten 1000 ppm'lik stok çözelti hazırlandı. Ultrasonik banyoda 5 dk bekletilerek homojen bir çözünme sağlandı. Belirlenen ppm değerlerinin eldesi için gerekli seyreltmeler stok çözeltilerden yapıldı.
- 70% Etanol kullanılarak hazırlanan ekstre: İzmir Menemen ve Silivri Türam'da yetiştirilen *Helichrysum italicum* bitkisinin hem toprak üstü hem de çiçek kısımlarından 10'ar gr öğütülüp hazırlandı. Herbirine ayrı ayrı 200 ml 70% etanol ilave edildi. 1 gün bekletildikten sonra filtre kâğıdı yardımıyla süzüldü ve 4 ayrı ekstre elde edilmiş oldu. Elde edilen süzüntü döner buharlaştırıcıda yeterli kuruluğa ulaşınca dek kurutulularak kuru ekstre elde edildi. Elde edilen kuru ekstre antioksidan aktivite tayininde ana ekstre olarak kullanıldı.
 - ❖ 1000 ppm (70% Etanol Stok çözeltisi): H₂O çözücülü ana ekstreten 1000 ppm'lik stok çözelti hazırlandı. Ultrasonik banyoda 5 dk bekletilerek homojen bir çözünme sağlandı. Belirlenen ppm değerlerinin eldesi için gerekli seyreltmeler stok çözeltilerden yapıldı.

- 96% Etanol kullanılarak hazırlanan ekstre: İzmir Menemen ve Silivri Türam'da yetiştirilen *Helichrysum italicum* bitkisinin hem toprak üstü hem de çiçek kısımlarından 10'ar gr öğütülüp hazırlandı. Her birine ayrı ayrı 200 ml 96% etanol ilave edildi. 1 gün bekletildikten sonra filtre kâğıdı yardımıyla süzüldü ve 4 ayrı ekstre elde edilmiş oldu. Elde edilen süzüntü döner buharlaştırıcıda yeterli kuruluğa ulaşıncaya dek kurutulularak kuru ekstre elde edildi. Elde edilen kuru ekstre antioksidan aktivite tayininde ana ekstre olarak kullanıldı.
 - ❖ 1000 ppm (70% Etanol Stok çözeltisi): H₂O çözücülü ana ekstreten 1000 ppm'lik stok çözelti hazırlandı. Ultrasonik banyoda 5 dk bekletilerek homojen bir çözünme sağlandı. Belirlenen ppm değerlerinin eldesi için gerekli seyreltmeler stok çözeltiden yapıldı.
- H₂O (Su) +Gly (1:1) kullanılarak hazırlanan ekstre: İzmir Menemen ve Silivri Türam'da yetiştirilen *Helichrysum italicum* bitkisinin hem toprak üstü hem de çiçek kısımlarından 10'ar gr öğütülüp hazırlandı. Herbirine ayrı ayrı 200 ml gliserin ve su (1:1) ilave edildi. 1 gün bekletildikten sonra filtre kâğıdı yardımıyla süzüldü ve 4 ayrı ekstre elde edilmiş oldu. Elde edilen süzüntü döner buharlaştırıcıda yeterli kuruluğa ulaşıncaya dek kurutulularak kuru ekstre elde edildi. Elde edilen kuru ekstre antioksidan aktivite tayininde ana ekstre olarak kullanıldı.
 - ❖ 1000 ppm (70% Etanol Stok çözeltisi): H₂O çözücülü ana ekstreten 1000 ppm'lik stok çözelti hazırlandı. Ultrasonik banyoda 5 dk bekletilerek homojen bir çözünme sağlandı. Belirlenen ppm değerlerinin eldesi için gerekli seyreltmeler stok çözeltiden yapıldı.
- 0,1 mM DPPH Çözeltisinin hazırlanması: 4 mg Dpph standart maddesi'nin tartımı yapılarak 100 ml Etanol ile çözümlenerek çözelti hazırlanmıştır.
- BHA Çözeltisinin hazırlanması: 10 mg BHA standart maddesinin tartımı yapıp 10 ml Etanol ile çözülmüştür. Hazırlanan çözelti standart çözelti olarak kullanılmıştır.

- BHT Çözeltisi: 10 mg BHT standart maddesinin tartımı yapıp 10 ml Etanol ile çözülmüştür. Hazırlanan çözelti standart çözelti olarak kullanılmıştır.
- Kontrol Çözeltisinin hazırlanması: Etanol çözücüsü kontrol çözeltisi olarak kullanılmıştır.

3.4 Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoid Miktar Tayin Yöntemleri

3.4.1 Toplam fenolik miktar tayini yöntemi

3.4.1.1 Folin ciocalteau yöntemi

Standart fenolik bileşik olan gallik asit'in ($C_7H_6O_5$) 0, 10, 20, 40, 60, 80, 100 ppm ($\mu\text{g/mL}$) miktarlarındaki standartları baz alınır. Bu konsantrasyonlardaki absorbansları ölçülerek derişime karşı absorbans grafiği çizilir. Çizilen eğriden elde edilen değerler ile gallik asit'e eş değer olan miktarlar ($\mu\text{g/mL}$) hesaplanır. Kalibrasyon aralığı belirlenir. Blank olarak su kullanılır ve kuru ekstredeki miktarlar yüzde değer olarak hesaplanır [60].

3.4.2 Toplam flavonoid miktar tayini yöntemi

3.4.2.1 Alüminyum klorür kolorimetrik yöntemi

Standart flavonoit bileşik olan kersetin'in ($C_{15}H_{10}O_7$) 0, 10, 20, 40, 60, 80, 100 ppm ($\mu\text{g/mL}$) miktarlarındaki standartları baz alınır. Bu konsantrasyonlardaki absorbansları ölçülerek derişime karşı absorbans grafiği çizilir. Çizilen eğriden elde edilen değerler ile kersetin'e eş değer olan miktarlar (mg QE/L) hesaplanır. Kalibrasyon aralığı belirlenir. Blank olarak su kullanılır ve kuru ekstredeki miktarlar yüzde değer olarak hesaplanır [60].

3.5 Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

3.5.1 Dpph serbest radikal giderimi aktivitesi yöntemi

Dpph (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) kararlı serbest bir radikal olup 517 nm'de karakteristik absorbsiyon göstermektedir.

Aşağıdaki Şekil 3.5’de gösterilen mekanizma tepkimesinde anlatıldığı gibi antioksidan aktivitenin varlığı Dpph’ın 517 nm’deki soğurum pikinin şiddetindeki azalma ile orantılı bir şekilde nicel ve nitel olarak belirlenmektedir [60].



Şekil 3.3: Dpph antioksidan mekanizma tepkimesi [60].

3.6 Spektroskopik Yöntemler

3.6.1 Eliza spektroskopisi

Eliza (enzyme-linked immunosorbent assay) levha bazlı analiz tekniği olup peptitlerin, proteinlerin, antikor ve hormonları saptamak ve ölçmek için tasarlanmıştır. Cihazda veri analiz yazılımı, sıcaklık kontrolü içeren mikropilaka spektrofotometre görünen bölgede absorbans ölçerek çalışır. Cihazda her bölgede kendi ışığını ve referans dedektörü içerir. Bu cihaz yüksek kessinliğe ve mikropilakayı çok hızlı okuma imkanı vermektedir. Mikropilakalar aracılığı ile numunelerdeki biyolojik, fiziksel ve kimyasal olayları tespit edebilen ve ölçebilen bir cihazdır [61]. Bu çalışmada kullanılan cihaz Epoch/Biotek Eliza cihazıdır.

3.7 Kromatografik Yöntemleri

3.7.1 Gaz kromatografisi

GC/MS Agilent 5977 E DB-WAX 60X0,25X0,25 Kolon kullanılarak, 70 °C sıcaklıkta 15 dk izotermal, dakikada 2 °C artışla 180 °C de 5dk izotermal ve dakikada 5°C artışla 230°C ve 230°C ‘de 15 dk izotermal ölçüm yapılarak, akış hızı dakikada 1,5 ml helyum gazı, enjeksiyon hacmi 1µl, split 50:1, enjeksiyon sıcaklığı 230 °C ve

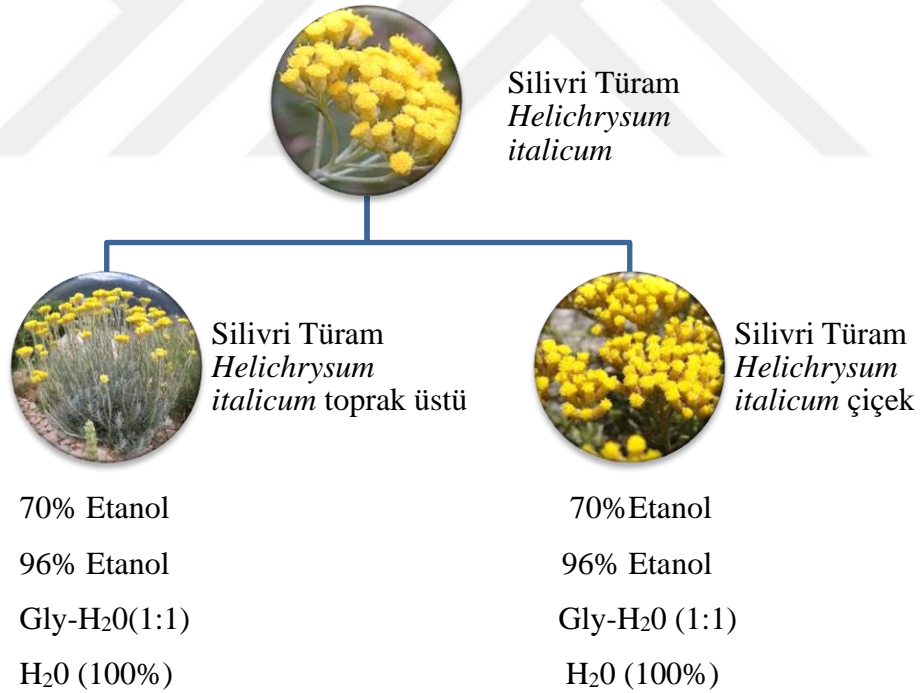
kütle tarama aralığı 40-550 m/z şartlarında yapılan analiz sonucunda bileşiklerin tespiti için Nıst Mass 2.0 kullanılmıştır.



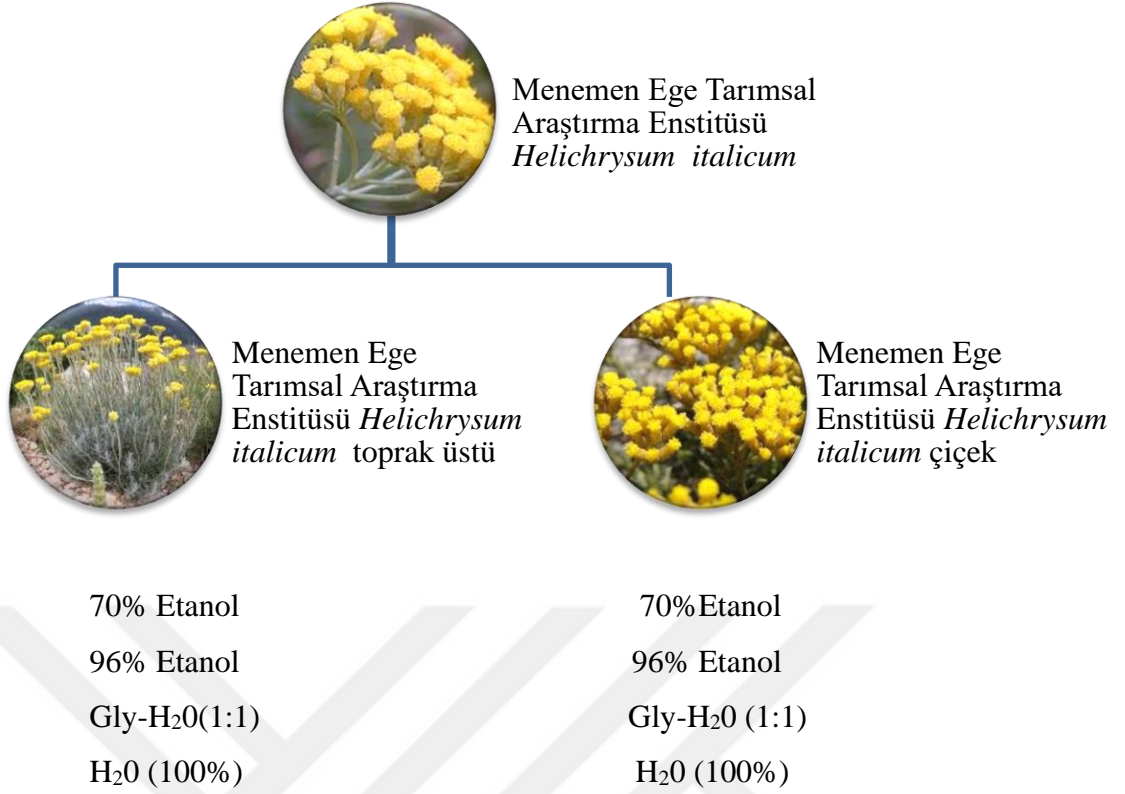
4. DENEYSEL BÖLÜM

4.1 Bitkilerin Ekstre Edilmesi

Helichrysum italicum bitkisi Haziran 2018’de hem Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsünden hem de Türam Silivri belediyesi Tarımsal Araştırma Merkezinden toprak üstü kısımları hasat edilerek Bezmialem Fitoterapi Eğitim, Uygulama ve Araştırma merkezine getirilmiş olup deneysel çalışmaların hazırlığına Temmuz 2018’de başlanmıştır. Ekstrelerin elde edilmesinde 4 farklı çözücü sistemi kullanılmıştır. Yapılan tüm deneysel işlemler bitkinin yetiştirildiği her iki bölge için tekrarlanıp hem çiçek hem de toprak üstü kısımları kullanılarak ekstratler hazırlanmıştır. Aşağıdaki Şekil 4.1’de hazırlanan ekstratlerde kullanılan çözücüler ve bitkiler belirtilmiştir.

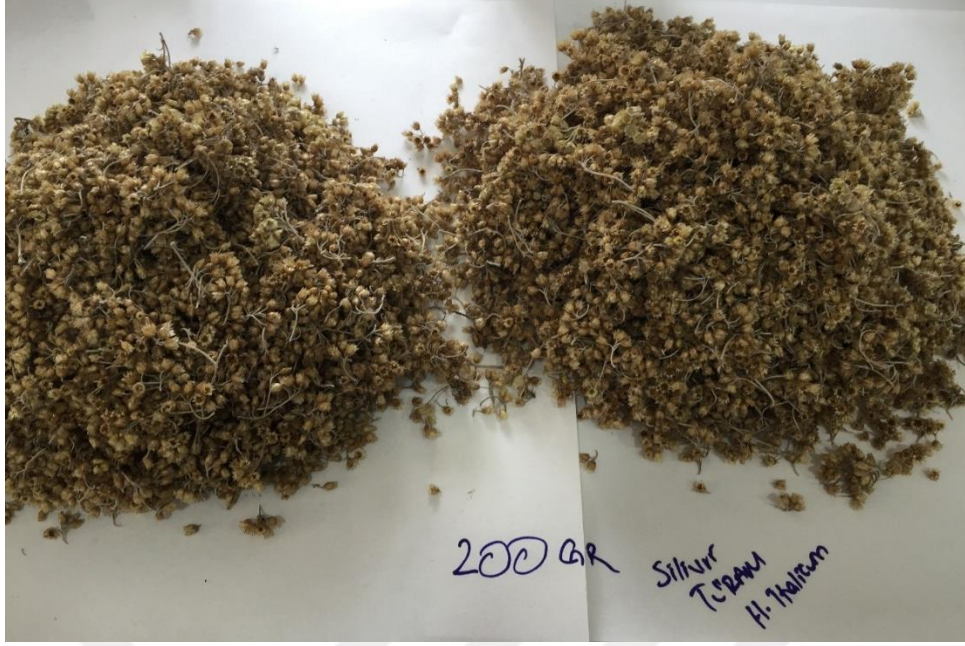


Şekil 4.1 : Silivri Türam’da yetiştirilen *Helichrysum italicum* bitkinin kullanılan bölgesi ve ekstre çözücülerini.

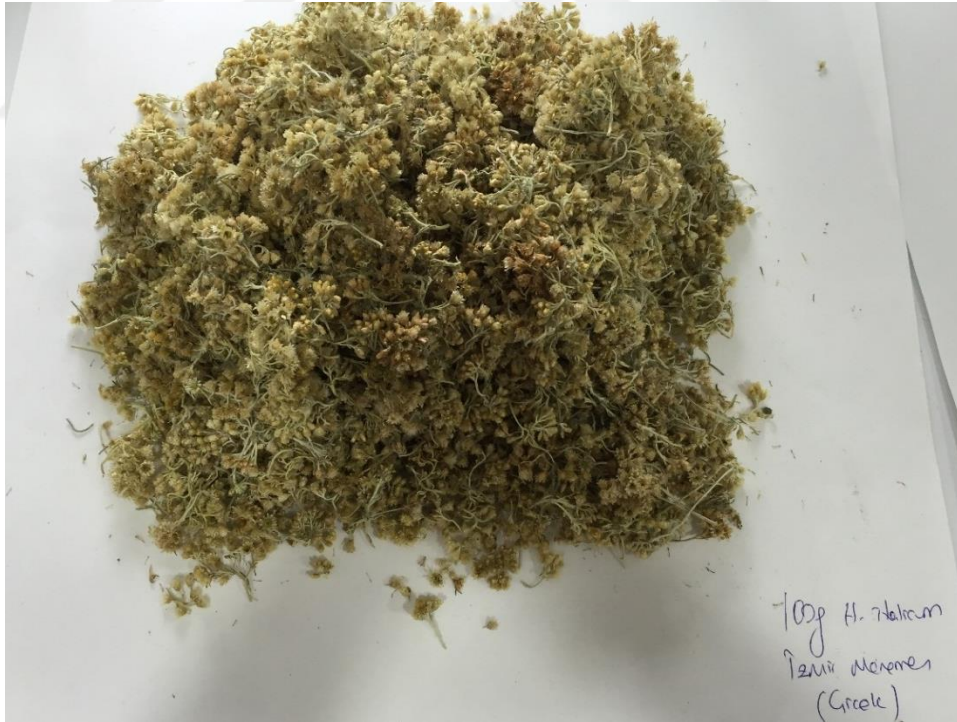


Şekil 4.2 : Menemen Ege Tarımsal Araştırma Enstitü'sünde yetiştirilen *Helichrysum italicum* bitkisinin kullanılan bölgesi ve ekstre çözücülleri.

70% Etanol, 96% Etanol, Gly-H₂O (1:1), (100%) H₂O çözücülleri kullanılarak hazırlanan ekstreler: İzmir Menemen ve Silivri Türam'da yetiştirilen *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don. Bitkisinin hem toprak üstü hem de çiçek kısımlarından 10'ar gram öğütülüp hazırlandı ve üzerlerine 1:20 oranında 200 ml ilgili çözücüller eklenerek 4 saat magnetik karıştırıcıda karıştırılıp oda ısısında 20 saat süresince maserasyona bırakıldı ve 1 gün sonra filtre kâğıdı ile süzülde. Elde edilen süzüntüler içerdiği çözücüller ile 250 ml'ye tamamlandı ve hazırlanan 16 ekstreten bir miktar total fenolik ve flavonoit madde miktarı tayini yapılmak üzere ayrıldı. Antioksidan dpph aktivite tayini yapılmak üzere 16 ekstre döner buharlaştırıcı'da çözücülerinden ayrıştırılıp yeterli kuruluğa ulaşıncaya dek kurutulularak kuru ekstreler elde edildi. Aşağıda Şekil 4.3, 4.4, 4.5 ve 4.6'da ekstrelerin hazırlık aşamalarından fotoğraflar paylaşılmıştır.



Şekil 4.3 : Silivri Türam'da yetiştirilen *Helichrysum italicum* bitkisinin çiçek kısımları.



Şekil 4.4 : Menemen Ege Araştırma Enstitü'sünde yetiştirilen *Helichrysum italicum* bitkisinin çiçek kısımları.



Şekil 4.5 : Hazırlanan bitki materyeli ve çözücü karışımları.



Şekil 4.6 : Elde edilen ekstratlar.

4.1.1 Ekstrelerin toplam fenolik ve toplam flavonoid miktar tayini

4.1.1.1 Toplam fenolik miktar tayini

Toplam fenolik miktar tayini için bitki ekstraktının stok çözeltisinden 0,4 ml olarak ölçülüp alınan ekstre örneği 5,2 ml su ile seyreltildi. Üzerine 0,4 ml FCR (Folin Ciocalteu Reaktif) ilave edildi ve çözelti 5 dk belemeye alındı. Ardından 4 mL %7 lik sodyum karbonat Na_2CO_3 çözeltisi ilave edildi ve 10 ml'ye balon joje'de tamamlanarak 90 dk boyunca karanlık ortamda bekletildi. Son aşamada UV- VIS spektrofotometresinde 725nm'de absorbans ölçümleri yapıldı. Absorbans ölçümleri sonrası elde edilen değerler'in Gallik asit eşdeğeri olarak hesaplaması yapıldı ve gallik asitin çizilen kalibrasyon eğrisi denkleminde yola çıkarak örnekteki toplam fenolik madde miktarı gallik asit'e eşdeğeri olarak % cinsinden hesaplandı

4.1.1.2 Toplam flavonoid miktar tayini

Toplam flavonoid miktar tayini için bitki ekstraktının stok çözeltisinden 1 ml olarak ölçülüp alınan ekstre örneği 6,7 ml su ile seyreltildi. Üzerine sırasıyla 0,3 ml 10% luk alüminyum klorür (AlCl_3) ve 2ml 1 M olacak şekilde $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$ çözeltileri ilave edildi. 10 ml'ye balon joje'de tamamlanarak çözelti 10 dk beklemeye alındı. Son aşamada UV- VIS spektrofotometresinde 425nm'de absorbans ölçümleri yapıldı. Absorbans ölçümleri sonrası elde edilen değerler'in kersetin eşdeğeri olarak hesaplaması yapıldı ve kersetinin çizilen kalibrasyon eğrisi denkleminde yola çıkarak örnekteki toplam flavanoit madde miktarı kersetin'e eşdeğeri olarak % cinsinden hesaplandı.

4.2 Uçucu Yağ Elde Edilmesi

Helichrysum italicum bitkisi ile yapılan uçucu yağ ekstraksiyon işleminde hidrodestilasyon yöntemi ile cleverger tipi aparat kullanımı birçok literatür çalışmasında ortaktır. Genellikle 1 ile 5 saat arasında bir destilasyon süresi geçerli olup verim ise 0,02 ile 0,78% arasında değişmektedir. Uçucu yağ analizinde ise en yaygın kullanılan methodlar GC-FID ve GC-MS analiz methodlarıdır.

Bu çalışmada hem Türam Silivri belediyesi Tarımsal Araştırma Merkezinden hemde Ege Tarımsal Araştırma Merkezinde yetiştirilen *Helichrysum italicum* bitkisininin çiçeklerinden 3 tekrarlı olacak şekilde clevenger aparatı kullanılarak hidrodestilasyon işlemi gerçekleştirilmiştir ve elde edilen bulgulara göre % verim ortalaması hesaplanmıştır.

Silivri Türam *Helichrysum italicum*;

100 gr *Helichrysum italicum* bitkisinin ilk olarak çiçekleri 5L'lik balona konulup üzerine 3L su eklenmiştir, clevenger aparatı kullanılarak 3 saat süren hidrodestilasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlemler 3 kez tekrarlanıp ortalama % verim 0,04 olarak saptanmıştır. İkinci olarak aynı işlemler 3 tekrarlı olacak şekilde *Helichrysum italicum* bitkisininin toprak üstü kısmına uygulanmış olup % verim 0,05 olarak saptanmıştır. Toprak üstü kısımlarından elde edilen verim çiçek kısımlarından elde edilen verime göre 10 µl fazladır.

Ege Tarımsal Araştırma Merkezi *Helichrysum italicum*;

100 gr *Helichrysum italicum* bitkisinin ilk olarak çiçekleri 5L'lik balona konulup üzerine 3L su eklenmiştir ve clevenger aparatı kullanılarak 3 saat süren hidrodestilasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlemler 3 kez tekrarlanıp ortalama % verim 0,15 olarak saptanmıştır. İkinci olarak aynı işlemler 3 tekrarlı olacak şekilde *Helichrysum italicum* bitkisininin toprak üstü kısmına uygulanmış olup % verim 0,2 olarak saptanmıştır. Toprak üstü kısımlarından elde edilen verim çiçek kısımlarından elde edilen verime göre 50 µl fazladır.

4.3 Antioksidan Aktivite Yöntemleri

4.3.1 Dpph serbest radikal giderim aktivitesinin belirlenmesi

Stok çözeltisinden farklı derişimlerde hazırlanmış olan numune örneklerinden 40 µL alındı ve üzerine 0,1 mM Dpph çözeltisinden 160 µL ilave edildi ve aynı işlemler standart olarak belirlenen maddelere de uygulandı. Kontrol amaçlı 200 µL etanol kullanıldı. Oda sıcaklığında 30 dk bekletildikten sonra 517 nm'de absorbans değerleri ölçülerek not alınmıştır. Ölçülen absorbans değerleri kontroller ile kıyaslanarak değerlendirilmiştir. Serbest radikal giderim aktivitesi aşağıdaki Şekil 4.7'deki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{DPPH Aktivitesi (\% İnhibisyon)} = \left(\frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}}{A_{\text{kontrol}}} \right) \times 100$$

A_{kontrol} kontrolün absorbansı, $A_{\text{örnek}}$ örneğin absorbansıdır.

Şekil 4.7: Serbest radikal giderim aktivitesi hesaplanmasında kullanılan eşitlik [60].



5. BULGULAR

5.1 Ekstrelerin toplam fenolik ve toplam flavonoit analizlerinin bulguları

5.1.1 Total fenolik madde miktarı tayini analiz bulguları

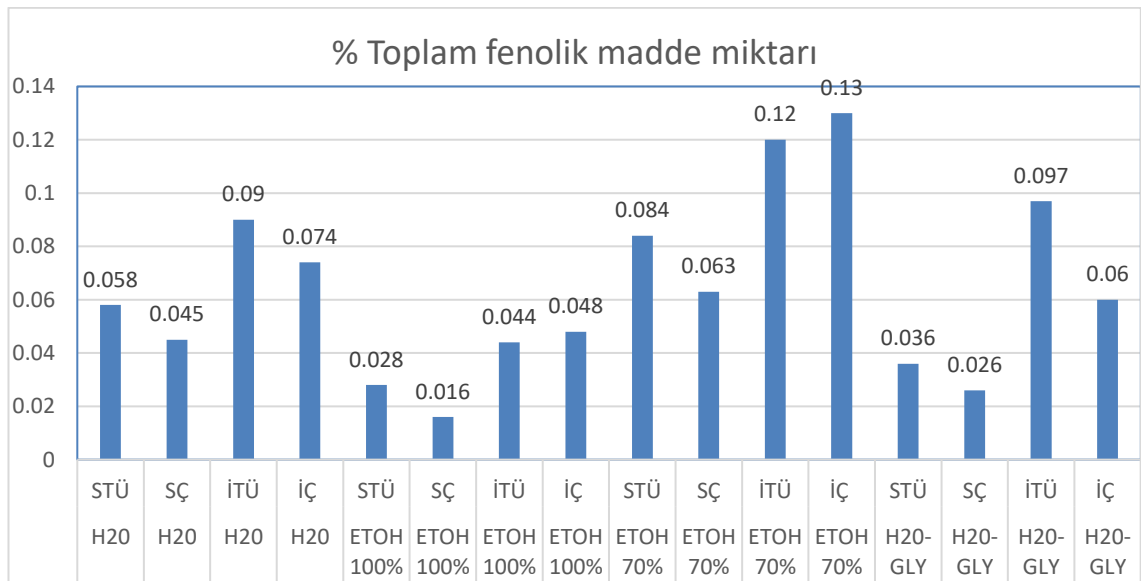
Standart fenolik bileşik olan gallik asit kalibrasyon aralığını belirlemek için kullanıldı. 100 ppm lik gallik asit çözeltisinden gerekli seyreltmeler yapıldıktan sonra 10, 20, 40, 60, 80 ve 100 ppm lik çözeltiler hazırlandı. Her bir çözelti için tekrarlanan 725 nm de yapılan 3 tekrarlı absorban ölçümleri ile elde edilen sonuçlara göre ortalama değer oluşturuldu ve kalibrasyon eğrisi çizildi. Total fenolik madde miktarı için hazırlanmış olduğumuz 16 örnek için belirlediğimiz yöntemler ışığında gerekli eklemeler yapıldı Eliza cihazında 725 nm de absorban ölçümü yapıldı ve elde edilen veriler standart grafik denkleminde yerine konularak tüm örneklerin konsantrasyonu belirlendi. Sonuçlar aşağıdaki Tablo 5.1’de detaylı bir şekilde paylaşılmıştır. Toplam fenolik % miktarları için çizilen grafik Şekil 5,1’de gösterilmiştir.

5.1.2 Total flavonoit miktarı tayini analiz bulguları

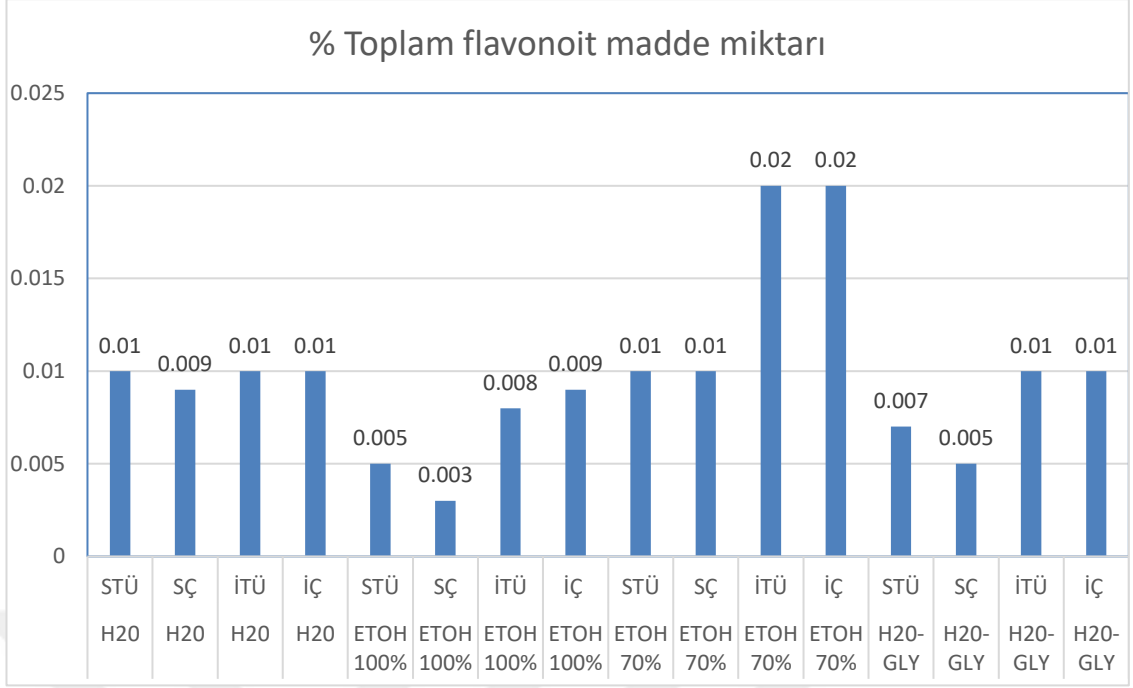
Standart flavonoit bileşik olan kersetin’in kalibrasyon aralığını belirlemek için kullanıldı. 100 ppm lik kersetin çözeltisinden gerekli seyreltmeler yapıldıktan sonra 10, 20, 40, 60, 80 ve 100 ppm lik çözeltiler hazırlandı. Her bir çözelti için tekrarlanan 425 nm de yapılan 3 tekrarlı absorban ölçümleri ile elde edilen sonuçlara göre ortalama değer oluşturuldu ve kalibrasyon eğrisi çizildi. Total flavonoit madde miktarı için hazırlanmış olduğumuz 16 örnek için belirlediğimiz yöntemler ışığında gerekli eklemeler yapıldı Eliza cihazında 425 nm de absorban ölçümü yapıldı ve elde edilen veriler standart grafik denkleminde yerine konularak tüm örneklerin konsantrasyonu belirlendi. Sonuçlar aşağıdaki Tablo 5.1’de detaylı bir şekilde paylaşılmıştır. Toplam flavonoit % miktarları için çizilen grafik Şekil 5.2’de gösterilmiştir.

Tablo 5.1 : *Helichrysum italicum* bitkisinin total fenolik ve flavonoit % miktarları.

Çözücü sistemi	Bitkinin toplandığı bölge ve kullanılan kısmı	% fenolik madde miktarı	% flavonoit madde miktarı
EtOH 100%	Silivri Toprak Üstü	0,028	0,005
EtOH 100%	Silivri Çiçek	0,016	0,003
EtOH 100%	İzmir Toprak Üstü	0,044	0,008
EtOH 100%	İzmir Çiçek	0,048	0,009
EtOH 70%	Silivri Toprak Üstü	0,084	0,01
EtOH 70%	Silivri Çiçek	0,061	0,01
EtOH 70%	İzmir Toprak Üstü	0,123	0,02
EtOH 70%	İzmir Çiçek	0,135	0,02
H ₂ O	Silivri Toprak Üstü	0,058	0,01
H ₂ O	Silivri Çiçek	0,045	0,009
H ₂ O	İzmir Toprak Üstü	0,090	0,01
H ₂ O	İzmir Çiçek	0,074	0,01
H ₂ O + Gly (1:1)	Silivri Toprak Üstü	0,036	0,007
H ₂ O + Gly (1:1)	Silivri Çiçek	0,026	0,005
H ₂ O + Gly (1:1)	İzmir Toprak Üstü	0,097	0,01
H ₂ O + Gly (1:1)	İzmir Çiçek	0,626	0,01



Şekil 5.1 : *Helichrysum italicum* bitkisinin içerdiği toplam % fenolik madde miktarı.



Şekil 5.2 : *Helichrysum italicum* bitkisinin içerdiği toplam % flavonoit madde miktarı.

5.2 Ekstrelerin antioksidan aktivite sonuçları

5.2.1 Dpph serbest radikal giderim aktivitesi sonuçları

BHA ve BHT standart maddelerinin stok çözeltilerini kullanarak hazırladığımız 16 ana ekstre'nin 10, 25, 50 ve 100 ($\mu\text{g/mL}$) konantrasyonlarda çözeltileri hazırlanmıştır. Üzerine yöntemde belirtilen eklemeler yapıldıktan sonra 517 nm de Eliza cihazında absorban ölçümleri yapılarak sonuçlar kaydedildi. Elde ettiğimiz ortalama absorban değerlerine göre serbest radikal giderim aktivitesi hesaplandı. Farklı konantrasyonlarda değerlendirilmiş sonuçlar Dpph % inhibisyon cinsinden değerlendirilmiştir. Sonuçlar Tablo 5.2'de detaylı bir şekilde anlatılıp Şekil 5.3'de grafik oluşturulmuştur. 10 ($\mu\text{g/mL}$) ve 25 ($\mu\text{g/mL}$) 'de % inhibisyon oranı 0 olduğundan tabloda gösterilmemiştir.

Tablo 5.2 : *Helichrysum italicum* bitkisinin Dpph serbest radikal giderim aktivitesi sonuçları (% inhibisyon cinsinden).

Çözücü sistemi	Bitkinin toplandığı bölge ve kullanılan kısmı	Dpph % inhibisyon 50 (µg/mL)	Dpph % inhibisyon 100 (µg/mL)
EtOH 100%	Silivri Toprak Üstü	0	0
EtOH 100%	Silivri Çiçek	13,99±0,35	39,9±2,18
EtOH 100%	İzmir Toprak Üstü	9,3±0,44	54,29±2,95
EtOH 100%	İzmir Çiçek	14,03±1,42	49,32±1,82
EtOH 70%	Silivri-Toprak Üstü	0	0
EtOH 70%	Silivri Çiçek	0	0
EtOH 70%	İzmir Toprak Üstü	4,65±0,99	56,45±3,54
EtOH 70%	İzmir Çiçek	33,96±3,57	76,9±0,24
H ₂ O	Silivri Toprak Üstü	0	0
H ₂ O	Silivri Çiçek	0	0
H ₂ O	İzmir Toprak Üstü	0	0
H ₂ O	İzmir Çiçek	6,82±2,22	42,02±4,80
H ₂ O + Gly (1:1)	Silivri Toprak Üstü	0	0
H ₂ O + Gly (1:1)	Silivri Çiçek	0	0
H ₂ O + Gly (1:1)	İzmir Toprak Üstü	0	0
H ₂ O + Gly (1:1)	İzmir Çiçek	0	0
EtOH 100%	BHT(Standart)	80,29±0,38	83,66±0,30

5.3 Uçucu Yağ GC/MS analiz sonuçları

Helichrysum italicum bitkisinden elde edilen uçucu yağ aşağıdaki yöntem yoluyla elde edilmiş olup Silivri Türam'da yetiştirilen *Helichrysum italicum* bitkisinin uçucu yağ % veriminin 0,02 olduğu tespit edilmiştir.

Ege Tarımsal Araştırma Merkezinde yetiştirilen *Helichrysum italicum* bitkisinin % uçucu yağ veriminin 0,15% olduğu tespit edilmiştir.

02 Ağustos 2018'de gerçekleştirilen GC/MS Agilent 5977 E DB-WAX 60X0,25X0,25 kolon kullanılarak, 70 °C sıcaklıkta 15 dk izotermal, dakikada 2 °C artışla 180 °C de 5dk izotermal ve dakikada 5°C artışla 230°C ve 230°C 'de 15 dk izotermal ölçüm yapılarak, akış hızı dakikada 1,5 ml helyum gazı, enjeksiyon hacmi 1µl, split 50:1, enjeksiyon sıcaklığı 230 °C ve kütle tarama aralığı 40-550 m/z şartlarında yapılan analiz sonucunda bileşiklerin tespiti için Nıst Mass 2.0 kullanılmıştır. Aşağıdaki Tablo 5.3'de İzmir çiçek ve İzmir toprak üstü ekstraktlarından elde edilen bileşikler listelenmiştir. Tablo 5.4'de ise Silivri Türam çiçek ve Toprak üstü ekstraktlarından elde edilen bileşikler listelenmiştir. GC-MS analiz sonucuna göre bileşiğin %88 lik kısmı tanımlanmıştır.

Silivri Türam *Helichrysum italicum*;

100 gr *Helichrysum italicum* bitkisi'nin ilk olarak çiçekleri 5L'lik balona konulup üzerine 3L su eklenmiştir ve clevenger aparatı kullanılarak 3 saat süren hidrodistilasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlemler 3 kez tekrarlanıp ortalama % verim 0,04 olarak saptanmıştır. İkinci olarak aynı işlemler 3 tekrarlı olacak şekilde *Helichrysum italicum* bitkisinin toprak üstü kısmına uygulanmış olup % verim 0,05 olarak saptanmıştır. Toprak üstü kısımlarından elde edilen verim çiçek kısımlarından elde edilen verim'e göre 10 µl fazladır.

Ege Tarımsal Araştırma Merkezi *Helichrysum italicum*;

100 gr *Helichrysum italicum* bitkisinin ilk olarak çiçekleri 5L'lik balona konulup üzerine 3L su eklenmiştir ve clevenger aparatı kullanılarak 3 saat süren hidrodistilasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlemler 3 kez tekrarlanıp ortalama % verim 0,15 olarak saptanmıştır. İkinci olarak aynı işlemler 3 tekrarlı olacak şekilde *Helichrysum italicum* bitkisi'nin toprak üstü kısmına uygulanmış olup % verim 0,2 olarak saptanmıştır. Toprak üstü kısımlarından elde edilen verim çiçek kısımlarından elde edilen verim'e göre 50 µl fazladır.

Tablo 5.3 : Ege Tarımsal Araştırma Merkezinde yetişen *Helichrysum italicum* bitkisi'nin çiçek kısmından analiz edilen bileşikler.

% Miktar	Bileşik
19.70	α -pinene
2.035	Limonene
0.582	Ω -terpinene
0.592	Ocimene
1.679	α -copaene
1.821	Linalol
1.407	4-terpineol
12.489	Himachalene
6.832	Neryl acetate
4.883	β -selinene
4.900	α -cedrene
0.423	Nerolidol
0.937	Guaiol
0.690	α -eudesmol
0.541	Bisabolol
1.625	Veridiflorol
26,82	İtalidion I+II+III
12,09	****
	88% tanımlandı

Tablo 5.4 : Ege Tarımsal Araştırma Merkezinde yetişen *Helichrysum italicum* bitkisinin toprak üstü kısmından analiz edilen bileşikler.

% Miktar	Bileşik
24.61	α -pinene
0.364	β -pinene
3.038	Limonene
1.669	Linalol
1.048	4-terpineol
3.559	Caryophyllene
1.605	α -terpineol
8.070	Himachalene
8.762	Neryl acetate
3.464	β - selinene
4.189	α -cedrene
0.487	Nerolidal
0.963	Guaiol
0.762	α -eudesmol
29,85	İtalidion I+II+III
1.700	Veridiflorol
5	****
	95% Tanımlandı

Tablo 5.5 : Silivri Türam’da yetişen *Helichrysum italicum* bitkisinin toprak üstü kısmından analiz edilen bileşikler.

% Miktar	Bileşik
7.322	α -pinene
0.541	Linalol
1.639	Bergamotene
1.072	Terpineol
1.864	Curcumene
11.29	Neryl acetate
7.091	α - cedrene
12.32	Guaiol
13.039	α -eudemoscol
8.762	β -eudemoscol
2.092	Cedrene
1.080	Veridiflorol
38,08	****

Tablo 5.6 : Silivri Türam'da yetişen *Helichrysum italicum* bitkisinin çiçek kısmından analiz edilen bileşikler.

% Miktar	Bileşik
1.071	α -pinene
0.331	Linalol
0,689	Bergamotene
0,392	α -terpineol
1.625	Curcumene
12.793	Neryl acetate
11.839	α -cedrene
16.183	Guaiol
18.187	α -eudemoscol
13.166	β -eudemoscol
0.802	Veridiflorol
1.785	Cedrene
21,13	****

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

İlk olarak *Helichrysum italicum* bitkisinin uçucu yağı eldesi ve içerdiği bileşenlerin analizi üzerine yaptığımız çalışmaların sonuçlarını özetlemek gerekirse, eş zamanlı kültür çalışmalarını yaptığımız *Helichrysum italicum* bitkisini Haziran 2018’de Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsünden ve Türam Silivri belediyesi Tarımsal Araştırma Merkezinden hasatları gerçekleştirdik ve gölgede kuruttuk. Deneysel çalışmalara ise Temmuz 2018’de Bezmialem Fitoterapi Eğitim, Uygulama ve Araştırma merkezinde başladık. Ege Tarımsal Araştırma Merkezinde yetiştirdiğimiz *Helichrysum italicum* bitkisinin uçucu yağını clevenger aparatı kullanarak hidro destilasyon yöntemi ile elde ettik. *Helichrysum italicum* bitkisinin ilk olarak çiçek kısımlarının destilasyonu gerçekleştirildi. 100 gr bitki 5L’lik balona konulup üzerine 3L su eklendi ve Clevenger aparatı kullanılarak 3 saat süren hidro destilasyon işlemi gerçekleştirildi. Bu işlemler 3 kez tekrarlanıp ortalama % verim 0,15 olarak saptandı. İkinci olarak aynı işlemler 3 tekrarlı olacak şekilde *Helichrysum italicum* bitkisinin toprak üstü kısmına uygulanarak % verim 0,2 olarak saptandı. Toprak üstü kısımlarından elde edilen % uçucu yağ verimi çiçek kısımlarından elde edilen % uçucu yağ verimine göre 50 µl fazla olduğu belirlendi.

Türam Silivri belediyesi Tarımsal Araştırma Merkezinde yetiştirdiğimiz *Helichrysum italicum* bitkisinin uçucu yağını clevenger aparatı kullanarak hidro destilasyon yöntemi ile ayırdık. *Helichrysum italicum* bitkisinin ilk olarak çiçek kısımlarının destilasyonu gerçekleştirildi. 100 gr bitki 5L’lik balona konulup üzerine 3L su eklendi ve clevenger aparatı kullanılarak 3 saat süren hidro destilasyon işlemi gerçekleştirildi. Bu işlemler 3 kez tekrarlanıp ortalama % verim 0,04 olarak saptandı. İkinci olarak aynı işlemler 3 tekrarlı olacak şekilde *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don bitkisi’nin toprak üstü kısmına uygulanarak % verim 0,05 olarak saptandı. Toprak üstü kısımlarından elde edilen % uçucu yağ verimi çiçek kısımlarından elde edilen % uçucu yağ verimine göre 10 µl fazla olduğu belirlendi.

Yapılan literatür araştırmalarında *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don bitkisinin uçucu yağ % veriminin 0,01 ile 0,78% arasında olduğu raporlanmıştır [29].

İzmir Menemen Bölgesinde yetişen *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don bitkisinin uçucu yağ elde etme amacıyla yetiştirilmesinin Silivri bölgesine göre daha uygun olduğu yapılan çalışmalar ve literatür kıyaslamaları ile belirlenmiştir. Uçucu yağ elde işlemlerinden sonra, GC/MS metodu ile Agilent 5977 E DB-WAX 60X0,25X0,25 kolon kullanılarak, 70 °C sıcaklıkta 15 dk izotermal, dakikada 2 °C artışla 180 °C de 5dk izotermal ve dakikada 5°C artışla 230°C ve 230°C 'de 15 dk izotermal ölçüm yapılarak, akış hızı dakikada 1,5 ml helyum gazı, enjeksiyon hacmi 1µl, split 50:1, enjeksiyon sıcaklığı 230 °C ve kütle tarama aralığı 40-550 m/z şartlarında yapılan analiz sonucunda bitkinin uçucu yağındaki bileşiklerin tespiti için Nıst Mass 2.0 kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre İzmir Menemen'de yetişen *Helichrysum italicum* bitkisinde α -pinene miktarının 19,70-24,61% arasında, himachalene miktarının 8,070-12,489 % arasında, neryl acetate miktarının 6,832-8,762 % arasında, β -selinene miktarının 3,464-4,900 % arasında, α -cedren miktarının 4,189- 4,900 % arasında ve en fazla miktarda olan italdion (I+II+III) miktarının 26,82- 29,85 % arasında olduğu analiz sonuçlarına göre raporlanmıştır. İzmir Menemen bölgesinde kültürünü yapmış olduğumuz *Helichrysum italicum* bitkisinde α -pinene, himachalene ve italdion (I+II+III) bileşiklerinin varlığının öne çıktığı görülmektedir.

İstanbul Silivri'de yetişen *Helichrysum italicum* bitkisinde ise α -pinene miktarının 1,071- 7,322 % arasında, neryl acetate miktarının 11,29- 12,793 % arasında, α -cedrene miktarının 7,091-11,839 % arasında, guaiol miktarının 12,32-16,18 % arasında, α -eudemoscol miktarının 13,039- 18,187 % arasında, β - eudemoscol miktarının 8,762-13,039 % arasında olduğu analiz sonuçlarına göre raporlanmıştır.

İstanbul Silivri bölgesinde kültürünü yapmış olduğumuz *Helichrysum italicum* bitkisinde neryl acetate, α -cedrene, guaiol, α -eudemoscol ve β -eudemoscol bileşiklerinin varlığının öne çıktığı görülmektedir. Yapılan literatür çalışmalarına göre Silivri bölgesinde yetiştirdiğimiz *Helichrysum italicum* bitksinin içeriği Neryl acetate miktarının Korsika adasında yetişen *Helichrysum italicum* bitkisinin nery acetate miktarı ile gerisinde bulup, Sardunya ve Toskana bölgesinde yetişen *Helichrysum italicum* bitkisinin içerdiği Nery acetate miktarının daha ilersinde bulunmaktadır. Neryl acetate bileşiği *Helichrysum cinsi* bitkinin ticari bileşiği olduğu olarak birçok literatürde belirtilmiştir.

İkinci olarak *Helichrysum italicum* bitkisinininden 4 farklı çözücü ile elde edilen ekstraler total fenolik ve flavonoit tayini yapılmıştır. Total fenolik miktar tayininde standart fenolik bileşik olan gallik asit kalibrasyon aralığınının belirlenmesi için kullanıldı. 100 ppm lik gallik asit çözeltilerinden gerekli seyreltmeler yapıldıktan sonra 10, 20, 40, 60, 80 ve 100 ppm lik çözeltiler hazırlandı. Her bir çözeltili için tekrarlanan 725 nm de yapılan 3 tekrarlı absorban ölçümleri ile elde edilen sonuçlara göre ortalama değer oluşturuldu ve kalibrasyon eğrisi çizildi. Total fenolik madde miktarı için hazırlanmış olduğumuz 16 örnek için belirlediğimiz yöntemler ışığında gerekli eklemeler yapıldı Eliza cihazında 725 nm de absorban ölçümü yapıldı ve elde edilen veriler standart grafik denkleminde yerine konularak tüm örneklerin konsantrasyonu belirlendi. Elde edilen sonuçlara göre total fenolik madde miktarının 0,01 % ile 0,13 % arasında olduğu analiz edilip 70% Etanol çözücüsü kullandığımız ekstralardan İzmir Menemen bölgesindeki *Helichrysum italicum* bitkisinin içerdiği fenolik maddelerin fazla olduğu sonucuna vardık.

Total flavonoit miktar tayininde standart flavonoit bileşik olan kersetin'in kalibrasyon aralığını belirlenmesi için kullanıldı. 100 ppm lik kersetin çözeltilerinden gerekli seyreltmeler yapıldıktan sonra 10, 20, 40, 60, 80 ve 100 ppm lik çözeltiler hazırlandı. Her bir çözeltili için tekrarlanan 425 nm de yapılan 3 tekrarlı absorban ölçümleri ile elde edilen sonuçlara göre ortalama değer oluşturuldu ve kalibrasyon eğrisi çizildi. Total flavonoit madde miktarı için hazırlanmış olduğumuz 16 örnek için belirlediğimiz yöntemler ışığında gerekli eklemeler yapıldı, Eliza cihazında 425 nm de absorban ölçümü yapıldı ve elde edilen veriler standart grafik denkleminde yerine konularak tüm örneklerin konsantrasyonu belirlendi. Elde edilen sonuçlara göre total flavonoit madde miktarının 0,009% ile 0,02% arasında olduğu analiz edilip 70% Etanol çözücüsü kullandığımız ekstralardan İzmir Menemen bölgesindeki *Helichrysum italicum* bitkisinin içerdiği flavonoit madde miktarının fazla olduğu sonucuna vardık.

Son olarak *Helichrysum italicum* bitkisinden elde edilen ekstralere antioksidan kapasitesi Dpph ile belirlenmiştir. BHA ve BHT standart maddelerinin stok çözeltilerini kullanarak hazırladığımız 16 ana ekstre'nin 10, 25, 50 ve 100 (µg/mL) konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlanmıştır. Üzerine yöntemde belirtilen eklemeler yapıldıktan sonra 517 nm de Eliza cihazında absorban ölçümleri yapılarak sonuçlar kaydedildi. Elde ettiğimiz ortalama absorban değerlerine göre serbest radikal giderim aktivitesi hesaplandı.

Farklı konsantrasyonlarda değerlendirilmiş sonuçlar Dpph % inhibisyon cinsinden değerlendirildi. Elde edilen sonuçlara göre 10 ($\mu\text{g/mL}$) ve 25 ($\mu\text{g/mL}$) de % inhibisyon oranı 0 olduğundan tabloda gösterilmemiştir.

DPPH % inhibisyonu 50 ($\mu\text{g/mL}$)' de en yüksek İzmir Menemen'de yetişen 70% etanol ile ekstre edilen *Helichrysum italicum* bitkisinin $33,96\pm 3,57$ % DPPH inhibisyon gösterdiği sonucuna varılmıştır.

DPPH % inhibisyonu 100 ($\mu\text{g/mL}$)' de en yüksek İzmir Menemen'de yetişen türünün 70% etanol ile ekstre edilen *Helichrysum italicum* (Roth) G. bitkisinin $76,9\pm 0,24$ % olarak edlde edilmiş ve DPPH serbest radikalini en yüksek inhibe ettiği gösterdiği sonucuna varılmıştır.

Bu tez çalışması sonucunda *Helichrysum italicum* bitkisinin kültür çalışmalarının arttırılıp uçucu yağlarının Türkiye ekonomisine kazandırılması tavsiye edilmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] **Süzgeç, S.** (2005). Flavonoids of *Helichrysum compactum* and their antioxidant and antibacterial activity, *Fitoterapia*, 76, 269-272.
- [2] **Watt, J.M.** (1962). *The Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa*, seconded Livingstone, London.
- [3] **Stafford, G.I.** (2005). Effect of storage on the chemical composition and biological activity of several popular South African medicinal Plants, *Journal of Ethnopharmacology*, 97, 107–115.
- [4] **Davis, P.H, Mill.** (1988). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, 10, Press, Edinburg, pp. 159-160.
- [5] **Szadowska, A.,** (1962). Pharmacology of galenic preparations and Flavonoids from *Helichrysum arenarium*, *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 19, 465– 479
- [6] **Michele, L., Katarzyna E.,** (2008). Essential-Oil Composition of *Helichrysum italicum* (Roth) G.Don ssp. *italicum* from Elba Island (Tuscany, Italy)
- [7] **Albayrak, S. Aksoy, A. Sağdıç, O.** (2009). Phenolic compounds and antioxidant and antimicrobial properties of *Helichrysum* species collected from eastern Anatolia in Turkey.
- [8] **Tanker, N. Koyuncu, M.,** (1993). *Farmasotik Botanik Ders Kitabı*, 401-402, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları.
- [9] **Davis, P.H.,** (1975). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, 5, University Press, 80-97.
- [10] **Güner, A.,** (2000). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, 11, University Press, 153-154.
- [11] **Seçmen, Ö...** (2000). *Tohumlu Bitkiler Sistematigi-Ders Kitabı* Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi Kitapları Serisi No:116, 296-298, E.Ü. Basımevi, Bornova
- [12] **Gonc, S. Moreiral, E.,** (2012). Phenolic profile, antioxidant activity and enzyme inhibitory Nactivities of extracts from aromatic plants used in Mediterranean diet.
- [13] ***Astreaeae familyası papatyagiller hakkında*** (2019) *from*
<http://kognosi.blogspot.com/2012/07/papatyagiller-asteraceae-.html>
- [14] **Bianchii, A.,** (2001). Composition of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don. fil. subsp. *italicum* from Corsica (France) *Flavor and Fragrance Journal*, J,16: 3 0 - 3

- [15] **Perrini, R.,** (2009). Essential oils and in vitro establishment of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don ssp. *microphyllum* (Willd.) Nyman. *Industrial Crops and Products.*; 29: 395-403.
- [16] **Leonardi, M.,** (2013). Essential Oil Composition of *Helichrysum italicum* G. DON ssp. *italicum* from Elba Island (Tuscany, Italy) *Chemistry & Biodiversity* – Vol. 10
- [17] ***Helichrysum cinsi bitkinin Türkiye’de bulunan taksonları hakkında*** (2019) <http://www.tubives.com/>
- [18] **Appendino, G.,** (2014). Sleeping of the Mediterranean herbal medicine *Journal of Ethnopharmacology* 151(2014)54–65
- [19] **Antunes, Viegas, D.,** (2014). *Helichrysum italicum* from traditional use to scientific data. *Journal of Ethnopharmacology* 151 54–65
- [20] **Sala, A.,** (2001). *Principios antiinflamatorios y antioxidantes de Helichrysum italicum (Roth) G. Don. (Doktora Tezi)* Valencia Üniversitesi.
- [21] **Aslan, M., Orhan,, D.,** (2007). A study of antidiabetic and Antioxidant effects of *Helichrysum graveolens capitulum* in streptozotocin induced diabetic rats. *J. Med. Food* 10, 396–400.
- [22] **Baytop, T.** (1997). *Türkçe Bitki Adları Sözlüğü.* Türk Dil Kurumu Yayınları, Ankara.
- [23] **Süzgeç, S., Meriçli, AH.,** (2005). Flavonoids of *Helichrysum compactum* and their antioxidant and antibacterial activity. *Fitoterapia* 76: 269-272.
- [24] **Kürkçüoğlu, M.** (2010). *Sekonder Metabolitler Bitki Kimyası ve Analiz Yöntemleri*, TC. Anadolu Üniversitesi Yayını, Eskişehir, pp. 11.
- [25] **Kürkçüoğlu, M.** (2010). *Sekonder Metabolitler Bitki Kimyası ve Analiz Yöntemleri*, TC. Anadolu Üniversitesi Yayını, Eskişehir, pp. 25.
- [26] **Hansel, R., Sticker, O.,** (2007) *Pharmakognosie-Phytopharmazie*, Springer Lehrbuch, München
- [27] **Croteau, R., Kutchan, T., Lewis, G.** (2000). *Natural Products (Secondary Metabolites)*, Chapter: 24, 1258
- [28] **S, Charles.** *The Chemistry of Fragrances* (From Perfumer to consumer 2nd edition) 54-55
- [29] **S. Maksimovic.,** (2017). *Phytochemistry* 138 9-28
- [30] **Jerković, I., Rajić, M.** (2016). Optimization of supercritical CO₂ extraction of dried *Helichrysum italicum* flowers by response surface methodology GC-MS profiles of the extracts and essential oil

- [31] **Djihane, B.,** (2016). Chemical constituents of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don essential oil and their antimicrobial activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria, filamentous fungi and *Candida albicans*.
- [31] **Sai, M., Foddai, M., Bernardini.** (2010). Chemical composition and variation of the essential oil of wild sardinian *Helichrysum italicum* G. Don subsp. *microphyllum* (Willd.) Nym from vegetative period to post-blooming. *J. Essent. Oil Res.* 22, 373-380
- [32] **Leonardi, M., Ambryszewska, K.E.,** (2013). Essential-oil composition of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don subsp. *italicum* from Elba island (Tuscany, Italy). *Chem. Biodiversity.* 10, 343- 355
- [33] **Conti, B., Canale, A.,** (2010). Essential oil composition and larvicidal activity of six Mediterranean aromatic plants against the mosquito *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Parasitol. Res.* 107, 1455-1461
- [34] **Drapeau, J., Frohler, C.,** (2009). Repellent studies with *Aedes aegyptis* and human olfactory tests on 19 essential oils from Corsica, France. *Flavour Frag. J.* 24, 160-169.
- [35] **Bertoli, A., Conti, B.,** (2012). Volatile chemical composition and bioactivity of six essential oils against the stored food insect *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera Dryophthoridae). *Nat. Prod. Res.* 26 (22), 2063-2071.
- [36] **Rossi, P.G., Berti, L.,** (2007). Antibacterial action of essential oils from Corsica. *J. Essent. Oil Res.* 19, 176-182.
- [37] **Politeo, O., Jukic, M.,** (2006). Chemical composition and antioxidant of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don. *Biochemical Pharmacology* 81: 170-175.
- [38] **Bauer, J., Koeberle, A.,** (2011). Arzanol, a prenylated heterodimeric phloroglucinylnyl pyrone, inhibits eicosanoid biosynthesis and exhibits anti-inflammatory efficacy in vivo. *Biochemical Pharmacology.* 81: 259-268.
- [39] **Albayrak, S.,** (2010). Phenolic compounds and antioxidant and antimicrobial properties of *Helichrysum* species collected from eastern Anatolia, Turkey
- [40] **V, Lorenzil.,** (2010). Biological properties and resistance reversal effect of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don E. Guinoiseau.
- [41] **Voinchet, V., Robert, A.** (2007). Utilisation de l'huile essentielle d'hélichryse italienne et de l'huile végétale de rose musquée après intervention de chirurgie plastique réparatrice et esthétique. *Phytothérapie.* ; 5: 67-72.

- [42] P, Rhind., T, Jennifer., (2012). *Essential Oils A Handbook for Practice*. Singing Dragons 2nd edition 148-149.
- [43] *Helichrysum italicum* bitkisinden elde edilen hammaddelerin Avrupa'da kullanımı ve kullanılan ürünler hakkında (2019) from <https://ec.europa.eu/growth/toolsdatabases/cosing/index>.
- [44] *Helichrysum italicum* bitkisinin görselleri hakkında (2019) from <https://www.google.com/search?q=helichrysum+italicum&rlz>
- [45] Brent, J.A., Rumack, H.H., (1991). Role of Free Radicals in Toxic Hepatic Injury I. Free Radical Biochemistry, *Clinical Toxicology*, 31, 139-171.
- [46] Çakar, B., (2010). *Ferulago idaea ve Ferulago trojana Bitkilerindeki Sekonder Metabolitlerin İzolasyonu, Antioksidan ve Antikolinesteraz Aktivitelerinin İncelenmesi. (Yüksek Lisans Tezi)*. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [47] Aslan, E., (2016). *Ferulago Blancheana Bitkisinden Sekonder Metabolitlerin izolasyonu, Antioksidan ve Antikolinesteraz aktivitelerinin incelenmesi. (Yüksek Lisans Tezi)* Farmakognozi Anabilim Dalı, Bezmialem Üniversitesi.
- [48] Acuna, U., (2002). Antioxidant Activity of Ten Edible North American Plants. *Phytother Res*, 16, pp. 63-65.
- [49] Yamazaki, E., (2007). Antioxidant Activity of Japanese Pepper (piperitum) Fruit. *Food Chem*, 100, 171- 177.
- [50] Halliwell, B., (1989). *Free Radicals in Biology and Medicine*, Clarendon Press, 543, Oxford. 190-195.
- [51] Özyürek, M., (2008). *Reaktif Oksijen Türleri Süpürücü Antioksidan Aktivitenin Ölçümünde Modifiye Cuprac Yöntemlerinin Geliştirilmesi. (Doktora Tezi)* İstanbul Üniversitesi, İstanbul.
- [52] Krinsky, N. I., (1989) Antioxidant function of carotenoids. *Free Radical Biology and Medicine*, 7, 617-635.
- [53] Moreno, M., I, Isla., (2000). Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J. of Ethnopharmacology* 71, 109-114.
- [54] Cosquni, M., (2003). T-BOOH-induced oxidative damage in sickle red blood cells and the role of flavonoids. *Biomed. Pharmacoter*, 57, 124-129.
- [55] R, Evans. (1997) Antioxidant Properties of Phenolic Compounds. *Trends in Plant Science*, 2, 152-159.

- [56] **Ulubelen, A., Topcu, G.,** (1995). Abietane diterpenes from *Salvia napifolia*. *Phytochemistry*,40, 861.
- [57] **Reische, D. W., Lillard,** (2002). *Food Lipids Chemistry, Nutrition and* New York: Marcel Dekker Inc 2002. 489-516.
- [58] **Karaman, Y.,** (2002). *Alzheimer Hastalığı ve Diğer Demanslar*, 90-210, Kayseri.
- [59] **Swami, S., Suman, H.,** (2008). Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants ICS UNIDO, Intertanional science and high technology, 40.
- [60] **Turkoglu, A., Kıvrak, I., Turkoglu, H.** (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of *Morchella conica* Pers, *African Journal of Biotechnology*, 5, (11), 1146-1150
- [61] **Elisa cihazı kullanım talimatları hakkında** (2019) *from* https://www.bosterbio.com/media/pdf/ELISA_Handbook.pdf

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Gamze KILIÇASLAN
Doğum Tarihi ve Yeri : 05.08.1989 BURSA
E-posta : gulecgamze@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : Dumlupınar Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü