

**T.C.  
BOZOK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
KİMYA ANABİLİM DALI**

**Yüksek Lisans Tezi**

**BEYAZ, SARI VE KIRMIZI SOĞANDA ÇEŞİTLİ  
ORGANİK ASİTLERİN YÜKSEK BASINÇLI SIVI  
KROMATOĞRAFİSİ (HPLC) İLE TAYİNİ**

**Ayşe KAYA**

**Tez Danışmanı**

**Yrd. Doç. Dr. İsmail AKDENİZ**

**Yozgat 2010**



**T.C.  
BOZOK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
KİMYA ANABİLİM DALI**

**Yüksek Lisans Tezi**

**BEYAZ, SARI VE KIRMIZI SOĞANDA ÇEŞİTLİ  
ORGANİK ASİTLERİN YÜKSEK BASINÇLI SIVI  
KROMATOĞRAFİSİ (HPLC) İLE TAYİNİ**

**Ayşe KAYA**

**Tez Danışmanı**

**Yrd. Doç. Dr. İsmail AKDENİZ**

**Yozgat 2010**

**T.C.**  
**BOZOK ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TEZ ONAYI**

Enstitümüzün Kimya Anabilim Dalı 7011010013 numaralı öğrencisi Ayşe KAYA'nın hazırladığı "**Beyaz, sarı ve kırmızı soğanda çeşitli organik asitlerin yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile tayini**" başlıklı ~~DOKTORA~~/YÜKSEK LİSANS tezi ile ilgili TEZ SAVUNMA SINAVI, Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği uyarınca 24/12/2010 Cuma günü saat 15:00'te yapılmış, tezin onayına OY ÇOKLUĞU / OY BİRLİĞİYLE karar verilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Cengiz SOYKAN



Üye : Doç. Dr. Yusuf DİLGİN



Üye : Yrd. Doç. Dr. İsmail AKDENİZ



ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu'nun 21.12.10 tarih ve 19 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

31.12./20.10

Enstitü Müdürü  
(Ünvanı, Adı Soyadı)  
  
**Prof. Dr. Ergin HANZAĞLU**  
Bozok Üniversitesi  
Fen Bil. Enst. Müdürü

## İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b> .....	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>v</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>vi</b>
<b>TABLolar LİSTESİ</b> .....	<b>vii</b>
<b>ŞEKİLLER LİSTESİ</b> .....	<b>viii</b>
<b>GRAFİKLER LİSTESİ</b> .....	<b>ix</b>
<b>KISALTMALAR LİSTESİ</b> .....	<b>xi</b>
<b>1.GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2.SOĞANIN TARİHÇESİ</b> .....	<b>3</b>
2.1. Uçucu Bileşikler.....	4
2.1.1. Tiyosülfonatlar ile Diğer Organosülfür Bileşiklerinin Kimyasal Yapısı ve Biyoaktivitesi.....	4
2.1.2. Tanıma / Teşhis Metotları ve Literatürdeki İlgili Çalışmalar.....	6
2.2. Uçucu Olmayan Bileşikler.....	9
2.2.1. Sapogeninler ve Saponinler: Kimyasal Yapı ve Biyoaktiviteleri.....	9
2.2.2. Flavonoidler ve Fenolikler: Kimyasal Yapı ve Biyoaktiviteleri.....	12
<b>3. SOĞANIN BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ</b> .....	<b>14</b>
3.1. Antimikrobiyal Aktivite.....	16
3.2. Antiparazitik Aktivite.....	16
3.3. Antifungal Aktivite.....	17
3.4. Antibakteriyal Aktivite.....	17
3.5. Antiviral Aktivite.....	17
3.6. Antioksidan Aktivite.....	18
3.7. Antikarsinojenik (Kanser Önleyici )ve Antimutagen Aktiviteler.....	18
3.8. Yağ Metabolizması Üzerine Etkileri.....	19
3.9. Anti- platelet veya Anti-trombotik Etkileri.....	20
3.10. Solunum Sistemi Üzerine Etkileri.....	20
3.11. Diğer Yararlı Etkileri.....	21
3.12. Yan Etkileri, Kontrendikasyonları ve Etkileşimleri.....	21

3.12.1. Yan Etkileri.....	21
3.12.2. İlaç Etkileşimleri.....	22
3.13. Sonuçlar ve Gelecek Trendleri.....	22
<b>4. ORGANİK ASİTLER HAKKINDA GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>24</b>
4.1. Okzalik Asitin Biyolojik Rolü.....	24
4.2. Maleik Asitin Biyolojik Rolü.....	24
4.3. Sitrik Asitin Biyolojik Rolü.....	25
4.4. Krotonik Asitin Biyolojik Rolü.....	26
<b>5. ÖRNEKLERİN EKSTRAKSİYONU ve ANALİZ METODU.....</b>	<b>27</b>
5.1. Örneklerin Ekstraksiyonu.....	27
5.2. Kromatografi ile Ayırma.....	27
5.2.1. Kromatografide Sınıflandırma.....	28
5.2.1.5. İki Fazın Fiziksel Şekline Göre Sınıflandırma.....	29
5.2.2. Sıvı Kromatografi.....	29
5.2.2.1. Sıvı Kromatografinin Sınıflandırılması.....	29
5.2.3. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC).....	34
5.2.3.1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi Cihazı.....	35
5.2.3.1.1. Pompa Sistemleri.....	36
5.2.3.1.2. Numune Enjeksiyon Sistemleri.....	38
5.2.3.1.3. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi Kolonları.....	38
5.2.3.1.3.1. Kolon Dolgu Maddelerinin Tipleri.....	39
5.2.3.1.4. Dedektörler.....	39
<b>6. MATERYAL ve METOT.....</b>	<b>40</b>
6.1. Kullanılan Cihazlar ve Cam Malzemeler.....	40
6.2. Kullanılan Standart Çözeltiler ve Reaktiflerin Hazırlanması.....	40
6.2.1. Standart Çözeltiler.....	40
6.3. Organik Asitler İçin Optimum Koşulların Tayini.....	41
6.3.1. Organik Asitlerin Tayini İçin Akış Hızının Belirlenmesi.....	41
6.3.2. Organik Asitlerin Tayini İçin pH'nın Belirlenmesi.....	41
6.3.3. Organik Asitlerin Tayini İçin Mobil Fazın Etkisinin İncelenmesi.....	42
6.3.4. En İyi Çözücünün Belirlenmesi.....	42
6.4. Örneklerin Analize Hazırlanması.....	43
6.5. Optimum Koşullarda Elde Edilen Soğan Türlerine Ait Kromatogramlar.....	44
6.6. Konsantrasyon Aralığının Belirlenmesi ve Kalibrasyon Grafiğinin Çizilmesi.....	45

6.6.1. Kalibrasyon Grafiklerinin Çizilmesi.....	46
6.6.2. Sarı, Kırmızı ve Beyaz Soğan Ekstraktlarına Standart Çözelti Eklenmesi.....	49
6.7. Örnek Çözme ve Hesaplaması.....	53
<b>SONUÇ.....</b>	<b>66</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>68</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>74</b>

**BEYAZ, SARI VE KIRMIZI SOĞANDA ÇEŞİTLİ ORGANİK ASİTLERİN  
YÜKSEK BASINÇLI SIVI KROMATOĞRAFİSİ (HPLC) İLE TAYİNİ**

**Ayşe KAYA**

**Bozok Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Kimya Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi**

**2010; Sayfa: 74**

**Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. İsmail AKDENİZ**

**ÖZET**

Bu çalışmada okzalik, maleik, sitrik ve krotonik asitlerin eş zamanlı tayini için kromatografik yöntem geliştirilmiştir. Bu amaçla LiChrospher-100, RP-18e (5µm) HPLC sistemi kullanılmıştır. Her bir türün duyarlılığını arttırmak için sistemin tüm parametreleri optimize edilmiştir. Kırmızı, Beyaz ve sarı soğan örnekleri okzalik, maleik, sitrik ve krotonik asit içerikleri için analiz edilmiştir. Kırmızı, beyaz ve sarı soğan örneklerinde okzalik asit derişimleri sırasıyla 1162,18±119,55 mg/Kg, 1260,33±7,64 mg/Kg, 3736,10±416,44 mg/Kg olarak bulunmuştur. Analiz edilen tüm örneklerde maleik, sitrik ve krotonik asit gözlenmemiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Organik asit, okzalik asit, soğan, HPLC



**DETERMINATION OF ORGANIC ACIDS IN RED, WHITE AND YELLOW  
ONION SAMPLES HIGH PERFORMANCE LIKIT CHROMATOGRAPHY  
(HPLC)**

**Ayşe KAYA**

**Bozok University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Chemistry  
Master of Science Thesis**

**2010; Page:74**

**Thesis Supervisor: Asist. Prof.Dr. İsmail AKDENİZ**

**ABSTRACT**

A chromatographic method for the simultaneous determination of oxalic, maleic, citric and crotonic acids was developed in this study. For this aim, LiChrospher-100, RP-18e (5 $\mu$ m) HPLC system was used. All of the parameters were optimized to improve the sensitivity for each analyte. Red, white and yellow onion samples were analyzed for their oxalic, maleic, citric and crotonic acid contents. Concentrations of oxalic acid in red, white and yellow onion samples were found to be 1162,18 $\pm$ 119,55 mg/Kg, 1260,33 $\pm$ 7,64 mg/Kg, 3736,10 $\pm$ 416,44 mg/Kg respectively. Maleic, citric and crotonic acids were not detected in all samples interested.

**Keywords:** Organik asit, okzalik asit, soğan, HPLC

## TEŞEKKÜR

Tez çalıŐmalarının planlanması ve yürütölmesi aşamalarında bana her türlü desteği sağlayan, çalıŐmalarım sırasında değerli görüŐ ve katkılarıyla beni yönlendiren, bilimsel çalışma anlayıŐını ve iÇ disiplinini örnek aldığım değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. İsmail AKDENİZ'e bana her alanda ıŐık tuttuğu için içtenlikle teşekkür ederim.

ÇalıŐmalarım sırasında desteğini esirgemeyen değerli eŐim İlhan KAYA'ya en içten teŐekkürlerimi sunuyorum.

Ayşe KAYA  
Yozgat, Aralık 2010

## TABLULAR LİSTESİ

<b>Tablo 2.1:</b> Literatürde soğan bileşenlerinin tayini için geliştirilmiş analiz metotları..	6
<b>Tablo 2.2:</b> Soğandaki flavonol içeriği .....	12
<b>Tablo 2.3:</b> Soğandaki flavonoidlerin analizi için geliştirilmiş metotlar .....	13
<b>Tablo 4.1:</b> Çalışılan asitlerle ilgili genel bilgiler.....	26
<b>Tablo 5.1:</b> Kromatografi Çözücüleri .....	28
<b>Tablo 6.1:</b> 0,1M, 0,05M, 0,025M, 0,0125M H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> çözülmüş sarı soğan örnekleri kullanılarak elde edilen pik alanı değerleri.....	42
<b>Tablo 6.2:</b> Türlerle ait analitik veriler.....	49
<b>Tablo 6.3:</b> Sarı, kırmızı ve beyaz soğanda tayin edilen okzalik asit miktarları.....	53

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: Tiyosülfatların biyosentez yolu .....	5
Şekil 2.2: Soğandaki uçucu organosülfür bileşikleri .....	6
Şekil 2.3: Organo sülfür bileşiklerinin zincir şeklindeki tiyosülfonatlara bozunması .....	7
Şekil 2.4: Soğanda bulunan başlıca sapogeninler .....	9
Şekil 2.5: Beyaz soğandaki sapogenin ve saponinler .....	10
Şekil 2.6: Kırmızı soğandaki Tropea'dan oluşan saponinler .....	11
Şekil 2.7: Soğandan dimer izole edilen flavonol glukozit .....	13
Şekil 3.1: İşlenmiş soğanın metabolik yolu süresince, organo-sülfür bileşiklerinin düzenlenmesi .....	15
Şekil 3.2: Soğanda farklı özelliklerde bulunan majör organo-sülfür bileşiklerinin ekstraksiyonlarına dayanan metot .....	16
Şekil 4.1: Okzalik asitin molekül yapısı.....	24
Şekil 4.2: Maleik asitin molekül yapısı.....	25
Şekil 4.3: Sitrik asitin molekül yapısı.....	25
Şekil 4.4: Krotonik asitin molekül yapısı.....	26
Şekil 5.1: Bir HPLC cihazı şeması .....	35
Şekil 5.2: Gradient elüsyon uyumlu bir HPLC cihazının şeması .....	36
Şekil 5.3: HPLC için bir pistonlu pompa .....	37
Şekil 6.1: 0,05M H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> 'de çözülmüş sarı soğana ait kromatogram.....	44
Şekil 6.2: 0,05M H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> 'de çözülmüş kırmızı soğana ait kromatogram.....	44
Şekil 6.3: 0,05M H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> 'de çözülmüş beyaz soğana ait kromatogram.....	45
Şekil 6.4: Standart çözeltiye ait kromatogram.....	46
Şekil 6.5: Sarı soğan, standart çözelti ve sarı soğan-standart karışımına ait kromatogramların karşılaştırılması.....	50
Şekil 6.6: Kırmızı soğan, standart çözelti ve kırmızı soğan-standart karışımına ait kromatogramların karşılaştırılması.....	51
Şekil 6.7: Beyaz soğan, standart çözelti ve beyaz soğan-standart karışımına ait kromatogramların karşılaştırılması.....	52
Şekil 6.8: Saf kırmızı soğan ve 50 ppm olacak şekilde Okzalik asit eklenmiş	

kırmızı soğan ekstraktına ait kromatogramların karşılaştırılması.....	54
<b>Şekil 6.9:</b> Saf kırmızı soğan ve 5 ppm olacak şekilde Maleik asit eklenmiş kırmızı soğan ekstraktına ait kromatogramların karşılaştırılması.....	55
<b>Şekil 6.10:</b> Saf kırmızı soğan ve 625 ppm olacak şekilde Sitrik asit eklenmiş kırmızı soğan ekstraktına ait kromatogramların karşılaştırılması.....	56
<b>Şekil 6.11:</b> Saf kırmızı soğan ve 6,25 ppm olacak şekilde Krotonik asit eklenmiş kırmızı soğan ekstraktına ait kromatogramların karşılaştırılması.....	57
<b>Şekil 6.12:</b> Saf sarı soğan ve 50 ppm olacak şekilde Okzalik asit eklenmiş sarı soğan ekstraktına ait kromatogramların karşılaştırılması.....	58
<b>Şekil 6.13:</b> Saf sarı soğan ve 5 ppm olacak şekilde Maleik asit eklenmiş sarı soğan ekstraktına ait kromatogramların karşılaştırılması.....	59
<b>Şekil 6.14:</b> Saf sarı soğan ve 625 ppm olacak şekilde Sitrik asit eklenmiş sarı soğan ekstraktına ait kromatogramların karşılaştırılması.....	60
<b>Şekil 6.15:</b> Saf sarı soğan ve 6,25 ppm olacak şekilde Krotonik asit eklenmiş sarı soğan ekstraktına ait kromatogramların karşılaştırılması.....	61
<b>Şekil 6.16:</b> Saf beyaz soğan ve 50 ppm olacak şekilde Okzalik asit eklenmiş beyaz soğan ekstraktına ait kromatogramların karşılaştırılması.....	62
<b>Şekil 6.17:</b> Saf beyaz soğan ve 5 ppm olacak şekilde Maleik asit eklenmiş beyaz soğan ekstraktına ait kromatogramların karşılaştırılması.....	63
<b>Şekil 6.18:</b> Saf beyaz soğan ve 625 ppm olacak şekilde Sitrik asit eklenmiş beyaz soğan ekstraktına ait kromatogramların karşılaştırılması.....	64
<b>Şekil 6.19:</b> Saf beyaz soğan ve 6,25 ppm olacak şekilde Krotonik asit eklenmiş beyaz soğan ekstraktına ait kromatogramların karşılaştırılması.....	65

## GRAFİKLER LİSTESİ

<b>Grafik 6.1:</b> 210 nm, 0,90 mL/dk, pH=2,70 çalışma koşullarında Okzalik asit için kalibrasyon grafiği.....	47
<b>Grafik 6.2:</b> 210 nm, 0,90 mL/dk, pH=2,70 çalışma koşullarında Maleik asit için kalibrasyon grafiği.....	47
<b>Grafik 6.3:</b> 210 nm, 0,90 mL/dk, pH=2,70 çalışma koşullarında Sitrik asit için kalibrasyon grafiği.....	48
<b>Grafik 6.4:</b> 210 nm, 0,90 mL/dk, pH=2,70 çalışma koşullarında Krotonik asit için kalibrasyon grafiği.....	49

## KISALTMALAR LİSTESİ

GC- MS	: Gaz kromatografi – Kütle spektrometri
DAS	: Dialilsülfit
DADS	: Dialildisülfit
DATS	: Dialiltrisülfit
DPDS	: Dialildisülfit
DPS	: Dipropilsülfit
GC	: Gaz Kromatografi
HPLC	: Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografi
LC	: Sıvı Kromatografi
LF	: Göz yaşartıcı Faktör
MS	: Kütle Spektrometri
PTV-GC-AES	: Sıcaklıkla programlı - Gaz Kromatografi-Atomik Emisyon Spektrometri
SC-CO <sub>2</sub>	: Karbondioksit ile Süper Kritik Ekstraksiyon
SD	: Spektrometrik Tayin
SEPHADEX	: Sephadex LH-20 kolon
SFE	: Süper Kritik Sıvı Ekstraksiyonu
SPME	: Katı Faz Mikro Ekstraksiyon
TLC	: İnce Tabaka Kromatografi
UV-VIS	: Mor ötesi - Görünür Bölge

## 1. GİRİŞ

Soğan, dünyada tarımı en çok yapılan ve büyük ekonomik öneme sahip türlerden biridir. İnsan diyetinde, besin değerine önemli katkısının yanı sıra, medikal ve fonksiyonel özelliklere de sahiptir. Soğan, diğer yiyeceklere lezzet katma yeteneğinden veya kendine has lezzetinden dolayı da çok tüketilir [1].

Soğan türlerinin sağladığı farmakolojik aktivitelere gelince; gastrik kanser ve gastrik ülserden sorumlu *Helicobacter pylori*' ye karşı bakteriyostatik aktif, hiperkolesterolu azaltıcı, antioksidan, antimikrobiyal, antitümör ve kanser önleyici gibi yararlı ekstraktları içeren çok sayıda kimyasal ve farmakolojik raporlar vardır [2]. Organik asitler, Krebs Dönüşümü'nün de aralarında bulunduğu çoklu metabolik sistemlere katılırlar [3]. Metabolik sistemlere katılan organik asitlerin katkısı, soğan suyunun pH'ına, pK<sub>a</sub> değerine veya asitliğine ve konsantrasyonlarına bağlıdır.

Soğanın kimyasal kompozisyonuna ilişkin literatür, özellikle organik asitler ( okzalik asit, maleik asit, sitrik asit, krotonik asit hariç) göz önünde bulundurulduğunda oldukça geniştir.

Sebze ve meyvelerdeki organik asitlerin tayini çok önemlidir. Organik asitlerin bulunan miktarları ve bağıl oranları matriksin toplam asitliği, mikrobiyal stabilitesi (kararlılığı), tazeliği gibi duyuşal ve kimyasal özelliklerini etkiler. Yiyeceğin sıhhatliliği hakkında fazlasıyla bilgi sağlayabilir. Peynir, domates, yeşil fasulye, havuç, elma, kivi, böğürtlen, kuş üzümü, meyve suları, üzüm şırası ve şarap gibi yiyecek ve içeceklerde, organik asitlerin tayini için birçok metot yayımlanmıştır. Bu metotların çoğu GC veya HPLC ile ayırmaları ve organik asit miktarlarının eş zamanlı tayinleri esasına dayanır. Meyve ve meyve sularının GC esasına dayalı birçok analiz metotları vardır. Mükemmel ayırma ve duyarlılık olmasına rağmen, fazla zaman alması, türevlendirme basamakları, kullanılan toksik türev belirteçleri dezavantajlarıdır. Üstelik bu analizler için gerekli olan yüksek sıcaklık, örnek bozulmalarına yol açabilir. Diğer taraftan, HPLC metotlarının dezavantajı, düşük ayırma gücü ve yüksek tayin limitlerine dayanır. Yine de basitliği ve daha uygun



kromatografik şartları sayesinde HPLC ayırmaları, organik asitlerin ayrılmalarında ve miktar tayinlerinde, etkili metotlardır [4].

Bizim amacımız, sarı, beyaz ve kırmızı soğandaki organik asitlerin eş zamanlı tayinini yapmak, basit ve tekrarlanabilir bir HPLC metodu geliştirmektir.

## 2. SOĞANIN TARİHÇESİ

Ekimi yapılan en eski bitkiler arasında olan soğan (*Allium Cepa L.*), hem yiyecek olarak hem de tıbbi uygulamalar için kullanılır. Aslında bu uygun yiyecek bitkisi, Akdeniz diyetinin önemli bileşenleri olarak bilinen bitkisel gıdaların önemli kaynağıdır. Fakat kanser, kronik kalp hastalıkları, obezite, hiperkolesterol, 2. tip diyabet, hipertansiyon, katarakt ve gastroentral sistem rahatsızlıkları gibi bir dizi hastalığın tedavisinde ve engellenmesinde de kullanılır. Bu davranışlar, bu sebzenin keskin kokusundan sorumlu olan tiyosülfonatlar, uçucu sülfür bileşikleriyle ilişkilidir. Düşük molekül ağırlıklı bileşiklerin yanında soğanda sıkça glikolizite edilmiş ilginç farmakolojik özellikler gösteren fenolik ve steroidal kökenli daha polar bileşikler de karakterize edilir. Daha çok çalışılmış tiyosülfonatlara kıyasla sonraki bileşenler, keskin kokulu olmama ve pişirme için daha sağlam olma avantajlarını sunar. Son zamanlarda bu bileşikler üzerine artan bir bilimsel ilgi vardır.

Eski zamanlardan beri soğan, yaygın yiyecek olarak ve birçok hastalığın tedavisi için kullanılmıştır. Bu bitkilerden ilk alıntı, kalp hastalıkları, baş ağrısı, ısırıklar, kurtlar ve tümörler [5] gibi çeşitli hastalıklar için çare olarak kullanılan soğana dayalı birçok iyileştirici formül bildiren bir mısır tıbbi papirüsü olan Codex Ebers'de (M.Ö.1550) bulunmuştur. Soğanın dayanıklılığı arttırdığını düşünmüşlerdir. Akdeniz tarafındaki insanların birçoğu tarafından hala kullanılan soğan, daha sonra iyileştirici vasıta olarak soğanı kullanan Yunan ve Romalılarca yenecek bitki olarak da kullanılmıştır [6]. *Allium*, *Alliaceae* ailesini temsil eden en büyük ve en önemli türdür. Ve kuzey yarım kürede yaygın 450 türden oluşur. İyi bilinen sarımsak ve soğanın yanı sıra, pırasa, taze soğan, soğancık, vahşi sarımsak, fil sarımsağı, Frenk soğanı, Çin Frenk soğanı gibi birçok çeşit tür, mutfakta kullanım için yaygınca yetiştirilmektedir [7].

Bu biyolojik etkilerin birçoğu, karakteristik keskin koku aroması ve tadından sorumlu olan tiyosülfonatlarla, uçucu sülfür bileşikleridir. Bununla birlikte bu bileşikler dayanıksızdır. Bu nedenle araştırmalarda dikkat, pişirme ve saklamaya daha dayanıklı olan polar bileşikler üzerine odaklanmıştır. Bu bileşiklerin ait olduğu sınıflar: Sapogeninler, saponinler ve flavonoidler'dir. Bu büyüyen ilgi, yiyeceklerin

ikinci metabolitlerinin analizine yönlendiren genel bir eğilimi takip eder. Son zamanlarda ‘nutraceutical’ (bir hastalığın tedavisinde tıbbi yararı bulunan fonksiyonel gıda) ya da ‘phytochemical’ (bitkisel ilaç) terimleri ile adlandırılan bu bileşikler, gerekli olmayan mikroblesinler olarak sınıflandırılmıştır [8-9]. Böylece gıda bilimi yenilebilen bitkilerin ikincil metabolitlerinin analizine artan bir ilgi ile sağlığı teşvik eden, piyasaya sürülen kaliteli ve güvenilir yiyeceklerle ilgilenmiştir.

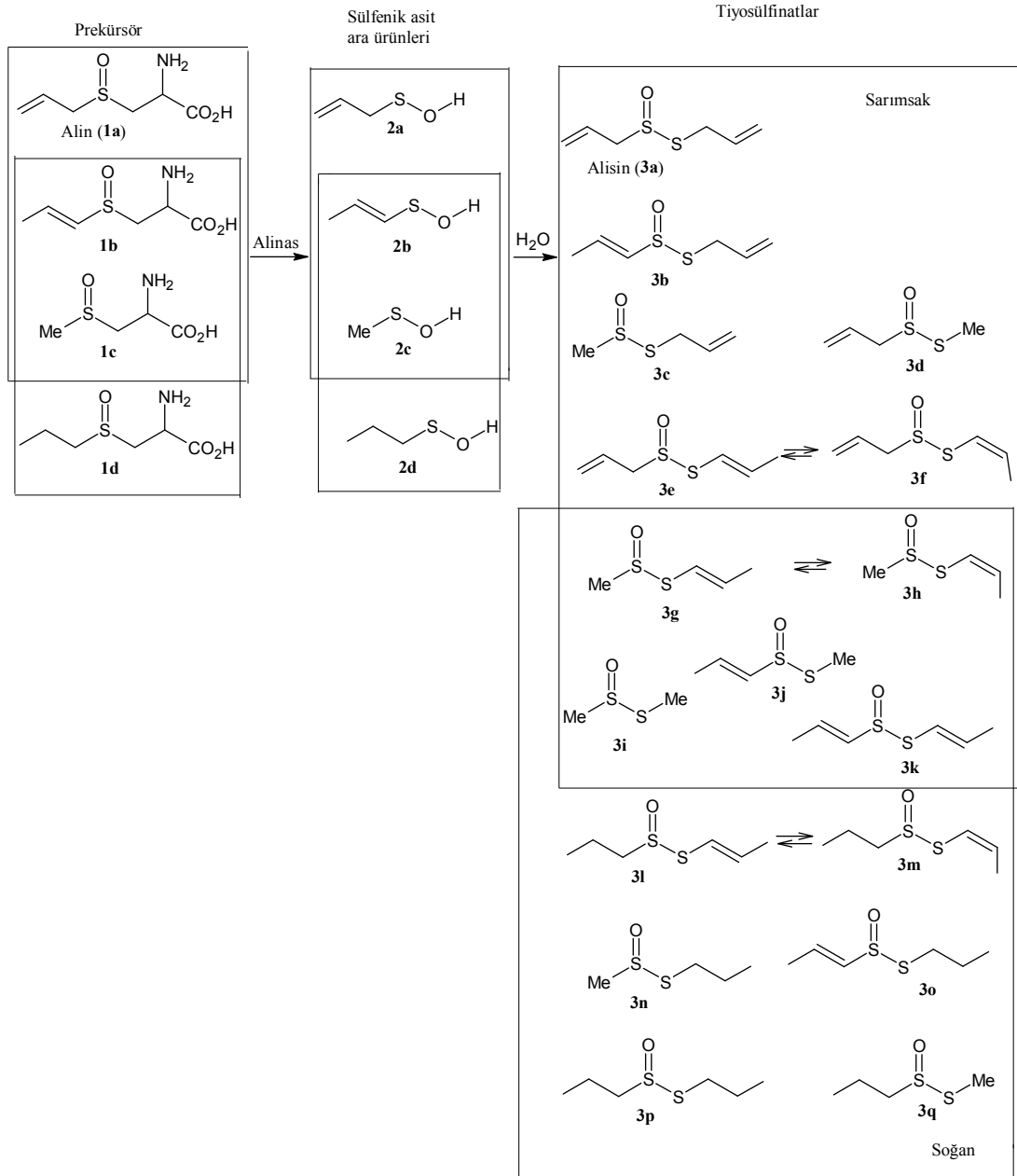
Soğanda bulunan organik sülfür ya da organik selenyum bileşiklerinin analizine dayalı olarak bazı eleştiriler yayımlanmıştır [10].

## **2.1. Uçucu Bileşikler**

### **2.1.1. Tiyosülfonatlar ile Diğer Organosülfür Bileşiklerinin Kimyasal Yapısı ve Biyoaktivitesi**

Tiyosülfonatlar, Allium türünden öne çıkan en iyi çalışılmış bileşiklerdir. Ve onların yapısı ile biyolojik başlangıçları hakkındaki bilgilerin çoğu Block’a dayanır [11]. Bu moleküller S-alkanil-L-sistein-S-oksit’ten başlar (1a-1d, Şekil 2.1). Öncelikle sülfonik asit vererek vaküllerde bulunan bir C-S liyaz olan allinaz ile katalizlenen enzimatik bir tepkime yolu ile stoplazmada oluşur (2a-2d, Şekil 2.1). Bunlar kondenzasyon tepkimesi ile hemen tiyosülfonat üreten oldukça aktif ara ürünlerdir (3a-3g, Şekil 2.1). Türler arasındaki farklılıklar, yapılarına ve onların belirti miktarlarının oranına bağlıdır (1a-1d, Şekil 2.1). Soğanda izoallil adlı 1-propenil kalıntılı bileşik, 1b (Şekil 2.1), ana metabolit iken; 1a (Şekil 2.1) tamamen kayıptır. Sülfenik 1-propenil asit ara ürünü (2b), göz yaşartıcı faktör (LF, 4, Z-izomer, Şekil 2.2) olarak adlandırılan (Z,E)-propiliden sülfonat gibi diğer bileşiklere düzenlenir.

Tiyosülfonatlar, çok kararsız bileşiklerdir ve ileriki dönüşümlerde yer alan ve hala biyolojik faaliyetler gösteren [11] geniş çeşitlilikte türemiş sülfür bileşiklerine götüren ileriki yeniden düzenlenmelere olanak verir (Şekil 2.3). Tiyosülfonatlar (7a-7b, Şekil 2.3), di ve tri sülfür (8a-8b, Şekil 2.3); 2-vinil-2,4-dihidro-1,3- ditin (9, Şekil 2.3 ), 3-vinil-3,4-dihidro-1,2-ditin (10, Şekil 2.3 ) ve ajoen (11, Şekil 2.3) (Ajoen sarımsak anlamına gelen İspanyolca ‘ajo’ kelimesinden türemiştir.) bileşiklerini oluşturur.

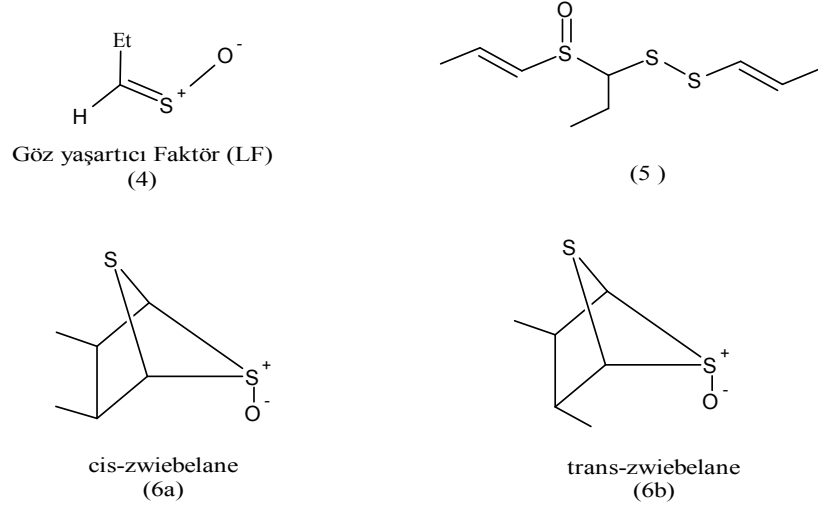


**Şekil 2.1.** Tiyosülfatların biyosentez yolu

**Kaynak:** Lanzotti, V.; The analysis of onion and garlic, J. Chromatography, 1112, 3–22, 2006.

Dokuların bölünmesi üzerine, izoallin ve diğer s-alkenilsistein sülfoksitler, 1-propenil- tiyosülfonat içeren ürün vererek, enzimatik olarak parçalanır (3j, 3b, 3a, Şekil 2.1 Me ile, tiollik tarafında allil ya da propil grubu). Molekülün iki tarafında da 1-propenil ucu olan bir tiyosülfonat (3k, Şekil 2.1) bulunur. Bu bileşiklerin pigmentler üretmek için amino asitlerle sonradan tepkime verdikleri belirlenmiştir. Pr, 1- propenil ve Me; pembe, pembe-kırmızı ve magenta bileşiklerinden türer iken (

3a, 3k, 3j Şekil 2.1), allil grubu içerenler (3b, şekil 2.1), pH=5,0'de glisin ile tepkime verdikten sonra mavi ürüne dönerler.



## Şekil 2.2: Soğandaki uçucu organosülfür bileşikleri

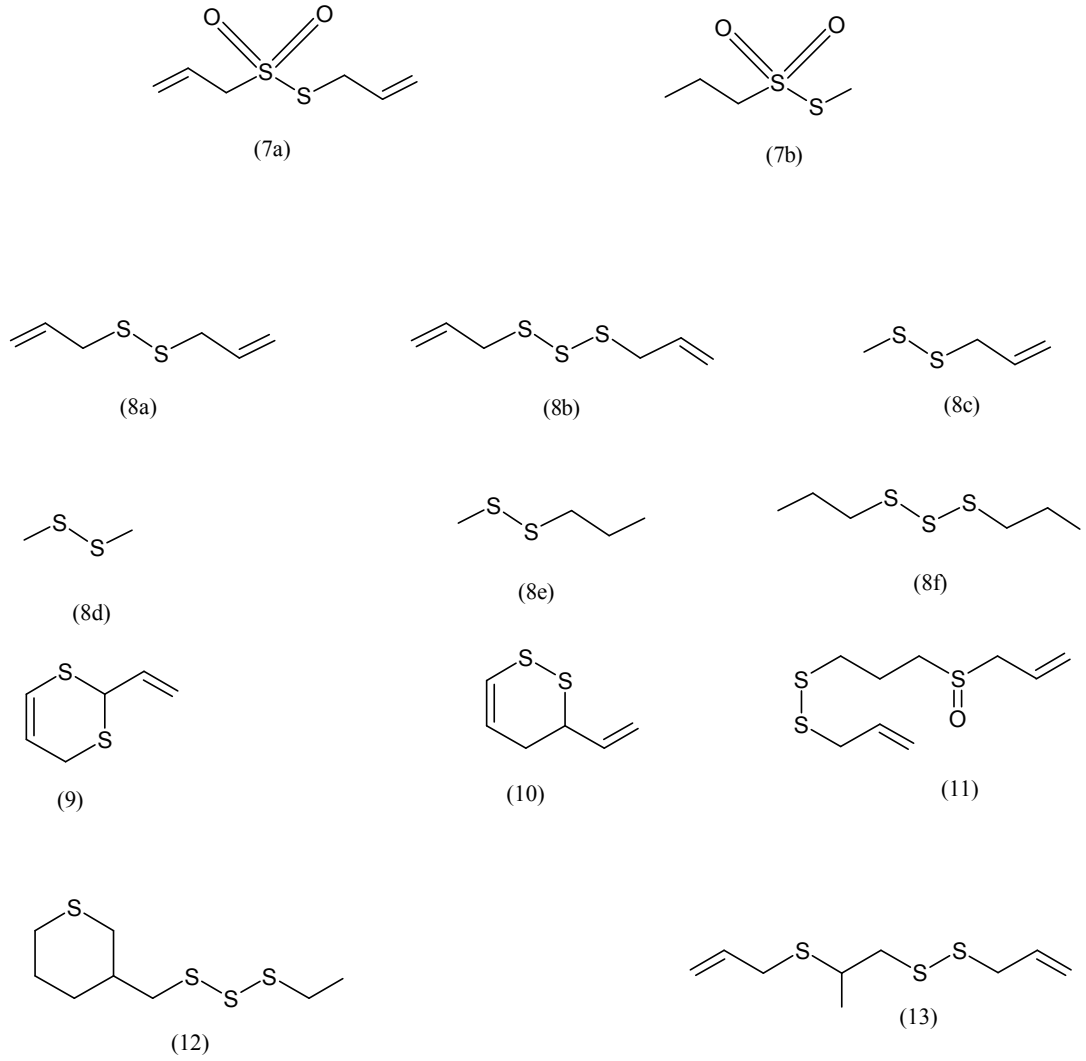
**Kaynak:** Lanzotti, V.; The analysis of onion and garlic, J. Chromatography, 1112, 3–22, 2006.

### 2.1.2. Tanıma / Teşhis Metotları ve Literatürdeki İlgili Çalışmalar

**Tablo 2.1.** Literatürde soğan bileşenlerinin tayini için geliştirilmiş analiz metotları

Materyal	Metot
Soğan	E/RSD
	E/HPLC CHIRAL
	SC-CO <sub>2</sub> /GC-MS
	SD/GC-MS
	E/CRYOGENIC GC-MS
	E/HPLC- <sup>1</sup> H-NMR
	SFE-MS
	SFE/GC-MS
	SFE/LC-MS
	E/GC
	E/GC
	E/GC-MS
	E/HPLC-UV(DAD)
	SPME/GC-MS
	SPME/GC-MS
	E/PTV-GC-AED
	PTV-GC-ITD/MS

**Kaynak:** Lanzotti, V.; The analysis of onion and garlic, J. Chromatography, 1112, 3–22, 2006.



**Şekil 2.3.** Organo sülfür bileşiklerinin zincir şeklindeki tiyosülfonatlara bozunması

**Kaynak:** Lanzotti, V.; The analysis of onion and garlic, J. Chromatography, 1112, 3–22, 2006.

Freeman ve McBreen tarafından 1973’de geliştirilmiş ilk metot, heksanda ekstrakte ettikten sonra taze, dondurulup – kurutulmuş ve fırında kurutulmuş soğanda tiyosülfonatların spektrofotometrik tayinine dayalıydı [12]. Sonuçlar soğan suyunda ‘koku alma ile ilgili’ başlangıç konsantrasyonuna bağlı olan prüvat konsantrasyonu ile ilişkiliydi.

Sadece 20 yıl sonra, birçok bilim adamı bu konuda çalışmaya başladı. Bauer ve arkadaşları [13], doğal kaynak (soğan) ve sentetik kökenden rasemik tiyosülfonat esterlerinin ( alkenilsülfonoik asit alkenil esterler) enantiyomerik ayırımı için kiral / şiral sabit fazlarını kullanarak bir HPLC metodu geliştirdi.

1992’de, Sinha ve diğerkleri [14] soğanların süper kritik karbondioksit ekstraksiyonuna ve gaz kromatografi - kütle spektrometri ile bunların kantitatif analizine dayalı bir metot yayımladılar. Bu analiz ile alisin (3a, Şekil 2.1) (veya bunun izomeri, di-1-propenil tiyosülfonat, 3k, Şekil 2.1), p-metantiyosülfonat (7b, Şekil 2.3), ditin türevleri (9-11, Şekil 2.3), diallil sülfıt (8a, Şekil 2.3) ve diallil trisülfıt (8b, Şekil 2.3) içeren 28 sülfür bileşığının varlığını kanıtladılar. Benzer şartlar altında analiz edilen damıtılmış yaygın bir soğan yağı, bu listelenen bileşiklerin tayin edilebilir miktarını içermeydi. MePr trisülfıt (8e, Şekil 2.3), di- Pr trisülfıt (8f, Şekil 2.3), ve di-Pr tetrasülfıt (12, Şekil 2.3) bileşikleri sadece damıtılmış soğan yağında tayin edildi ve yüksek konsantrasyonda bulundu.

Aynı yıl, Block ve grubu bu konuda birçok makale yayımladı. Önce tiyosülfonatların ve soğanın alakalı bileşiklerinin, pırasa, taze soğan, Frenk soğanı gibi yaygın Allium türlerinin kantitatif GC-MS analizini [15] yaptılar.

Randle ve diğerkleri [16] tarafından soğandaki tiyosülfonat farklılıkları sülfür verimliliğı ile ilişkilendirildi. Böylece, soğanlar çeşitli sülfür verimliliğı ile serada büyütüldü. Ve soğandaki tiyosülfonatlar ile alakalı bileşiklerdeki değışimler analiz edildi. Tiyosülfonatların (3g-3q, Şekil 2.1), zwiebelane’lerin (6a-6b, Şekil 2.2) ve soğan göz yaşırtıcı faktörünün (4, LF, Şekil 2.2) derişimleri; metansülfonatoik asit s-propil ester (3m, Şekil 2.1) ve metansülfonatoik asit s-metil ester (3i, Şekil 2.1) hariç sülfür verimliliğı artarken, doğrusal eğilim ile arttı. Tiyosülfonat (+) zwiebelane’ler, sülfür verimliliğinde yüksek bir hızda biçimlendirildiğini önerdi.

İkinci bir makalede, Randle [17] tat biçimlemesini düzenleyen faktörleri ve soğan tadı kimyasını derinlemesine inceledi. Bunun sebebi, dünya çapında diyetlerde besinsel değeri, özel tatları ve diğerk besinlerde tat arttırma yeteneklerinden dolayı soğanların önemidir. Öncül birleşme ve toplanmayı etkileyen çevresel ve genetik faktörlere bağılı doku bozulmasının takip ettiğı, s-alk(en)il-sistein s-oksit (1a-1d, Şekil 2.1) tat öncülünün enzimatik bozunmasından çoğalan organosülfür bileşiklerince baskın olan soğan tadını yarattılar. Özellikle, tiyosülfonatların ve diğerk soğan tatlandırıcılarının biçimlenmesi, tat öncülünde var olan üç farklı alkil grubunun konsantrasyonlarına ve öncül alkil gruptan etkilenen, öncül ayrışma için

sorumlu enzim olan alinaz faaliyetine dayanır. Alinaz derişimi çeşitlenir ve soğan tadında değişikliklere sebep olabilir.

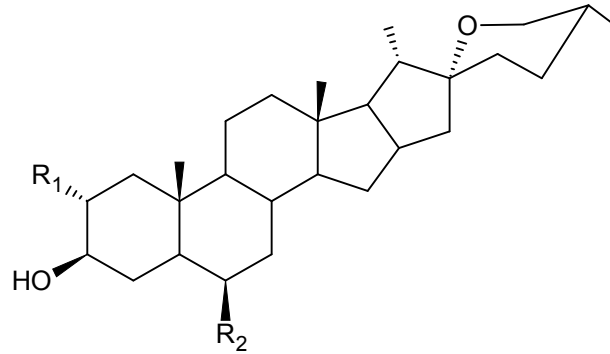
## 2.2. Uçucu Olmayan Bileşikler

### 2.2.1. Sapogeninler ve Saponinler: Kimyasal Yapı ve Biyoaktiviteleri

Bitki saponinleri üzerindeki çalışmalar 1970’li yıllarda başlamasına rağmen, son zamanlarda birçok hastalıklarda doğal ilaç olarak davranma yeteneklerinden dolayı bu bileşiklerin biyolojik önemi ile ilgili araştırmalara olan ilgi artmıştır.

Aslında birkaç makalede soğandan izole edilen saponinlerin antifungal, antitümör, antispazmodik, stetosite (hücre zehirlenmesi), kan pıhtılaşması ve kolesterol düşürücü etkileri gösterilmiştir [18].

Beyaz soğandan izole edilen saponinlerin araştırmalarında, hem soğanın çiçeklerinde hem de kabuklarında diosgenin (15, Şekil 2.4.) varolduğu gösterilmiştir [19].

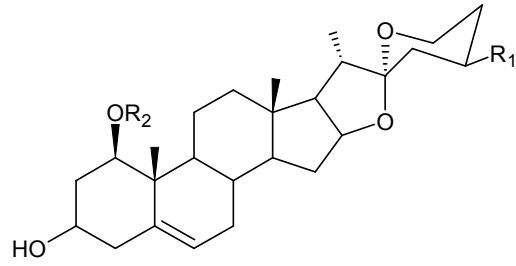


	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
Gitogenol (14)	OH	H
Diosgenin (15)	H	H
β-klorogenin (16)	OH	OH

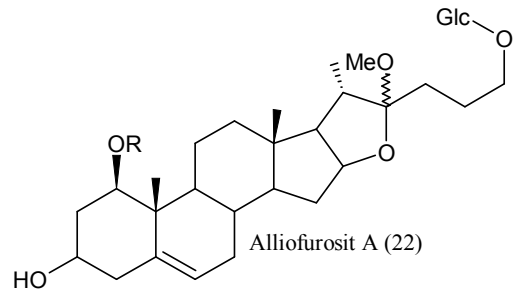
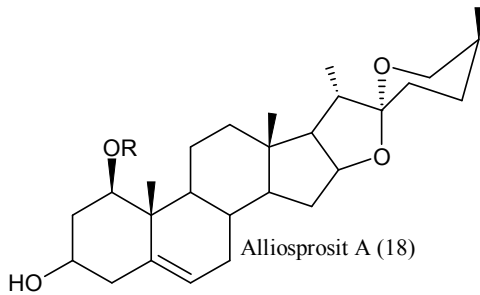
Şekil 2.4. Soğanda bulunan başlıca sapogeninler

**Kaynak:** Lanzotti, V.; The analysis of onion and garlic, J. Chromatography, 1112, 3–22, 2006.





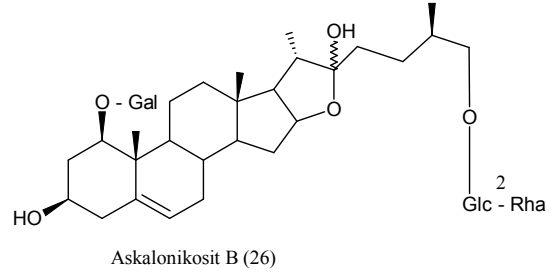
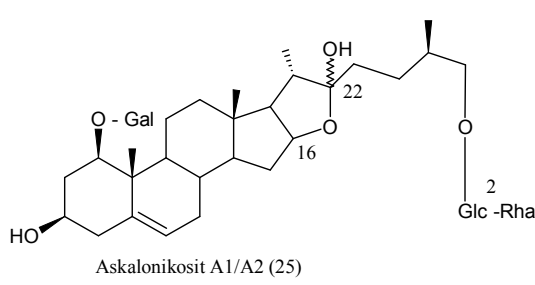
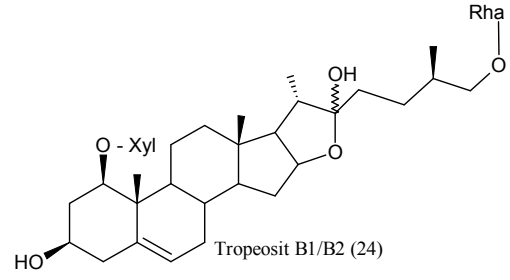
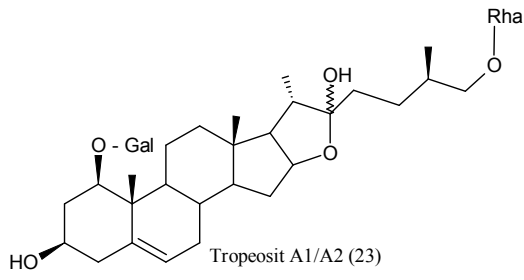
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
Cepagenin (17)	OH	H
Alliosprosit B (19)	H	$\alpha$ -L-Rha-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-Gal
Alliosprosit C(20)	OH	$\alpha$ -L-Rha-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -D-Ara
Alliosprosit D(21)	OH	$\alpha$ -L-Rha-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-Gal



R= $\alpha$ -L-Ara (1  $\rightarrow$  2) 6-deoksi- $\alpha$ -L-Man

## Şekil 2.5. Beyaz soğandaki sapogenin ve saponinler

**Kaynak:** Lanzotti, V.; The analysis of onion and garlic, J. Chromatography, 1112, 3–22, 2006.



**Şekil 2.6.** Kırmızı soğandaki Tropea'dan oluşan saponinler

**Kaynak:** Lanzotti, V.; The analysis of onion and garlic, J. Chromatography, 1112, 3–22, 2006.

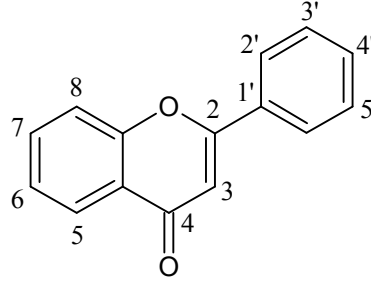
### 2.2.2. Flavonoidler ve Fenolikler: Kimyasal Yapı ve Biyoaktiviteleri

Flavonoidlerle ilgili son bir çalışmada, diğer 62 yaygın sebzeyle karşılaştırıldığında en yüksek toplam flavonoidin soğan katmanlarında olduğu belirtilmiştir [20].

Flavonoidler biyolojik önem açısından, antioksidan kapasitelerinden dolayı oldukça önemlidir [21].

Özellikle quercetin, LDL kolesterol düzeyini koruma yeteneği, anti HIV özelliğe sahip, bu yüzden kardiyovasküler hastalık riskini azalttığını göstermiştir [22].

**Tablo 2.2.** Soğandaki flavonol içeriği



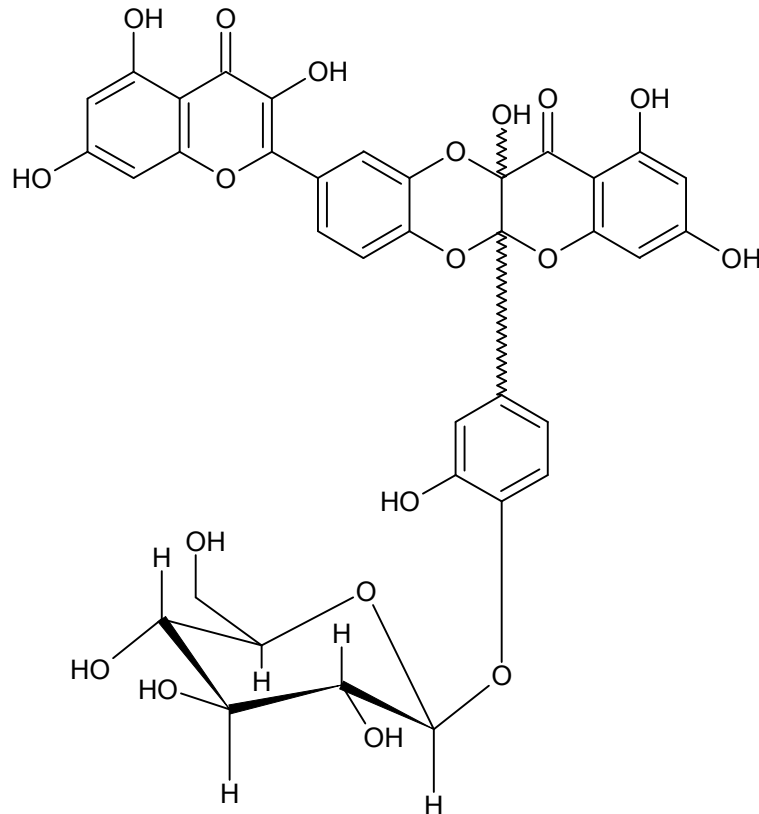
Bileşik	Fonksiyonel Grup	Soğandaki Miktar (mg/Kg)
Apigenin	4 <sup>1</sup> , 5, 7 (OH) <sub>3</sub>	Saptanmadı
Isorhammetin	3, 4 <sup>1</sup> , 5 (OH) <sub>3</sub> ; 7 (OCH <sub>3</sub> )	Küçük Miktar
Kaempferol	3, 4 <sup>1</sup> , 5, 7 (OH) <sub>4</sub>	832
Luteolin	3 <sup>1</sup> , 4 <sup>1</sup> , 5, 7 (OH) <sub>4</sub>	391
Quercetin	3, 3 <sup>1</sup> , 4 <sup>1</sup> , 5, 7 (OH) <sub>5</sub>	1497
Myricetin	3, 3 <sup>1</sup> , 4 <sup>1</sup> , 5 <sup>1</sup> , 5, 7 (OH) <sub>6</sub>	Saptanmadı

**Kaynak:** Mican, K.H., Mohamed, S.; J. Agric. Food Chem., 49 (6), 3106, 2001.

**Tablo 2.3.** Soğandaki flavonoidlerin analizi için geliştirilmiş metotlar

Materyal	Metot
Soğan	SEPHADEX/HPLC/TLC/MS/NMR
	C/MS
	HPLC REVERSED
	C/MS/NMR
	TLC/HPLC/NMR
	HPLC/MS/NMR
	HPLC (DAD)
	HPLC/HPLC-MS
	HPLC-DAD/ESI-MS-MS
	HPLC
	SD
	FLAVONOID HYDROLISYS/HPLC
	E/HPLC REVERSED

**Kaynak:** Lanzotti, V.; The analysis of onion and garlic, J. Chromatography, 1112, 3–22, 2006.



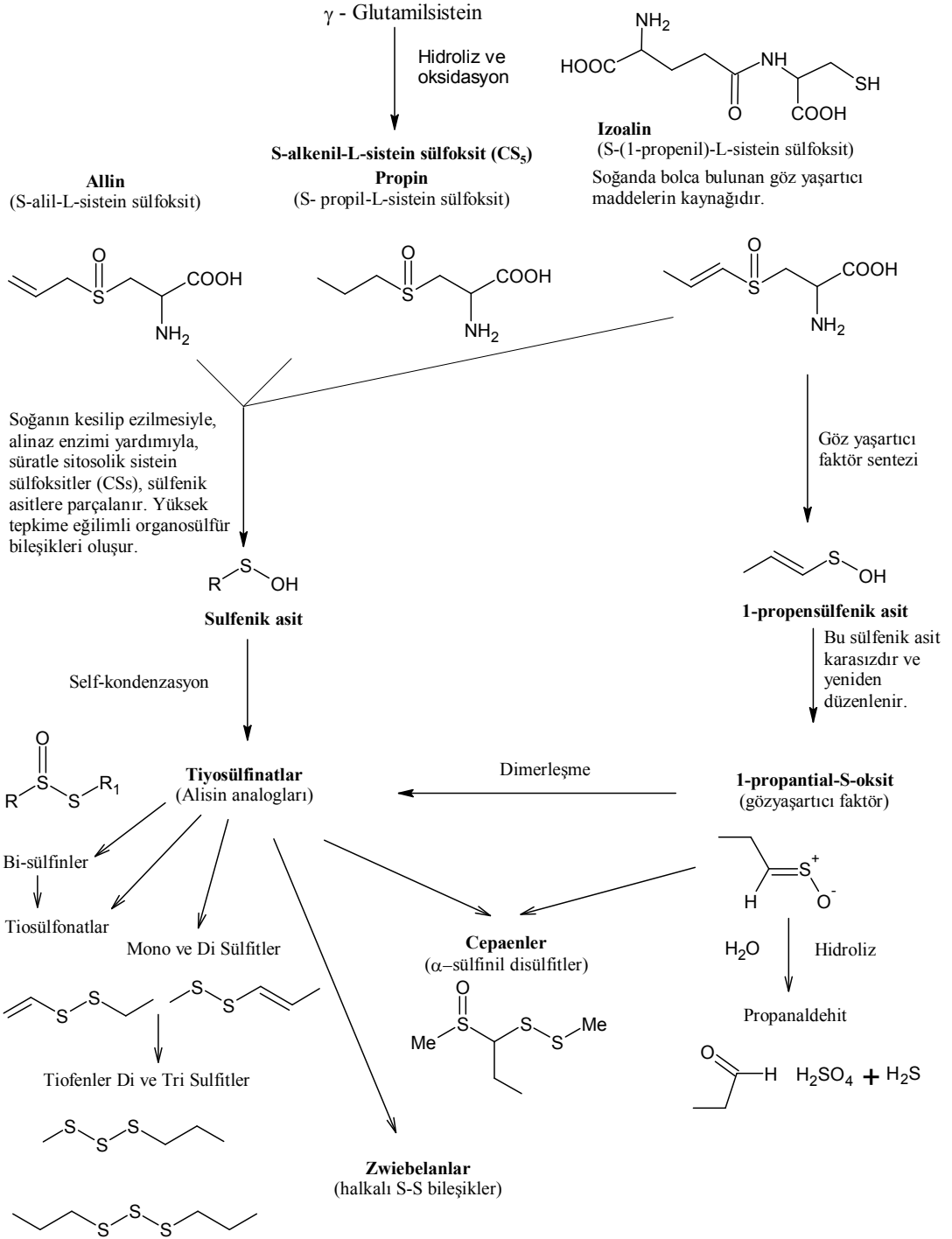
**Şekil 2.7.** Soğandan dimer izole edilen flavonol glukozit

**Kaynak:** Lanzotti, V.; The analysis of onion and garlic, J. Chromatography, 1112, 3–22, 2006.

### 3. SOĞANIN BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ

Soğan (*Allium Cepa*) gastronomide kullanılan geniş içerikli bir yiyecektir. Soğan, Çin’de baş ağrısı, kolera ve dizanteri için tavsiye edilir.

Birçok araştırmadan elde edilen bulgular gösteriyor ki; soğanın biyolojik ve medikal fonksiyonları soğanda başlıca bulunan yüksek organo sülfür bileşikleri sayesinde [23]. Soğanda bulunan başlıca sülfür içerikli bileşen S-alk(en)il-L-sistein sülfoksit (ACSOs) dir. Organo sülfür bileşikleri soğanın biyolojik özelliklerinin yanı sıra koku ve lezzetini de sağlar [2]. (Şekil 3.1) Flavonoidler de soğanda bolca bulunur. Bunlar da soğanın sağlık faydalarının büyük bir bölümünden sorumludur. Soğanda en bol bulunan protein olan lektin, prostaglandin, adenozin, fruktan, pektin, vitaminler B1, B2, B6, C ve E, biotin, nikotinik asit, yağ asitleri, glikolipidler ve gerekli amino asitler gibi soğan bileşenlerinin biyolojik etkileri üzerine son yıllarda bir çok çalışmalar yapılmıştır [24]. Biyolojik önemi ve farmakolojik aktiviteleri, antifungal, antibakteriyel, antitümör, antiinflamatuvar (iltihap sökücü) antitrombotik, hiperkolesterolemik (yüksek kolesterol) özellikleri son zamanlarda belirlenmiştir [2]. Soğanın diğer karakteristik kimyasal bileşenleri organoselenyum bileşikleridir. Bu kimyasal bileşiklerin kolesterol düşürücü, kanser önleyici gibi biyolojik etkiler gösterdiği belirtilmiştir [25].



**Şekil 3.1.** İşlenmiş soğanın metabolik yolu süresince, organo-sülfür bileşiklerinin düzenlenmesi

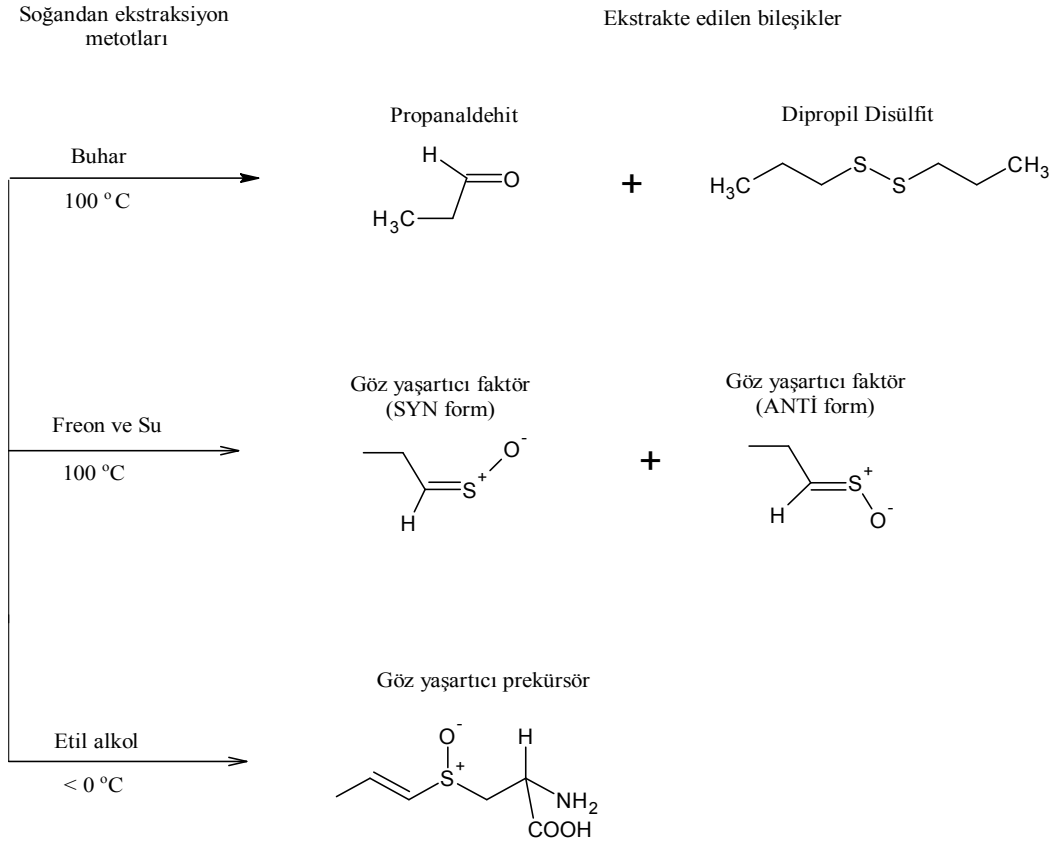
**Kaynak:** Corzo-Martinez M., Corzo N., Villamiel M.; Biological properties of onions and garlic, Trends in Food Science & Technology, 18, 609-625, 2007.

### 3.1. Antimikrobiyal Aktivite

Geleneksel tıpta soğan yüz yıllardır çeşitli toplumlarda parazitik, fungal, bakteriyel ve viral enfeksiyonlarda kullanılmıştır. Soğandaki sülfür bileşiklerinin kimyasal karakterizasyonu bu bileşiklerin başlıca aktif antimikrobiyal belirteçler olduğunu göstermiştir [10]. Bazı proteinler ve fenolik bileşikler bu aktiviteye katkı sağlayabilirler [6]. Soğanın sahip olduğu büyük antibakteriyel aktivite sayesinde mikrobiyal büyümeyi kontrol etmek için doğal koruyucu olarak kullanılabilirler [27].

### 3.2. Antiparazitik Aktivite

Leishmania (köpekten bulaşan bir tür parazit) ve T. Vaginalis'in (ürogenital bölgeye yerleşen bir tür parazit) farklı türlerine karşı, soğan ekstraktlarının antiparazitik özellikleri rapor edilmiştir [28].



**Şekil 3.2.** Soğanda farklı özelliklerde bulunan majör organo-sülfür bileşiklerinin ekstraksiyonlarına dayanan metot

**Kaynak:** Corzo-Martinez M., Corzo N., Villamiel M.; Biological properties of onions and garlic, Trends in Food Science & Technology, 18, 609-625, 2007.

### **3.3. Antifungal Aktivite**

Soğan ekstraktları birçok maya türlerine ve cilt mantarlarına karşı etkilidir [29]. Soğandaki aktif maddeler oksijen alınımını azaltıp hücre büyümesini engelleyerek lipitlerin, proteinlerin ve nükleik asitlerin sentezi ve mantar hücre duvarının sentezini engelleyerek mantar hücrelerini tahrip ederler [30].

Soğan ekstraktlarından aktif antifungal (antimantar) belirteçler alisin, alisinden daha büyük antifungal etkiye sahip diallil trisülfit (DATS), DADS, DAS ürünler analizlenmiştir [31]. Antifungal bileşik fistulosin (oktadecyl 3-hidroxyindole) soğandan izole edilmiştir. Bu madde protein sentezini engelleyen *Fusarium oxysporum*'a (bitkilerin kök ve demetlerinde ortaya çıkan bir tür fungal hastalık etmeni) karşı yüksek aktivite gösterir [32].

### **3.4. Antibakteriyal Aktivite**

Öne sürülen soğan ekstraktlarının streptococcus mutanlar (insan ağız boşluğunda bulunan gram-pozitif, fakültatif anaerobik bir bakteri), *Streptococcus sobrinus*, *Porphyromonas gingivalis* ve *Prevotella intermedia* (gram-pozitif bakteri)'ye karşı bakteriyal etkilerinin olduğu rapor edilmiştir [33]. Soğan gram negatif bakteriye karşı etkili değildir [6]. Soğan içinde major aktif antibakteriyal bileşikler alisinden türeyen organo sülfür bileşikleridir [34].

Organo sülfür bileşiklere ilave olarak soğanda *H. Pylori*'ye (*Helikobakter pilori*- Hp mideye yerleşen gram (-), mikroaerofilik bir bakteridir.) karşı antibakteriyal aktivitesi bulunan oksidasyon ürünleri de vardır [35].

### **3.5. Antiviral Aktivite**

Sülfür bileşiklerine ilave olarak, soğandaki major flavonoid quercetin (Sarı, beyaz renkli sebze ve meyvelerin kabuklarında yer alan çok iyi bir antioksidan ve anti inflamatuvardır), antiviral aktiviteye sahip olduğu ve bazı antiviral ilaçların biyolojik yeteneklerini arttırdığı belirtilmiştir [36]. Lektinler (hücre yüzeyi ve organellerindeki şekerlere spesifik olarak bağlanabilen bir tür protein) çok fonksiyonel gruplu glikoproteinlerdir. Soğan Lektinlerinin anti HIV aktiviteye sahip olduğu vurgulanmıştır [37].



### **3.6. Antioksidan Aktivite**

DNA'nın, proteinlerin ve lipitlerin oksidasyonu yaşlanmada ve yaşlılıkla ilgili hastalıklarda, nörodejenaratif ve iltihaplı hastalıklarda önemli bir rol oynar. Soğan birçok ülkede besinle alınan flavonoidlerin major kaynaklarından biridir. Soğanda bulunan major flavonoid quercetin'dir. Quercetin ve onun dimerleşmiş bileşiği en yüksek antioksidatif aktivite gösterir.

Quercetin biyoyararlılığıyla ilgili, quercetin insanda absorplandığı gösterilmiştir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda canlı plazmasında antioksidan gibi davranan C ve E vitaminlerinin daha düşük konsantrasyonda absorplandığı gösterilmiştir [38].

### **3.7. Antikarsinojenik (Kanser Önleyici )ve Antimutagen Aktiviteler**

Pek çok epidemiyolojik ve laboratuvar araştırmalarında soğan ve sarımsak ile ilgili olarak kanser önleyici gen etkilerini ve kimyasalların zararlı etkilerini önleyici kanıtlar bulunmuştur. Özellikle de soğan ve sarımsağın tümörlü hücre büyümesi ve hızlı hücre üremeyi engelleme kapasiteleri çalışılmıştır. Bu çalışmalarda diyetlerle alınan soğan ve sarımsak mide, kalın bağırsak, prostat, yemek borusu, mesane (idrar torbası), karaciğer, akciğer, deri, meme ve beyin gibi çeşitli doku ve organlarda kanserli ur (kötü ur) riskini azalttığı gösterilmiştir [39-40]. Tümör hücrelerinin oluşumunu engelleme mekanizması henüz belirlenmemiştir.

Bazı araştırmalar soğan ve sarımsaktan elde edilen ve hem suda hem de yağlarda çözülen sülfür bileşiklerinin kanser önleyici faydalar sağladığını göstermiştir. Soğandan elde edilen dipropil sülfid (DPS), dipropil disülfid (DPDS) hem erken hem de ileri aşamadaki kanserleri engelleyebilir.

Bunlara ilave olarak organo sülfür ve organo selenyum bileşikleri soğan ve sarımsağın kanser önleyici aktivitelerinden sorumlu bileşiklerdir. Selenyumca zengin soğanlar daha yüksek kanser önleyici aktiviteye sahiptirler [41].

Saf Selenyum bileşiklerinin benzer kükürt bileşikleriyle karşılaştırıldığında daha iyi kanser önleyici olduğu ispatlanmıştır. Örneğin, diallilselenid meme tümörü kanserinin azaltılmasında DAS'dan en az 300 kat daha aktiftir [42]. Soğan ve

sarımsakta kanser önleyici aktiviteye sahip iki önemli selenyum bileşiği; selenyum metilselenosistein ve selenyum alilselenosistein'dir. Selenyumca zengin soğanlarda selenyum bileşiklerinin belirlenmesi ve tayini antikanser mekanizmasının aydınlatmak için önemlidir [43].

Soğandan elde edilen quercetin ve kaempferol antikanserojen özelliklere sahiptir [44]. Buna ek olarak son araştırmalarda bazı kanser önleyici ilaçların biyoverimliliğini arttırdığı rapor edilmiştir. [36-45].

Buradan hareketle örnek verecek olursak, DADS' nin antiproliferatif etkilerinin, aggregan 1, tenascin R, vitronectin ve cadherin 5 ile ilgili gen ifadesindeki değişikliklerle ilgili olabileceğini DNA dizilimi araştırma verileri ortaya koymuştur [46].

Son araştırma gösteriyor ki; asıl dizi etkileri gen ifadesi düzeyinde, quercetin kolon kanser hücreleri üzerinde etkilidir [47].

Kanser düşürücü olarak tanımlanmış olan, günlük alınması gerekli minimum soğan ve sarımsak miktarı, kanser oluşumunu önlemesine karşı önerilebilir.

### **3.8. Yağ Metabolizması Üzerine Etkileri**

Soğan üzerine ileri düzeyde yapılan çalışmalar pek fazla değildir. Bazı araştırmalarda, soğan bileşiklerinin vitro çalışmalarında, hepatik kolesterol biyosentezi önleyici ve kan trigliserit kapasitesi ispat edilmiştir [48].

İnsan ve hayvan deneylerinde, soğan ve sarımsağın hipolipidemik ve hipokolesterolemik etkilerinden dolayı alisin ve onun türevleri olan temel aktif maddeler sorumludur [49-50].

Sarımsaktaki bazı kardiyovasküler değişkenler üzerindeki ispat edilen yararlı etkilerinden sarımsaktaki bazı alisin türevi bileşikleri, ajoene, metil ajoene, DAS, DATS, 2-vinil-4H-1,3-ditin ve SAC sorumludur. Soğanda sarımsaktan daha çok bulunan, hem Methiin hem de flavonoid Quercetin bileşiklerinin, serum kolesterol düzeyi ve damar sertleşmesini düşürme kabiliyetine sahip olduğu gözlenmiştir [51].

Bütün bu bileşikler hepatic kolesterol biyosentezini durdurmanın yanında hipokolesterolemik etki [52], safra asidinin kolesterol dönüşümünü artırma ve onun gastrointestinal bölge yoluyla boşaltımı [53] veya kolesterol absorpsiyonu engellendiğinden bitki saponinleri olgusunda, hiperkolesterolemik hayvan modellerinde HDL kolesterol düzeylerinde [54] etki uygulayabildiği görülmüştür.

### **3.9. Anti-platelet veya Anti-trombotik Etkileri**

Soğanın antitrombotik davranışı üzerine yapılan çalışmalar, sulu ekstraktların trombosit agregasyonu ve oluşumunun güçlü uyarıcıları, trombosit oluşumunu durdurduğunu göstermiştir [55].

Antitrombosit aktivite önemli ölçüde genotipe, ortam ve sebzeleri saklama süresine bağlıdır. Soğan ve sarımsakta, soğanın genotip olarak belirli sülfür içeriği ve organo sülfür bileşiklerinin doğal konsantrasyonu yanında parçasındaki belirli antitrombosit aktivitenin, sarımsağın 13 kıvrımlı yapısının soğandan güçlü olduğu rapor edilmiştir [56].

Bir takım epidemiolojik çalışmalarda soğan ve sarımsağın dikkate alınan organo sülfür bileşiklerinin, antitrombotik aktivitesi rapor edilmiştir. Soğan ekstraktlarındaki kanıtlanmış antitrombotik etki  $\alpha$ -sülfünil-disülfidler (cepaenes) sınıfına dayandırılmıştır [57].

### **3.10. Solunum Sistemi Üzerine Etkileri**

Vitro çalışmalarında, soğandan elde edilmiş belirli tiyosülfonatlar ve cepaene ( $\alpha$ -sülfimildisülfid) bileşiklerinin, siklooksijenazın durdurucu etkisi ve eikosanoid (biyokimyada, 20 karbonlu çoklu doymamış yağ asiti arasıdonattan yapılmış hormonlara (Prostaglandin, tromboksan ve lökotrien) verilen ad) metabolizmasını başlatan, lipoksijenaza bağlı reaksiyonlar ve bronşiyal daralmaya yol açması dikkate değerdir. Bunun sonucunda bu bileşikler antiastimatik etkiye sahiptir [58].

### **3.11. Diğer Yararlı Etkileri**

Soğanın sindirim sistemini uyardığı, sindirimi hızlandığı ve mide bağırsak sistemine gıda geçiş zamanını azalttığı bildirilmiştir [59]. Soğanın yüksek çözünür lif içeriği, genel olumlu sağlık etkileri ile özellikle bifidobakteri ve laktobasil (laktik asit üreten bakteri) gibi kolonda özel mikroorganizmaların büyümesini teşvik eden inulin ve fruktooligosakkaritler [60-61] nedeniyle prebiyotik aktiviteleri de incelenmiştir. Soğanın hem inulin hem de fruktooligosakkarit içeriği tadında hiçbir olumsuz etki yaratmadan işlenmiş gıdaları zenginleştirmek için fonksiyonel malzemeler olarak kullanılabilirler [62].

### **3.12. Yan Etkileri, Kontrendikasyonları ve Etkileşimleri**

Soğanın uzun vadeli takviyesi, önleyici faydalarını elde etmek için gereklidir. Diğer kimyasal bileşikler ile etkileşimiyle muhtemel toksik ve yan etkilerini de dikkate almak gereklidir.

#### **3.12.1. Yan Etkileri**

Soğanın insan üzerindeki en yaygın yan etkileri daha az ve seyrek olabilir [63]. Soğanın küçük miktarlarda alımı ile oluşan en sık görülen yan etkisi, kötü nefes ve vücut kokusudur. Ancak yapılan çeşitli çalışmalar, soğanın özellikle mide boş iken aşırı miktarda tüketiminin mide bağırsak bozukluğu (yanma hissi ve ishal), şişkinlik ve bağırsak florasının değişiklikleri gibi daha az sıklıkta rastlanan istenmeyen etkilere neden olduğunu göstermiştir [64]. Taze veya ezilmiş soğan cilt üzerine direkt uygulandığında duyarlı kişilerde cilt sorunlarını (alerjik dermatif, yanık ve kabarcık) oluşturması nadir görülen etki grubundadır [65-66].

Soğanın alerjenleri henüz bulunamamıştır. Fakat allin ve propantiyol-S-oksit (göz yaşartıcı faktör) olarak şüphelenilmektedir. Bu bileşenler vitro'da ve hatta vivo'da bile akantolizi (hücrelerin ayrılması), uyarabilmektedir [66].

### 3.12.2. İlaç Etkileşimleri

Tamamlayıcı ilaç olarak kullanılan soğan, dış kimyasal bileşikleri metabolize etmekle sorumlu karaciğer P450 enzimlerini uyarma yeteneği nedeniyle ağır olarak irdelenmektedir. Günümüzde yapılan birçok çalışma yüksek quercetin içerikli soğanın eş zamanlı alımını, organ nakli reddi ile siklosporinin oral biyoyaralılığını azalttığını bildirmiştir [67]. Proteaz inhibitörü Sakuinavir (antiviral HIV ilacı) plazma konsantrasyonları üzerinde quercetin eş zamanlı uygulama etkisini belirlemek için de çalışmalar yapılmıştır. Ancak daha fazla çalışma yapılmak zorundadır. Sakuinavir'in hücre içi konsantrasyonlarının önemli iç ve dış içerik çeşitliliğinden dolayı quercetin'in eş zamanlı uygulaması gerekir [68].

Soğan ve türevlerinin alımı yan etki riskini en aza indirmek amacıyla uzun süreli ilaç kullanımı esnasında kontrol edilmelidir [65]. Tedavi edici olarak soğan kullanımı daha önceden açıklanan uzun süreli ve aşırı tüketimle ortaya çıkan tüm yan etkilerine rağmen çok güvenli gibi görünmektedir.

### 3.13. Sonuçlar ve Gelecek Trendleri

Bu derlemedeki tüm gerçeklere göre şunu söyleyebiliriz. Soğan sadece tanınan ve anlaşılan organoleptik özelliği nedeniyle değil, sahip olduğu önemli biyolojik faaliyetlerinin genişliğinden dolayı da gıda hazırlanması maddelerinde veya doğrudan tüketim için kullanıma uygundur. Bu gerçek, bazı hastalıkların tedavisinde konvansiyonel olmayan tedaviler nedeniyle doğal tedaviye olan halk ilgisini daha da arttırmış ve soğanın artan tüketimini motive etmiştir. Bu tedavilerin eczacılık ürünlerinden daha az yan etkisi olduğu inancı oldukça yaygındır. Soğanın insan sağlığı üzerindeki yararlı etkileri hakkında çok sayıda araştırma olmasına rağmen, bazı yönlerinin hala araştırılması gerekir. Belki de henüz tespit edilmemiş yeni biyolojik özelliklerin yanı sıra diğer biyoaktif bileşiklerin yapısının daha derinlemesine gitmek gerekir. Etkin doz gibi yararlı etkilerini belirlemenin yanı sıra istenmeyen etkilerinden kaçınmak için en uygun hazırlama şekli gibi diğer yönleri açıklığa kavuşturulmalıdır. Diğer önemli soru sert koku ve tadı olan soğan özleri ile

ilgi sorundur. Aynı şekilde soğanın aktif bileşenlerinin ısıya duyarlılığı, kanser, diyabet vb. kardiyovasküler hastalıkları önleyici ajan olarak farklı ticari preparatların etkinliği, genellikle bu sebze pişirildikten sonra tüketildiği için, sorgulanmalıdır. Bu nedenlerden dolayı kokusuz ve tatsız bir ürün bulmak ve bu sebzenin yüksek sıcaklıklarda işlenmesi sırasında, çiğ soğanın tüm biyolojik özelliklerinin korunması için daha fazla araştırma yapılmalıdır. Bu insan sağlığı üzerinde bir tedavi ya da faydalı işlevi yerine getirmek için soğan özü veya aktif bileşikler ile işlenmiş gıdaların zenginleştirilmesini sağlayacaktır.

Örneğin soğan mevcut toplumda beslenme eksikliğini önlemek için quercetin gibi antioksidan bileşikler, FOS gibi prebiotik bileşikler veya selenyum gibi mineral besin maddeleri sağlayan fonksiyonel maddeler 'fast food' içine eklenebilir.

İşlem şartları bakımından, farelerle yapılan son çalışmalar 20 dk için 100 °C bir pişirme sıcaklığına maruz kalan soğanda kendi biyoaktif bileşenlerini (kükürt bileşikleri, lif ve selenyum ve bakır gibi gerekli iz elementleri ) antioksidan potansiyeli ve protein profilinin korunduğunu göstermiştir. Örneklerin yalnızca 40 ve 60 dk 100 °C de pişirilmesiyle antioksidanın toplam içeriğindeki azalma kayda değerdir. Benzer şekilde quercetin glikozitler sadece termal tedavi sırasında 180 °C (kavurma) gibi çok yüksek sıcaklıklarda yıkılır. Quercetin aglikonu ise daha fazla kavrulma esnasında sabit kalır. Glikozitlerin istikrarı şeker payının tür ve pozisyonuna bağlıdır [69-70].

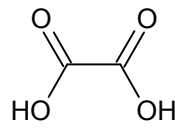
Ancak hayvanlar üzerinde uygulanan bu deneylerin sonuçları doğrudan insanlara uygulanamaz. Bu nedenle hayvanlarla yapılan sonuçların insanlarda sonuca ulaşılabilir olup olmadığını belirlemek için klinik çalışmalar gereklidir. Soğan özlerinin lezzet sorunları bu tür özlerin 'olgunlaşma' ve mikroenkapsülasyon sayesinde çözülmeye çalışılmıştır.

Yukarıda da belirtildiği gibi, mikroenkapsülasyon onların biyoaktivitesinde önemli bir kayıp anlamına gelebilir, dahası bu mide-bağırsak sorunlarının artmasına neden olabilir.

## 4. ORGANİK ASİTLER HAKKINDA GENEL BİLGİLER

### 4.1. Okzalik Asitin Biyolojik Rolü

Okzalik asit, yapısında iki karboksilik asit grubu içeren, bu karboksil yapısından dolayı en kuvvetli organik asitlerden biri olarak bilinir. Bu bileşiğin yapısı Şekil 4.1’ de görülebilir. Okzalik asit,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Fe}^{+3}$ ,  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$  ve  $\text{K}^+$  iyonlarını düşük çözünürlüğe sahip okzalat tuzları formunda bağlar.



Okzalik asit

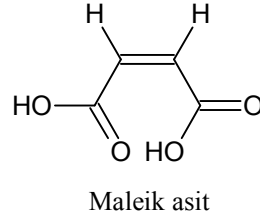
### Şekil 4.1. Okzalik asitin molekül yapısı

Bu organik bileşikler, birçok organik bileşiklerin tamamen mineralizasyonu için önemli bir ara üründürler. Örneğin, okzalik asit ve diğer karboksilik asitler, atık sulardaki benzer bileşiklerinin katalitik oksidasyonunda ara ürün olarak görev alırlar [71].

Okzalik asit ve okzalatlar birçok bitkide bolca bulunur. Yenilebilir yiyecekler, etli, zarlı, kabuksuz meyveler, çoğu sert kabuklu yemişler, karabiber, şeker pancarı, çikolata, mantar, ıspanak ve maydanoz önemli miktarda okzalik asit içerir. Okzalat  $\text{Fe}^{+2}$ ,  $\text{Fe}^{+3}$ ,  $\text{Cu}^{+2}$ ,  $\text{Al}^{+3}$  ve  $\text{Cr}^{+3}$  gibi çeşitli pozitif iyonlar için şelatlayıcı olarak davranır. Okzalat diyet kalsiyumuyla da güçlü şelat formlar oluşturur. Böylece absorpsiyon veya sindirim için bulunmayan komplekse dönüştürür. İnsanlarda kalsiyum okzalatın çökmesi böbrek taşının oluşmasına yol açabilir [72].

### 4.2. Maleik Asitin Biyolojik Rolü

Maleik asit yapısında iki karboksilik asit grubu içeren bir organik asittir. Bu bileşiğin molekül yapısı Şekil 4.2’de görülebilir. Maleik asit,  $[\text{H}_2\text{A}]$ ,  $[\text{HA}^-]$  ve  $[\text{A}^{2-}]$  formlarında bulunabilir [73].



**Şekil 4.2.** Maleik asitin molekül yapısı

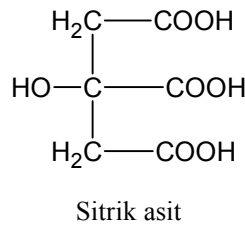
Maleik asit metal atomlarını oksijen atomu üzerinden bir dişli ve iki dişli olarak bağlar [74].

### 4.3. Sitrik Asitin Biyolojik Rolü

Sitrik asit mantar, bakteri gibi mikroorganizmalarda; hayvanlarda ve bitkilerde bulunur. Sitrik asit trikarboksilik asit dönüşümü sayesinde enerji üretiminde yer alır. Mevcut sitrik asitin %99'u bazı bakteri ve mantarların fermantasyonuyla üretilir. *Aspergillus niger*, *A.wentii*, *A. Clavatus*, *Penicillium citrium* ve *Mucor piriformis*, sitrik asit üretimi için kullanılan tipik mikroorganizmalardır [75].

Sitrik asit fermantasyonu en büyük biyoteknoloji endüstrilerinden biridir. Sitrik asit birçok endüstri alanında kullanılır. Tahminlere göre sitrik asit üretimi  $7 \times 10^5$  ton/yıldır [76].

Sitrik asit, 2-hidroksipropan-1,2,3-trikarboksilat, ilk olarak Carly Scheele tarafından 1784 yılında limon suyundan izole edilmiştir. Sitrik asit üç karboksilik asit gruplu molekül ağırlığı 210,14 g/mol olan bir organik asittir.  $pH = 3,1; 4,7; 6,4$  değerlerinde üç tane  $pK_a$  değerlerine sahiptir. Sitrik asit, meyve sularında ve yiyecek endüstrisinde yiyecekleri koruyucu olarak kullanılır [77].



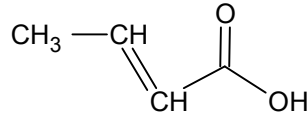
**Şekil 4.3.** Sitrik asitin molekül yapısı



Sitrik asit, doğada sıklıkla rastlanan bir organik asit tipidir. Örneğin, limonda bol miktarda sitrik asit bulunmaktadır. Sitrik asit, maya gelişimini yavaşlatma özelliğine sahiptir. Ayrıca, ortamdaki mikroorganizmalar tarafından kolaylıkla laktik asite veya asetik asite dönüştürülebildiği için ortamdaki miktarı büyük önem taşımaktadır [78].

#### 4.4. Krotonik Asitin Biyolojik Rolü

Krotonik asitin güçlü herbisital (ot öldürücü) özelliğinden dolayı, bitki tohumlarının krotonik asitle muamele edilmesi önerilir. Bu sayede diğer bitkiler yok olarak sadece istenen bitkinin çıkmasına izin verilir. Krotonik asitin birçok bitki için bitki toksini olduğu rapor edilmiştir [79]. Krotonik asit toksisiteleri iyi bilinen Pb (II), Cd (II) ve Hg (II) ağır metalleri ile kompleks oluşturur [80].



**Şekil 4.4.** Krotonik asitin molekül yapısı

**Tablo 4.1.** Çalışılan asitlerle ilgili genel bilgiler

Organik asitler ve kullanılan tampon çözelti	Molekül kütlesi	Molekül formülü	Ka sabitleri
Okzalik asit	126,07g/mol	(COOH) <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	Ka <sub>1</sub> = 5,60 × 10 <sup>-2</sup> Ka <sub>2</sub> = 5,42 × 10 <sup>-5</sup>
Maleik asit	116,07g/mol	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	Ka <sub>1</sub> = 1,30 × 10 <sup>-2</sup> Ka <sub>2</sub> = 5,90 × 10 <sup>-7</sup>
Sitrik asit	210,14g/mol	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub> .2H <sub>2</sub> O	Ka <sub>1</sub> = 7,45 × 10 <sup>-4</sup> Ka <sub>2</sub> = 1,73 × 10 <sup>-5</sup> Ka <sub>3</sub> = 4,02 × 10 <sup>-7</sup>
Krotonik asit	86,09g/mol	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	Ka <sub>1</sub> = 2,04 × 10 <sup>-5</sup>

## 5. ÖRNEKLERİN EKSTRAKSİYONU ve ANALİZ METODU

### 5.1. Örneklerin Ekstraksiyonu

Analizi yapılacak örneklerden analitin çözeltiliye alınması için uygun çözücülerle ekstraksiyonu gereklidir. Kimyasal analizi yapılacak plazma, serum, idrar, bitki özleri gibi biyolojik; su, toprak, hava gibi çevresel ve gıda, farmasotik ürünler gibi diğer numuneler, genellikle aranan madde dışında birçok bileşenin yer aldığı karışık bir matriks içerirler. Bu nedenle örnek hazırlama; özellikle yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yardımı ile yapılan analizler öncesinde uygulanması gereken çok önemli bir basamaktır. Örnek hazırlama başlıca iki amaç için yapılmaktadır: Bunlar sırasıyla, örneklerin istenmeyen bileşenlerden temizlenmesi (clean-up) ve önderiştirilmesidir. Temizleme işlemi ile matriksten analizin yanlış sonuçlanmasına neden olabilecek, istenen maddenin tespit edilmesini engelleyebilecek veya analiz cihazlarının kirlenmesine neden olabilecek kirliliklerin uzaklaştırılması sağlanır. Analiz öncesi yapılması gereken örnek hazırlama çoğu zaman zor, pahalı ve uzun süren bir işlemdir. Bu nedenle kimyasal analiz yapan kişiler her zaman daha pratik ve basit yöntem arayışı içindedirler. Bu konuda özellikle kromatografik sistemlerle çalışan araştırmacı ve uygulayıcı ile yapılan bir anket çalışmasında, örnek hazırlama yönteminin seçiminde, numunenin özelliği başlıca etken olmakla birlikte, kolay uygulanabilir ve ucuz olmasının da önemli rol oynadığı belirlenmiştir.

### 5.2. Kromatografi ile Ayırma

Kromatografi, birden fazla bileşen içeren bir karışımın bir kolondaki hareketli bir faz (çözücü) ile sabit bir faz (dolgu maddesi) içinden geçirilmesi işlemlerini içerir. Bu teknikte en çok kullanılan çözücülerin listesi Tablo 5.1'de verilmiştir. Ayrılacak bileşenle, sabit ve hareketli fazda farklı dağılma ve tutunma özellikleri gösterdiğinden, kolonu farklı sürelerde terk ederler. Kolondaki farklı alıkonma sürelerinden faydalanılarak, kolon çıkışına bileşenlerle orantılı sinyal üreten bir dedektörün yerleştirilmesiyle, hem nitel hem de nicel analiz yapan bir metot geliştirilmiştir. Bu alanda yaygın olarak HPLC sistemleri kullanılmaktadır.

**Tablo 5.1.** Kromatografi Çözücüleri

Çözücü	Formül	Polarite İndeksi	Molar Ağırlık (g/mol)	Refrak. İndex n 20°/D	Kaynama Noktası (°C)	Buhar basınc (mbar) (20°C)	Dinamik Viskosite (mPa.s) (20°C) (40°C)		Dielektrik sabiti DK (20 veya 25 °C)	Dipol Moment (Debye)
n-Heptan	C <sub>7</sub> H <sub>16</sub>	-	100.21	1.388	98.4	48	0.40	0.33	1.9	0
n-Hekzan	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>	0.0	86.18	1.375	68.4	160	0.31	0.26	1.9	0
Sikloheksan	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub>	0.0	84.16	1.427	80.7	104	0.94	0.71	2.0	0
İzooktan	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub>	0.4	114.23	1.392	99.2	51	0.51	0.50	1.9	0
1.1.2-Triklortrifloro etan	Cl <sub>2</sub> FCCClF <sub>2</sub>	-	187.38	1.356	47.7	368	0.70	-	2.4	-
Karbon tetraklorür	CCl <sub>4</sub>	1.7	153.82	1.460	76.5	120	0.97	0.74	2.2	0
Toluen	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>3</sub>	2.3	92.14	1.496	110.6	29	0.58	0.47	2.4	0.36
Kloroform	CHCl <sub>3</sub>	4.4	119.38	1.946	61.7	210	0.56	0.47	4.8	1.01
Dikloroetan	ClCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Cl	3.7	98.97	1.445	83.4	87	0.80	0.65	10.6	1.75
Diklorometan	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	3.4	84.93	1.424	40.0	453	0.43	0.36	9.1	1.60
1-Bütanol	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> OH	3.9	74.12	1.399	117.2	6.7	2.95	1.78	17.8	1.66
Asetonitril	CH <sub>3</sub> CN	6.2	41.05	1.344	81.6	97	0.39	-	37.5	3.44
2-Propanol	CH <sub>3</sub> CH(OH)CH <sub>3</sub>	4.3	60.10	1.378	82.4	43	2.27	1.35	18.3	1.66
Etil asetat	CH <sub>3</sub> COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	4.3	88.10	1.372	77.1	97	0.44	0.36	6.0	1.78
Asetonitril	CH <sub>3</sub> COCH <sub>3</sub>	5.4	58.08	1.359	56.2	233	0.32	0.27	20.7	2.70
Etanol	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	5.2	46.07	1.361	78.5	59	1.20	0.83	24.3	1.70
1.4-Diokzan	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	4.8	88.11	1.422	101.0	41	1.21	0.92	2.2	0.40
Tetrahydro furan	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O	4.2	72.11	1.405	66.0	200	0.47	0.38	7.4	1.63
Metanol	CH <sub>3</sub> OH	6.6	32.04	1.329	65.0	128	0.52	0.45	32.6	1.70
Su	H <sub>2</sub> O	9.0	18.01	1.333	100.0	23	0.95	0.65	80.6	1.85

**Kaynak:** Anonim; Merck Laboratuar El Kitabı, 48, Ankara, 2007.

### 5.2.1. Kromatografide Sınıflandırma

Kromatografik ayırım; bir örnek içindeki maddelerin bir hareketli ve bir sabit faz arasında dağılımlarına bağlı olarak, ayırma ve ayrıldıkları ortamı farklı zamanlarda terk etmelerini esas alarak, kalitatif ve kantitatif analiz yapılmasına olanak sağlayan yöntemdir. Ayırma ortamını terk eden maddeler, dedektörde bir elektronik sinyal oluşmasına neden olur. Bu sinyaller kromatogram olarak adlandırılırlar.

Kromatografi farklı şekillerde sınıflandırılmaktadır:

- Kromatografik ortamın fiziksel şekline göre
- Örneğin ortama verilmiş biçimine göre
- Kromatografik ayırım mekanizmasına göre
- İki fazın polarlık durumuna göre

- İki fazın fiziksel durumuna göre

### **5.2.1.5. İki Fazın Fiziksel Şekline Göre Sınıflandırma**

Bu sınıflandırmaya göre, kromatografik yöntemler önce hareketli faza göre gaz kromatografi ve sıvı kromatografi olarak ikiye ayrılır. Daha sonra da her biri tekrar bu kez de sabit faza göre sınıflandırılabilirler. Gaz kromatografi, gaz-sıvı ve gaz-katı olarak ikiye; sıvı kromatografi ise sıvı-sıvı, sıvı-katı, iyon değişirme ve moleküler elek olmak üzere gruplara ayırmak mümkündür. Kromatografi pratikte klasik olarak şu sınıflara ayrılır:

1. Kağıt kromatografi
2. İnce tabaka kromatografi
3. Kolon kromatografi
4. Gaz-sıvı kromatografi
5. Yüksek basınç sıvı kromatografi

### **5.2.2. Sıvı Kromatografi**

#### **5.2.2.1. Sıvı Kromatografinin Sınıflandırılması**

Öncelikle ayırma yöntemlerinin sınıflandırılması daha yararlı olacaktır. Bu amaçla ilk akla gelen ayırma yöntemi fiziksel sınıflandırmadır.

- Filtrasyon
- Sedimentasyon
- Tanecik elektroforez
- Elektrostatik çöktürme
- Flotasyon
- Eleme

## **Denge ve Hız Ayırımı:**

### **Denge ayırımı;**

#### **1.Gaz-sıvı**

- Destilasyon
- Gaz-sıvı kromatografi
- Köpük fraksiyonlama

#### **2. Gaz-katı**

- Adsorpsiyon
- Süblimasyon
- Moleküler elek

#### **3. Sıvı-sıvı**

- Ekstraksiyon
- Sıvı-sıvı kromatografi
- Dışarılama kromatografisi

#### **4. Sıvı-katı**

- Çöktürme
- Bölgesel eritme
  - Seçimli kristallendirme
  - İyon değişim
  - Adsorpsiyon
  - Dışarılama
  - Molaküler elek

## Hız Olaylarına Göre Ayırım;

### 1. Engel ayırımı

- Membran Filtrasyon
- Diyaliz
- Ultrafiltrasyon
- Elektrodializ
- Elektroosmoz
- Ters osmoz
- Gaz difüzyon

### 2. Bölgesel ayırım

- Elektroforez
- Ultrasantrifüj
- Termal difüzyon
- Elektrotta birikme
- Kütle spektrometrik ayırım

### 3. Diğerleri

- Moleküler Destilasyon
- Enzimatik bozunma
- Bozulma Destilasyon

Bu ayırma yöntemlerine gün geçtikçe yenileri eklenmektedir. Hareketli faz türüne göre kromatografi:

- ✓ Gaz kromatografi
- ✓ Sıvı kromatografi

olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Sıvı kromatografide hareketli faz sıvıdır. Sıvı kromatografide sabit fazın fizikokimyasal özelliklerine göre sıvı-sıvı ve sıvı-katı

olmak üzere ikiye ayrılır. Ancak pratikte bu sınıflandırma yerine aşağıdaki sınıflandırma kullanılır:

- ✓ Adsorpsiyon kromatografi (Normal ve Ters Kromatografi)
- ✓ Sıvı-sıvı partisyon kromatografi
- ✓ İyon kromatografi
- ✓ Jel kromatografi

Adsorpsiyon kromatografide sabit faz silika ( $\text{SiO}_2$ ), alumina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), zirkonia ( $\text{ZrO}_2$ ) gibi oksitler veya bunların üzerine çeşitli fonksiyonel grupların (CN,  $\text{NH}_2$ , R, Ar ) bağlanması ile elde edilmiş katı fazlardır. Sıvı hareketli faz ise n-heptan, n-hegzan, gibi apolar çözücüler veya başta su olmak üzere asetonitril, metanol, etanol gibi polar sıvılardır. Bunların belli oranlarının karışımı da hareketli faz olarak kullanılabilir. Sabit fazın polar, hareketli fazın apolar olması halinde Adsorpsiyon kromatografiye NORMAL FAZ KROMATOĞRAFİ; sabit fazın apolar, hareketli fazın polar olduğu kromatografiye TERS FAZ KROMATOĞRAFİ denir. Normal fazda alumina, silika, SiCN gibi polar katılar kullanılır. Normal faz ile ters faz kromatografisi arasındaki en büyük fark, ters faz kromatografide hareketli faz içinde su kullanılmasıdır. Şart olmamakla beraber, bol ve ucuz olan suyun kullanılması kromatografiye gerçekten büyük avantajlar sağlamaktadır.

Sıvı-sıvı kromatografide sabit faz bir katı üzerine emdirilmiş olarak kullanılan sıvıdır. Ancak bu tür kromatografi son zamanlarda önemini yitirmiştir. Bunun en büyük nedeni sabit sıvı fazın, çözünürlüğü nedeniyle, hareketli faz tarafından sürüklenip götürülmesidir. Kolon performansı sürekli değişeceği için bu durum istenmez.

İyon kromatografide sabit faz genellikle bir iyon değiştiricidir. İyon değiştirici ya bir reçine ya da iyon değiştirme özelliği olan  $\text{Al}_2\text{O}_3$  gibi amfoterik oksitler olabilir. Hareketli faz belirli iyon şiddetinde ve pH'da sulu çözeltidir. Ayırımı ve tayini yapılan maddeler anyonlar, katyonlar veya türevlendirmeye iyonik hale getirilebilen maddelerdir. Jel kromatografide maddelerin molekül büyüklüklerine ayırımı sağlanır. Moleküler elek gibi gözenekli katılar sabit faz olarak kullanılır. Hareketli

faz çeşitli çözücüler veya çözeltiler olabilir. Bu yöntemi diğer kromatografik yöntemlerden ayıran en önemli fark, ayırma ortamını önce büyük moleküllerin terk etmesidir.

Sıvı kromatografi türleri son zamanlarda bir hayli çoğalmıştır. Aslında yine de yeni adlar altında sunulan bu yöntemleri yukarıda verilen beş sınıf içinde düşünmek mümkündür. Ancak; bu yeni, modern sıvı kromatografik yöntemleri YÜKSEK BASINÇ SIVI KROMATOĞRAFİ veya YÜKSEK PERFORMANS SIVI KROMATOĞRAFİ kapsamaktadır. Sıvı kromatografi son yıllarda yüksek basınç üreten pompaların üretilmesiyle oldukça iyi bir yol katetmiş ve nerdeyse gaz kromatografiye rakip olacak boyutlara ulaşmıştır. Hatta onun yerini alacağı iddia edilmiştir. Ama zamanla bu iki yöntemin rakip değil, birbirini tamamlayıcı nitelikte olduğu anlaşılmıştır.

Bir yüksek basınç pompası ile, rezervuardan alınan hareketli faz filtrelerden ve basınç düzenleyiciden geçtikten sonra enjeksiyon sistemine girer. Enjeksiyon sisteminden sonra ön kolon ve analitik kolondan geçen hareketli faz, dedektöre ulaşarak sistemi terk eder. Enjeksiyon bölgesinden sisteme verilen çözelti halindeki örnek, analitik kolonda ayrımı yapıldıktan sonra dedektöre ulaşır. Dedektör, örnek içinden ard arda gelen elektronik bir sinyal oluşturur. Bu sinyal bir potansiyometrik yazıcıda veya bilgisayarda kaydedilir. Sinyallerin şekil haline dönüştürülmesi ile kromatogram adı verilen grafik meydana gelir. Apsis zaman veya yürütücü faz hacmi olabilir. Ancak bunlar doğrudan doğruya dedektöre gelen madde miktarı veya derişimi ile orantılıdır. Kromatogramda görülen pik adı verilen yükseltelerin tepe noktalarının apsisdeki değerleri, bunların kalitatif belirlenmesinde kullanılır.

Yüksek basıncın kullanıldığı bir başka kromatografik yöntem, süper kritik akışkan kromatografi'dir. Yöntemde hareketli faz olarak kullanılan amonyak, karbondioksit gibi gazlar yüksek basınç altında sıvılaştırma konumuna getirilerek, sabit faz üzerinden geçirilir. Visköz hale getirilen hareketli faz, sıvı özelliklerine yaklaşır, gaz ve sıvı kromatografilerin ortak özellikleri ile kromatografik ayırım gerçekleşir.



### 5.2.3. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

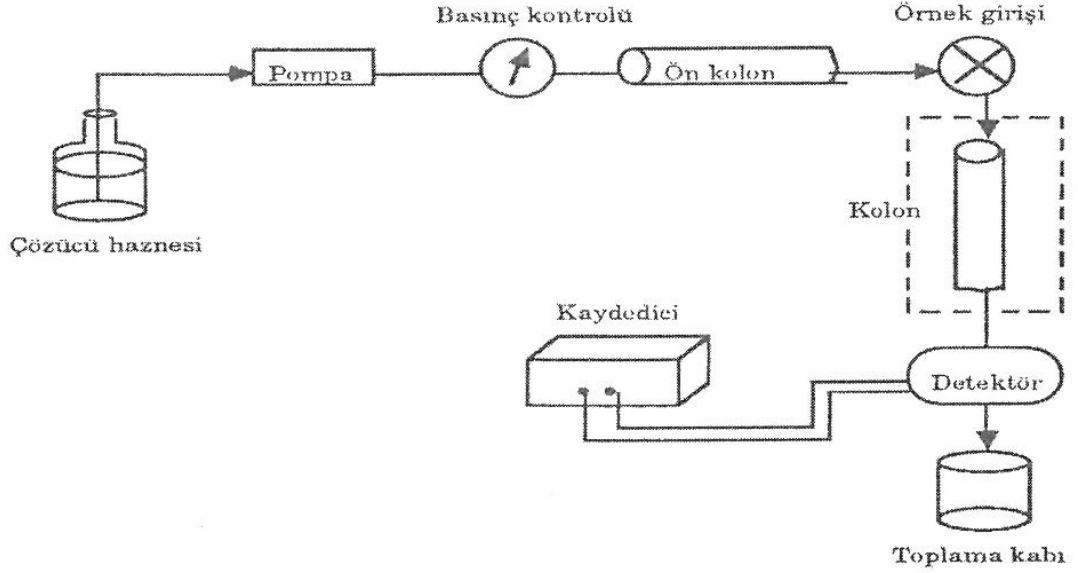
Sıvı kromatografisinde kolon verimi dolguda kullanılan taneciklerin boyutunun küçültülmesi ( normalde 100 - 250  $\mu\text{m}$ ' den 1 - 15  $\mu\text{m}$ ' ye) ile önemli derecede artmaktadır. Ancak tanecik çapı 3 - 10  $\mu\text{m}$ ' ye kadar küçük olan dolgu maddeleri 1960' lı yılların son dönemlerinde kullanılmaya başlanmıştır. Tanecik çapının, kolon çapının küçüldüğü ve yüksek basıncın uygulandığı sıvı kromatografisine yüksek performanslı sıvı kromatografisi denir. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi günümüzde en çok kullanım alanı bulan kromatografik metotlardandır.

Bunun nedenleri arasında:

- Duyarlılığın yüksek olması,
- Kantitatif tayinlerde kullanılabilmesi,
- Uçucu olmayan türlerin ve sıcaklıkla kolayca bozulabilen türlerin ayrılmasına uygun olması,
- Sanayinin, birçok bilim dalının ve halkın birinci derecede ilgilendiği maddelere geniş bir şekilde uygulanabilirliği sayılabilir. Bu maddelere örnek olarak;

Amino asitler, proteinler, nükleik asitler, hidrokarbonlar, karbonhidratlar, ilaçlar ve antibiyotikler sayılabilir.

### 5.2.3.1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi Cihazı



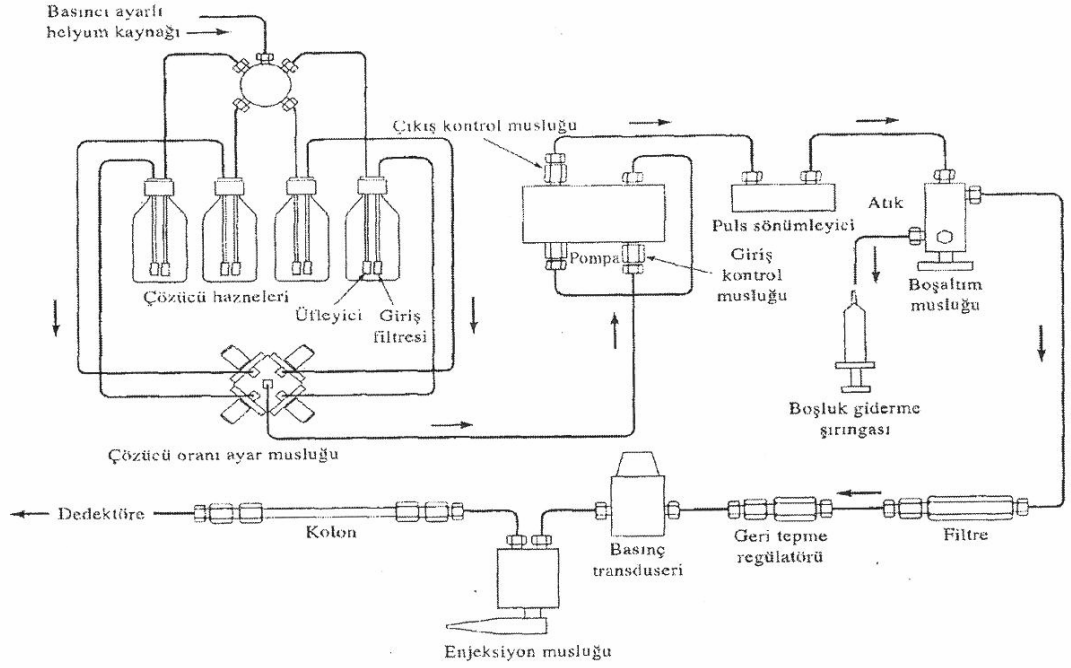
Şekil 5.1. Bir HPLC cihazı şeması

**Kaynak:** İnce M.; Yüksek Sıcaklıkta Hazırlanmış Gıdalarda Organik Kanserojen Maddelerin HPLC-MS ile Tayini, Fırat Üniversitesi, Elazığ, 2008.

Bir HPLC cihazı her biri 200-1000 mL çözücü içerebilen camdan ve çelikten yapılmış hazne içermektedir. Bu cihazlarda bu hazneler kolonda ve dedektör sisteminde gaz oluşturarak bozucu etkilere sebep olan çözünmüş gazların (genellikle oksijen ve azot) giderilmesi için bir cihazla donatılmıştır. Bu gaz kabarcıkları band genişlemesine ve çoğu zaman da dedektörün performansında bozucu etkilere sahip olabilir. Cihazda bulunan ön kolon çözücü içinde bulunabilecek toz ve partikül halindeki maddelerin pompaya veya enjeksiyon sistemine zarar vermemesi veya kolonu tıkamaması için toz ve partikül halindeki maddeleri tutar. Böylece çözücü kaybı en aza indirilmiş olur.

Sabit bileşimdeki tek bir çözücü kullanılarak yapılan ayırma izokratik elüsyon olarak adlandırılır. Genellikle ayırma etkinliği gradient elüsyonu ile artırılır. Bunun için polariteleri birbirinden çok farklı, iki ya da üç çözücü sistemi kullanılır. Elüsyon başladıktan sonra belli bir programa göre bazen sürekli olarak, bazen de seri basamaklar halinde çözücülerin oranı değiştirilir. Genellikle HPLC cihazları,

çözücülerin hacimleri oranı zamanla doğrusal olarak veya üstel olarak değiştirilebilecek nitelikte, iki veya daha fazla hazneden aldığı çözücülerini bir karıştırma odasında sürekli olarak değişen hızlarda bir araya getiren sistemlerle donatılmıştır.



Şekil 5.2. Gradient elüsyon uyumlu bir HPLC cihazının şeması

**Kaynak:** İnce M.; Yüksek Sıcaklıkta Hazırlanmış Gıdalarda Organik Kanserojen Maddelerin HPLC-MS ile Tayini, Fırat Üniversitesi, Elazığ, 2008.

### 5.2.3.1.1. Pompa Sistemleri

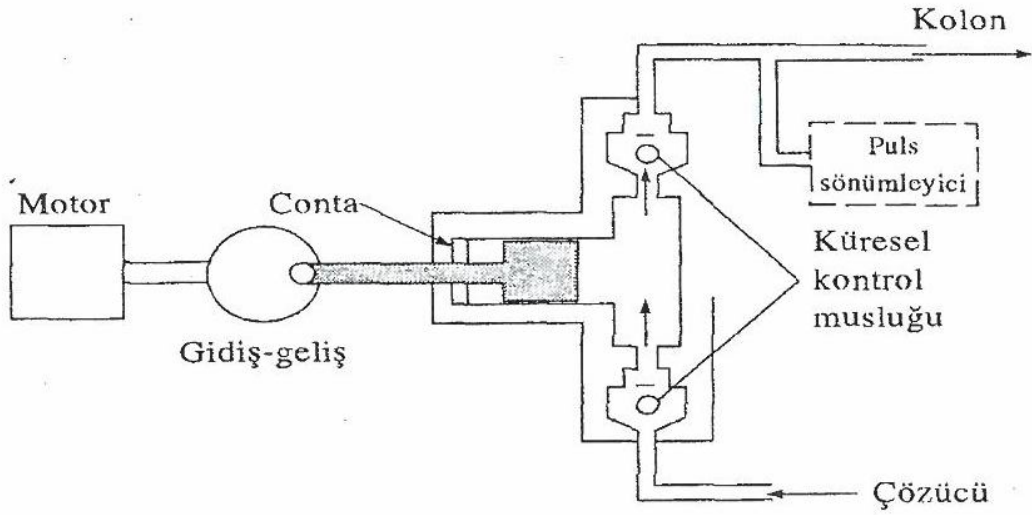
Bir HPLC pompalama sistemi için gerekli şartlar şunlardır:

- ❖ 400 atm'ye kadar basınç üretimi
- ❖ 0,1-10 mL/dk aralığında akış hızları
- ❖ %0,5 veya daha iyi bir bağıl tekrarlanabilirlikte akış kontrolü
- ❖ Korozyona dayanıklı parçalar

Sıvılar çok fazla sıkıştırılmadığından dolayı HPLC pompaları tarafından üretilen basınç bir patlama tehlikesi oluşturmaz. Böylece sistemin parçalarından herhangi

birinde meydana gelecek bir çatlak sadece çözücünün dışarı sızmasına neden olur. Ama sızıntılar bir yangın tehlikesi oluşturabilir.

**a. Pistonlu Pompalar:** HPLC sistemlerinin %90'ında pistonlu pompalar kullanılmıştır. Pistonlu pompalar genellikle motor kontrollü bir pistonun ileri ve geri hareketleriyle çözücünün pompalandığı küçük bir silindirden meydana gelmiştir. Sırasıyla açılıp kapanan iki tane küresel kontrol musluğu, çözücünün silindir içine giriş ve çıkış akışını kontrol eder. Piston çözücü ile doğrudan temas etmektedir.



**Şekil 5.3.** HPLC için bir pistonlu pompa

**Kaynak:** İnce M.; Yüksek Sıcaklıkta Hazırlanmış Gıdalarda Organik Kanserojen Maddelerin HPLC-MS ile Tayini, Fırat Üniversitesi, Elazığ, 2008.

Pistonlu pompaların üstünlükleri;

- Küçük iç hacimleri (35-400 µl)
- Yüksek çıkış basıncı (700 atm'ye kadar)
- Gradient elüsyona uygun oluşları
- Kolon geri basıncından ve çözücü viskozitesinden büyük ölçüde bağımsız olan sabit akış hızlarıdır.

**b. Sürgülü Pompalar:** Sürgülü pompalar, bir kademeli motordan güç alan vidalı güdüm mekanizması ile kontrol edilen sızdırmaz bir sürgüsü olan şırınga benzeri silindirik bir kaptan oluşur. Sürgülü pompalarda çıkış akımı pulssuzdur. Dezavantajları ise sınırlı çözücü kapasitesi (~ 250 mL) ve çözücü değiştirilmesi gerektiğinde karşılaşılan güçlüklerdir.

**c. Pnömatik Pompalar:** En basit pnömatik pompalarda sıvı hareketli, sıkıştırılmış bir gaz ile basınçlandırılabilen bir kap içine yerleştirilmiş bir kap içine konur. Pnömatik pompalarda çıkış basıncı düşüktür ve akış hızı çözücü viskozitesine ve kolon geri basıncına bağlıdır. Ayrıca pnömatik pompalar, gradient elüsyona uygun değildir. Ve basınçları genellikle 135 atm'den daha düşüktür.

#### **5.2.3.1.2. Numune Enjeksiyon Sistemleri**

Genellikle sıvı kromatografik ölçümlerinin kesinliğini numunenin kolon dolgu maddesine taşınmasının tekrarlanabilirliği belirler. Aşırı numune yüklenmiş kolonlarda görülen band genişlemesi de kesinliği etkiler. Bu yüzden kullanılan hacim oldukça küçük olmalıdır. Ayrıca sistemin basıncı düşürülmeden numunenin sisteme girişi sağlanmalıdır.

#### **5.2.3.1.3. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi Kolonları**

Sıvı kromatografisi kolonları normal olarak düzgün iç çaplı paslanmaz çelik borulardan yapılır. Fakat bazen de kalın cidarlı cam borular da kullanılır.

**a. Analitik Kolonlar (Kolon):** Sıvı kromatografisi kolonlarının çoğunun boyu 10-30 cm, iç çapı 4-10 mm ve kolon dolgu maddesinin büyüklüğü 5-10 µm arasındadır. Normalde kolonlar düzgündür. Ve gerektiği yerlerde kolonların birbirine eklenmesiyle kolonun boyu arttırılabilir.

Son yıllarda daha küçük boyutlarda yüksek hızlı ve yüksek performanslı kolonlar üretilmektedir. Bu kolonların iç çapı 1-4,6 mm, tanecik büyüklüğü 3-5 µm ve boyu 3-7,5 cm arasındadır. Bu kolonlarda çözücü sarfiyatı minimumdur.

**b. Emniyet Kolonları (Ön Kolon):** Analitik kolonun ömrünü arttırmak için analitik kolondan önce kısa kolon yerleştirilir. Bu kolonun görevi partikül halindeki

maddeleri, çözücü içindeki yabancı maddeleri tutmak, numune içinde bulunan ve durgun fazda tersinmez olarak bağlanan bileşenleri tutmaktır. Ayrıca hareketli fazı durgun faz ile doyurarak analitik kolondaki çözücü kaybını en aza indirmektedir.

#### **5.2.3.1.3.1. Kolon Dolgu Maddelerinin Tipleri**

Sıvı kromatografisinde iki tip kolon dolgu maddesi kullanılmaktadır. Bunlar:

a. Film dolgular

b. Gözenekli dolgular

**a. Film Dolgular:** Bunlar; küresel, gözeneksiz, çapları 30-40  $\mu\text{m}$  olan cam veya polimer taneciklerden oluşur. Bu taneciklerin yüzeyine silis, alumina, polistiren-divinil benzen sentetik reçinesi veya bir iyon değiştirici reçineden oluşan ince gözenekli film kaplanmıştır.

**b. Gözenekli Dolgular:** Çapları 3-10  $\mu\text{m}$  arasındadır. Partiküller silis, alumina, polistiren divinil benzen sentetik reçinesi veya bir iyon değiştirici reçineden meydana gelmiştir.

#### **5.2.3.1.4. Dedektörler**

Hareketli fazdaki analit derişimine veya türüne bağlı olarak sinyal veren araçlar dedektör olarak adlandırılmaktadır.

Sıvı kromatografide çok kullanılan dedektörleri şöyle sıralayabiliriz:

- Spektrofotometrik dedektörler
- Elektrokimyasal dedektörler.
- Alevde iyonlaşma dedektörü.
- Kırılma indisi dedektörü.
- Kütle dedektörü [82].

## 6. MATERYAL ve METOT

### 6.1. Kullanılan Cihazlar ve Cam Malzemeler

Çalışmada Merck Hitachi L-600 pompaya sahip HPLC ve L-4250 UV-VIS Dedektörü ile D-2500 Kromatogram-İntegratör kullanılmıştır. Kullanılan diğer malzemeler:

- pH metre
- Elektronik terazi
- Saf su cihazı
- Santrifüj
- Değişik büyüklüklerde pipet, beher, balon joje, mezür...vb cam malzemeler

### 6.2. Kullanılan Standart Çözeltiler ve Reaktiflerin Hazırlanması

#### 6.2.1. Standart Çözeltiler

Gerekli standart çözeltiler aşağıda belirtildiği gibi stok çözeltileri hazırlanarak uygun konsantrasyonlar için seyreltilip kullanılmıştır.

**a) 1000 mg/L Okzalik Asit (Merck) Stok Çözeltisi:** 0,250 g okzalik asit tartılıp, 250 mL saf suda çözülerek hazırlandı.

**b) 1000 mg/L Krotonik Asit (Merck) Stok Çözeltisi:** 0,500 g krotonik asit tartılıp, 500 mL saf suda çözülerek hazırlandı.

**c) 1000 mg/L Maleik Asit (Merck) Stok Çözeltisi:** 0,250 g maleik asit tartılıp, 250 mL saf suda çözülerek hazırlandı.

**d) 10.000 mg/L Sitrik Asit (Carlo Erba Reagent) Stok Çözeltisi:** 2,500 g sitrik asit tartılıp, 250 mL saf suda çözülerek hazırlandı.

### **6.3. Organik Asitler İçin Optimum Koşulların Tayini**

Hazırlanan standart okzalik asit, sitrik asit, maleik asit ve krotonik asit çözeltilerinden sırasıyla  $3,98 \times 10^{-3}$  M,  $2,38 \times 10^{-3}$  M,  $5,83 \times 10^{-4}$  M ve  $4,30 \times 10^{-4}$  M, organik asit çözeltileri hazırlanarak UV spektrofotometre ile dalga boyu 1nm arayla 200-700 nm dalga boylarında bu dört asitin ayrı ayrı maksimum absorpsiyon yaptığı dalga boyları belirlendi. Her bir asit için tespit edilen maksimum absorpsiyon yaptığı dalga boyunda mobil faz akış hızı, çözücü ve çözücü karışımlarının ve mobil faz pH'nın pik alanlarına etkisi tespit edildi. Öncelikle cihazın optimum mobil faz akış hızı tespit edildi. Bütün asitler için ortak belirlenen maksimum absorpsiyon yaptığı dalga boyu ve akış hızında pH'nın pik alanlarına etkisi ve mobil fazın pik alanlarına etkisi ayrı ayrı incelendi.

#### **6.3.1. Organik Asitlerin Tayini İçin Akış Hızının Belirlenmesi**

Her bir asidin maximum absorpsiyon yaptığı dalga boylarındaki akış hızları incelendi. Bu amaçla 0,5 mL/dk - 1,4 mL/dk akış aralığında yapılan deneysel çalışmalarda elde edilen kromatogramların pik alanlarından faydalanarak en iyi mobil faz akış hızının çalışılan dört asit için 0,9 mL/dk olduğu gözlemlendi.

Bundan sonraki bütün deneysel çalışmalarda bu akış hızı miktarı kullanıldı. Mobil fazın akış hızı değişiminin pikin çıkış süresi, bileşenlerin kolonu terk etme süreleri üzerine etkili olduğu görüldü.

#### **6.3.2. Organik Asitlerin Tayini İçin pH'nın Belirlenmesi**

Bütün asitler için ortak belirlenen akış hızında pH'nın pik alanı üzerine etkisi incelendi. Bu amaçla,  $H_3PO_4 / KH_2PO_4$  tamponu üzerine  $H_3PO_4$  ve NaOH ilave ederek pH:2,00; 2,50; 3,00; 3,50; 4,00; 4,50; 5,00; 5,50 değerlerinde yapılan deneysel çalışmalarda elde edilen kromatogramların pik alanlarından faydalanarak en iyi absorpsiyon gözlemlendiği pH değerinin çalışılan dört asit için 2,70 olduğu gözlemlendi.

Bundan sonraki bütün deneysel çalışmalarda pH değeri 2,70 kullanıldı. pH değişiminin pikin çıkış süresi, bileşenlerin kolonu terk etme süreleri üzerine etkili olduğu görüldü.



### 6.3.3. Organik Asitlerin Tayini İçin Mobil Fazın Etkisinin İncelenmesi

Organik asitler üzerine mobil fazın etkisini incelemek amacıyla pH= 2.70 ( $\text{KH}_2\text{PO}_4 - \text{H}_3\text{PO}_4$ ) tamponu ile hacimce %5; %10; %15; %20 metanol, hacimce %5; %10; %15; %20 etanol, karışımları ayrı ayrı denendi. Her bir asit için maximum absorbansın gözlemlendiği dalga boyu, akış hızı ve pH değerlerinde mobil fazın değiştirilmesiyle bulunan pik alanı değerleri incelendi.

Deneysel çalışmalardan elde edilen pik alanlarına göre metanol ve etanolün karışımlarının pik alanları üzerine dikkate değer bir etkisinin olmadığı gözlemlendi. Mobil faz olarak pH= 2.70 ( $\text{KH}_2\text{PO}_4 - \text{H}_3\text{PO}_4$ ) tamponu kullanıldı.

### 6.3.4. En İyi Çözücünün Belirlenmesi

Kırmızı, sarı, ve beyaz soğan örneklerinden organik asitleri ekstrakte etmek için 0,1M; 0,05M; 0,025M; 0,0125M  $\text{H}_3\text{PO}_4$  denendi. Pik alanına göre en iyi çözücünün 0,05M  $\text{H}_3\text{PO}_4$  olduğu gözlemlendi.

**Tablo 6.1.** 0,1M, 0,05M, 0,025M, 0,0125M  $\text{H}_3\text{PO}_4$  çözülmüş sarı soğan örnekleri kullanılarak elde edilen pik alanı değerleri

Soğan türü	Çözücü derişimleri Organik asitler	$\text{H}_3\text{PO}_4$			
		0,1M	0,05M	0,025M	0,0125M
Sarı soğan	Okzalik asit	1888882	3267549	2305191	1383479
	Maleik asit	1120341	1568138	1823705	1485165
	Sitrik asit	2406691	3062908	2567532	1310732
	Krotonik asit	421846	421985	422034	421996

#### 6.4. Örneklerin Analize Hazırlanması

Sarı, kırmızı ve beyaz soğanlar rendelendi. Bunlardan yaklaşık 0,5'er gram örnekler alınarak üzerine 10 mL 0,05 M'lık  $H_3PO_4$  çözeltisi eklendi. 30 dk süreyle karıştırıldı. Süzülerek çözelti kısmından 50  $\mu$ L'lik hacimler alınıp HPLC'de analiz edildi.

0,5 g örnek



10 mL 0,05 M'lık  $H_3PO_4$  çözeltisi



30 dakika karıştırma



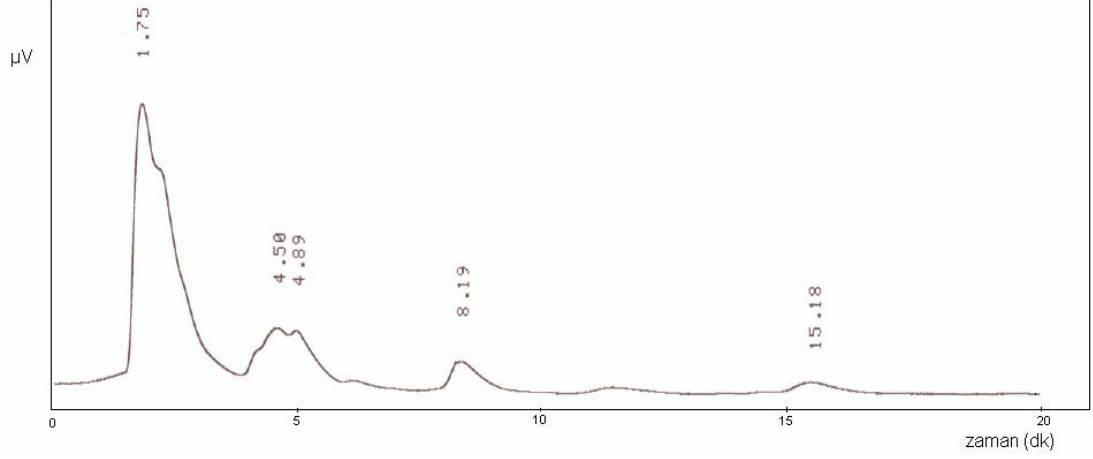
Süzülür



HPLC'de analiz edilir

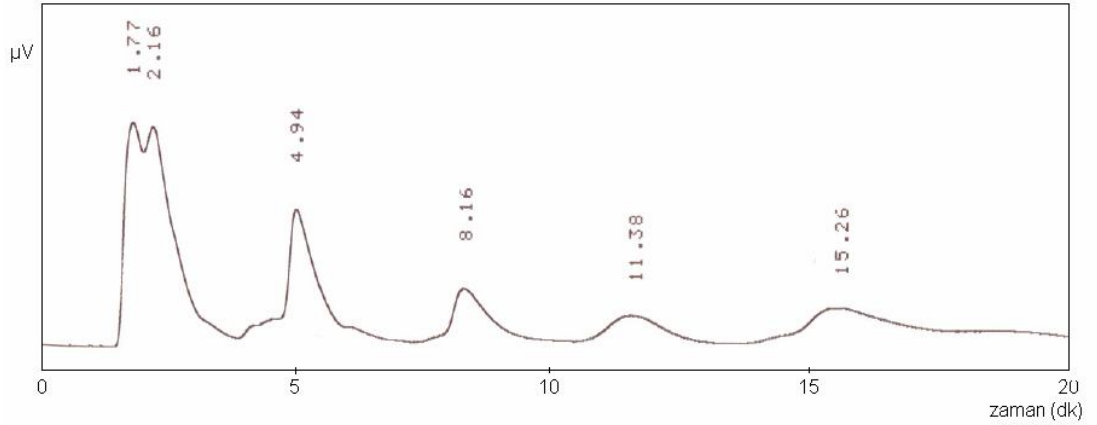
### 6.5.Optimum Koşullarda Elde Edilen Soğan Türlerine Ait Kromatogramlar

Optimum koşullarda 210 nm, 0,9 mL/dk mobil faz akış hızında, pH=2,70'de, 0,05M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>'de ekstrakte edilmiş soğan örneklerine ait kromatogramlar aşağıdaki gibidir.



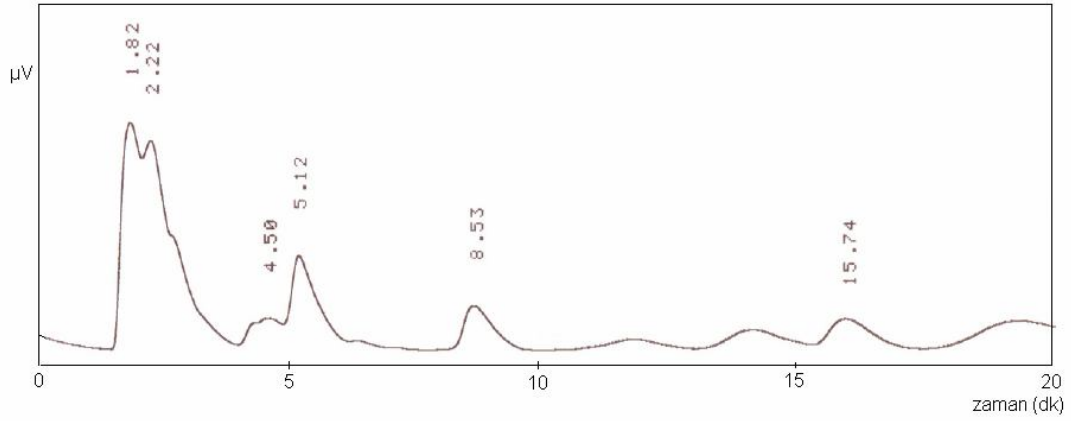
**Şekil 6.1.** 0,05M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>'de çözülmüş sarı soğana ait kromatogram

Şekil 6.1'de sarı soğan kromatogramında görüldüğü gibi 8.19 ve 15.18 dakikada tanınmayan türlere ait alıkonma sürelerine sahip olan türler diğerlerinden ayrılmıştır. 4.50 ve 4.89 dakika alıkonma süresine sahip türler birbirinden optimum şartlarda ayrılmamıştır.



**Şekil 6.2.** 0,05M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>'de çözülmüş kırmızı soğana ait kromatogram

Şekil 6.2'de kırmızı soğan kromatogramında görüldüğü gibi sarı soğan kromatogramındaki piklere ilave olarak 4.94 dakikada tanınmayan türe ait alıkonma sürelerine sahip başka bir pik elde edilmiştir.

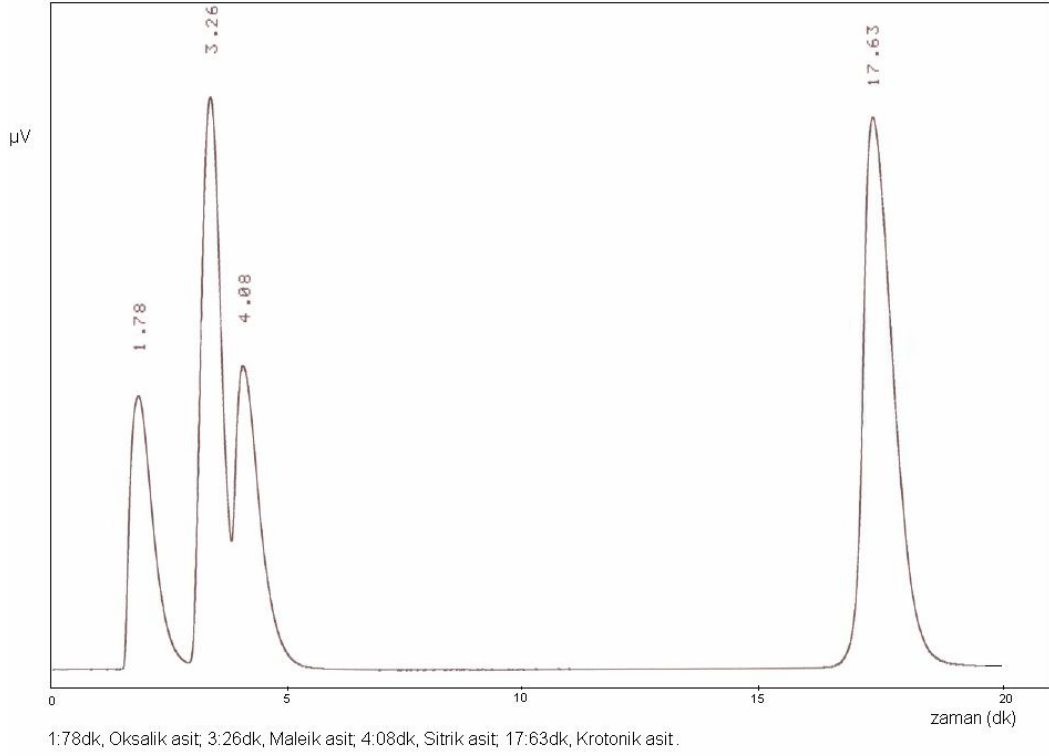


**Şekil 6.3.** 0,05M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>'de çözülmüş beyaz soğana ait kromatogram

Şekil 6.3'de beyaz soğan kromatogramında görüldüğü gibi 8.53 ve 15.74 dakikada tanımlanamayan türlere ait alıkonma sürelerine sahip olan türler diğerlerinden ayrılmıştır. 5.12 dakika alıkonma süresine sahip tanımlanamayan türün pik alanı kırmızı soğandakine göre azalmıştır.

#### **6.6. Konsantrasyon Aralığının Belirlenmesi ve Kalibrasyon Grafiğinin Çizilmesi**

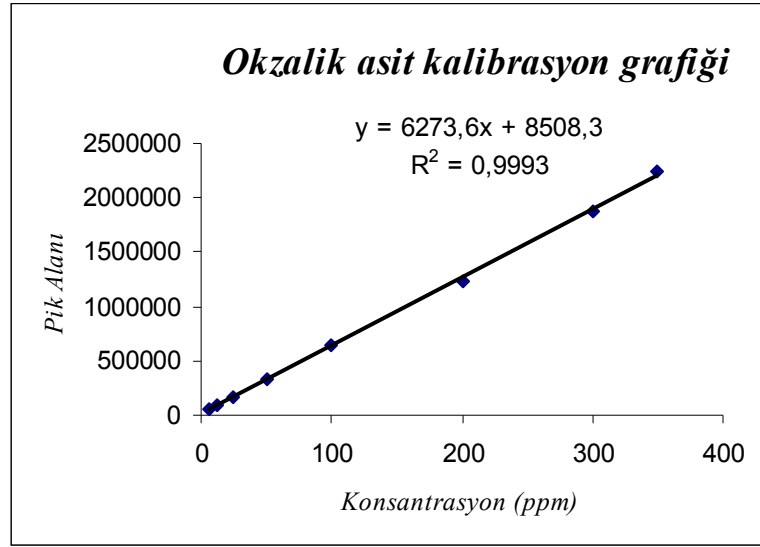
Belirlenen optimum şartlarda (dalga boyu 210 nm, pH=2,70 ve 0,90 mL/dk akış hızında) Okzalik asit için 125 ppm, Maleik asit için 25 ppm, Sitrik asit için 1250 ppm ve Krotonik asit için 25 ppm konsantrasyonları olacak şekilde hazırlanan dörtlü asit karışımına ait kromatogram Şekil 6.4'deki gibidir.



**Şekil 6.4.** Standart çözeltiye ait kromatogram

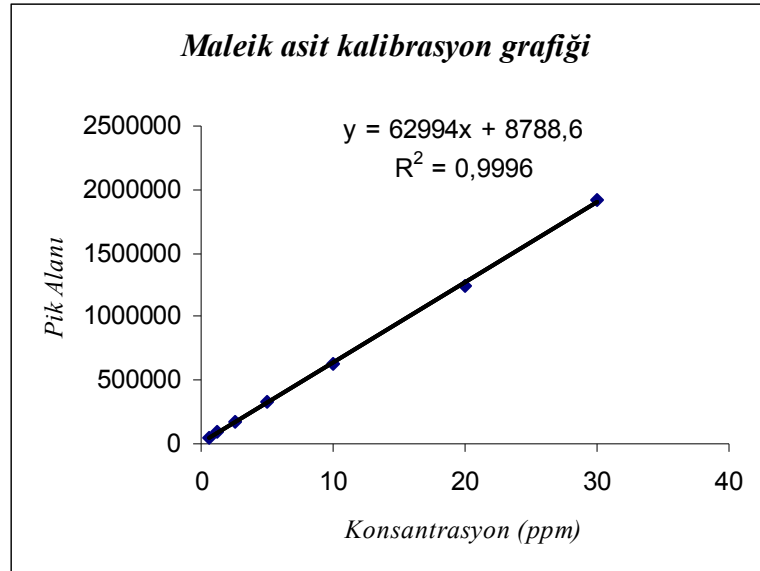
### 6.6.1. Kalibrasyon Grafiklerinin Çizilmesi

Kalibrasyon grafikleri 210 nm dalga boyu, 0,90 mL/dk mobil faz akış hızı ve pH=2,70 koşullarında bu dört asit karışımının değişik konsantrasyonlarındaki kromatogramlarından elde edildi. Bu kalibrasyon grafiklerinden yararlanılarak, soğan örneklerindeki her bir asitin konsantrasyonu hesaplandı.



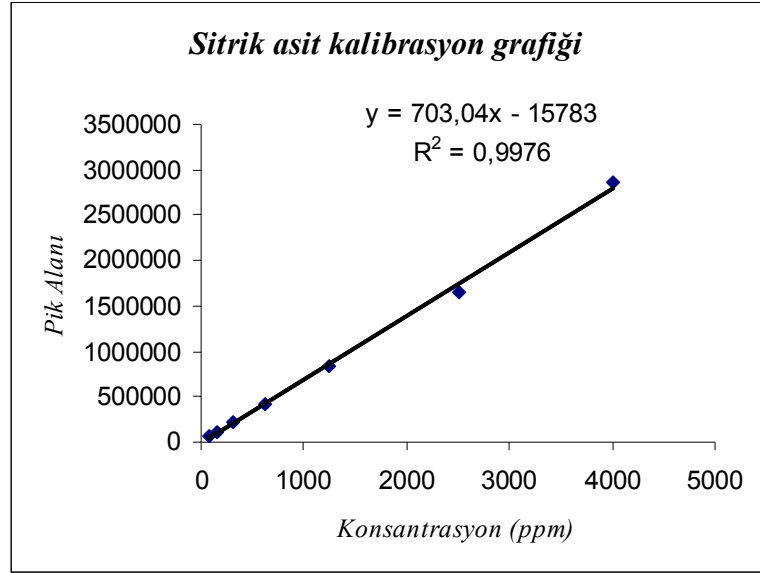
**Grafik 6.1.** 210 nm, 0,90 mL/dk, pH=2,70 çalışma koşullarında Okzalik asit için kalibrasyon grafiği

Grafik 6.1'de görüldüğü gibi okzalik asit için 6,25 – 350 mg/L aralığında doğrusal bir kalibrasyon grafiği elde edilmiştir. Kalibrasyon grafiği çiziminde pik alanları kullanılmış olup, ardışık ölçümlerde bu türe ait alıkonma süreleri arasında belirgin bir farklılık görülmemiştir.



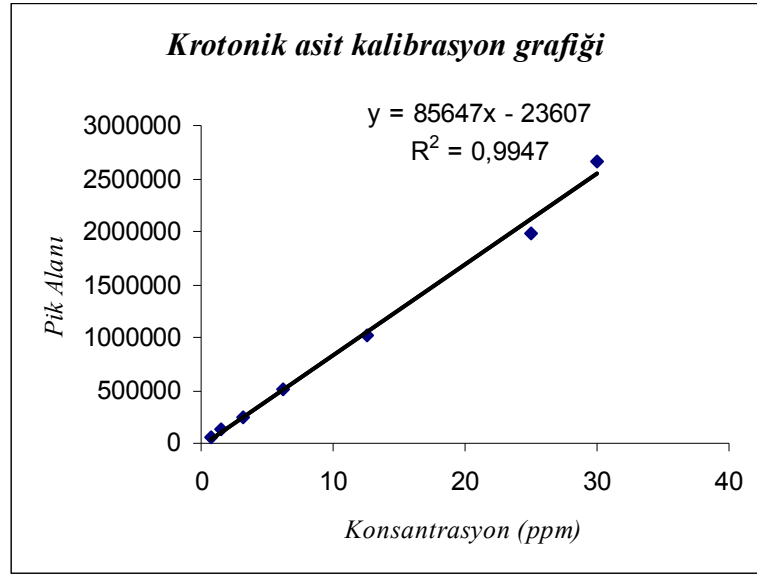
**Grafik 6.2.** 210 nm, 0,90 mL/dk, pH=2,70 çalışma koşullarında Maleik asit için kalibrasyon grafiği

Grafik 6.2’da görüldüğü gibi maleik asit için 0,63 – 30 mg/L aralığında doğrusal bir kalibrasyon grafiği elde edilmiştir. Kalibrasyon grafiği çiziminde pik alanları kullanılmış olup, ardışık ölçümlerde bu türe ait alıkonma süreleri arasında belirgin bir farklılık görülmemiştir.



**Grafik 6.3.** 210 nm, 0,90 mL/dk, pH=2,70 çalışma koşullarında Sitrik asit için kalibrasyon grafiği

Grafik 6.3’de görüldüğü gibi sitrik asit için 78 – 4000 mg/L aralığında doğrusal bir kalibrasyon grafiği elde edilmiştir. Kalibrasyon grafiği çiziminde pik alanları kullanılmış olup, ardışık ölçümlerde bu türe ait alıkonma süreleri arasında belirgin bir farklılık görülmemiştir.



**Grafik 6.4.** 210 nm, 0,90 mL/dk, pH=2,70 çalışma koşullarında Krotonik asit için kalibrasyon grafiği

Grafik 6.4’de görüldüğü gibi krotonik asit için 0,78 – 35 mg/L aralığında doğrusal bir kalibrasyon grafiği elde edilmiştir. Kalibrasyon grafiği çiziminde pik alanları kullanılmış olup, ardışık ölçümlerde bu türe ait alikonma süreleri arasında belirgin bir farklılık görülmemiştir.

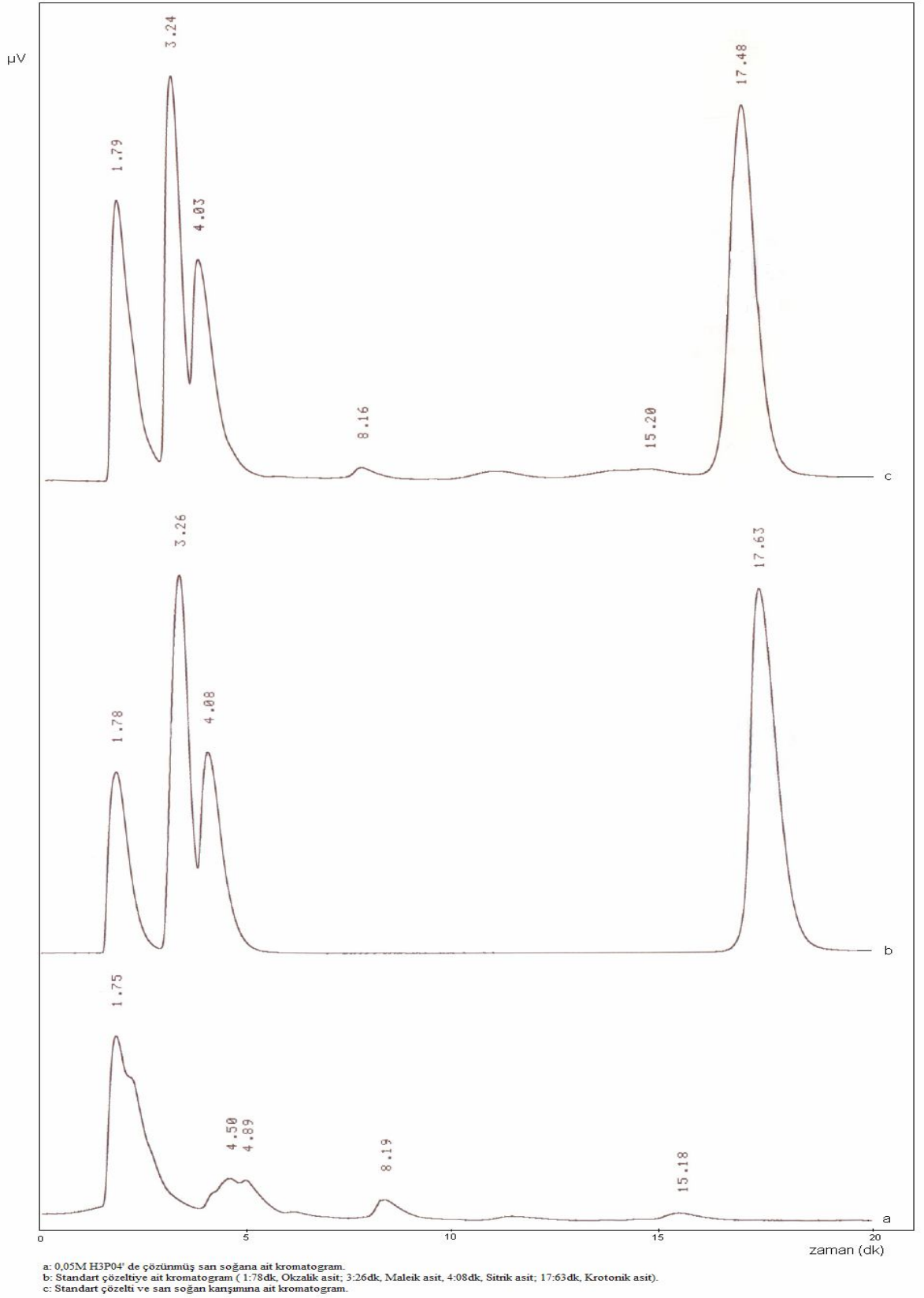
**Tablo 6.2.** Türlere ait analitik veriler

	Konsantrasyon aralığı (mg/L)	$y = mx + n$	$R^2$	LOD	LOQ
Okzalik asit	6,25 - 350	$y = 6273,6x + 8508,3$	0,9993	0,60	1,99
Maleik asit	0,63 - 30	$y = 62994x + 8788,6$	0,9996	0,03	0,09
Sitrik asit	78 - 4000	$y = 703,04x - 15783$	0,9976	6,96	23,20
Krotonik asit	0,78 - 35	$y = 85647x - 23607$	0,9947	0,16	0,53

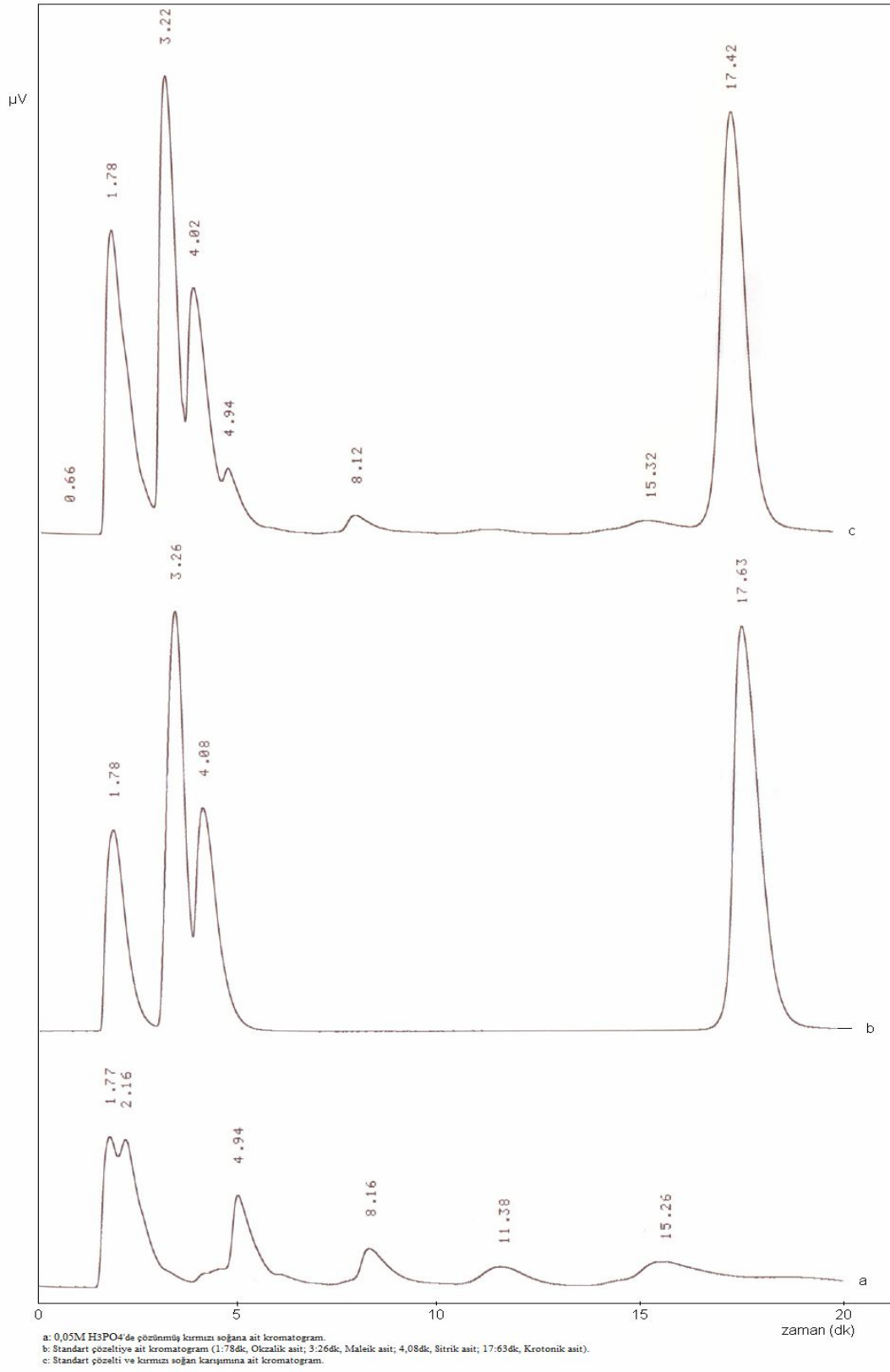
### 6.6.2. Sarı, Kırmızı ve Beyaz Soğan Ekstraktlarına Standart ozelti Eklenmesi

0,05M  $H_3PO_4$ ’de çözülmüş, sarı, kırmızı ve beyaz soğan ekstraktlarına standart ozelti (50 mg/L okzalik asit, 5 mg/L maleik asit, 625 mg/L sitrik asit, 6,25 mg/L krotonik asit) eklenerek elde edilen kromatogramların, saf soğan örneklerine ait kromatogramlarla karşılaştırılması Grafik 6.9, Grafik 6.10 ve Grafik 6.11’deki gibidir.

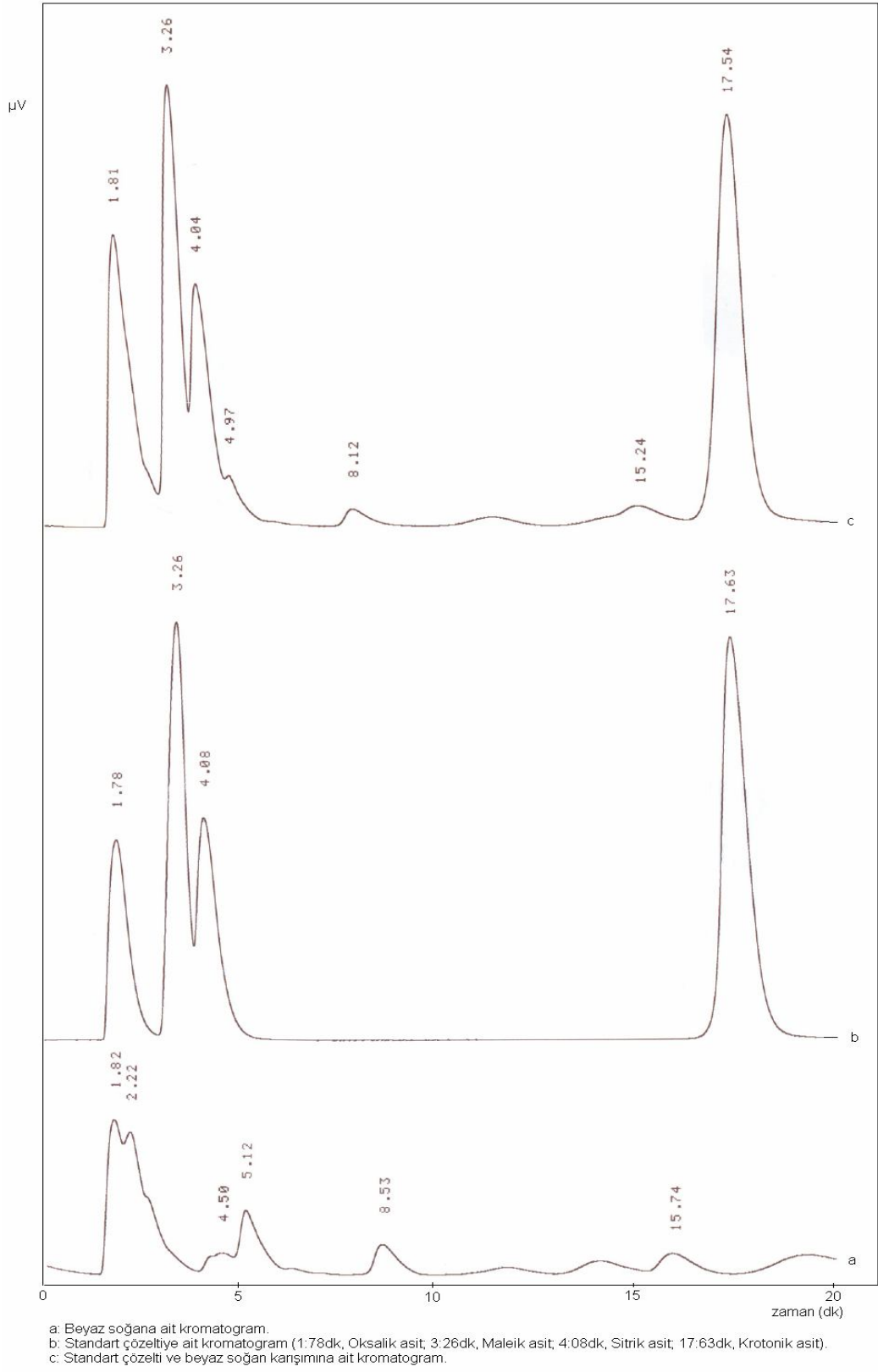




**Şekil 6.5.** Sarı soğan, standart çözelti ve sarı soğan-standart karışımına ait kromatogramların karşılaştırılması



**Şekil 6.6.** Kırmızı soğan, standart çözelti ve kırmızı soğan-standart karışımına ait kromatogramların karşılaştırılması



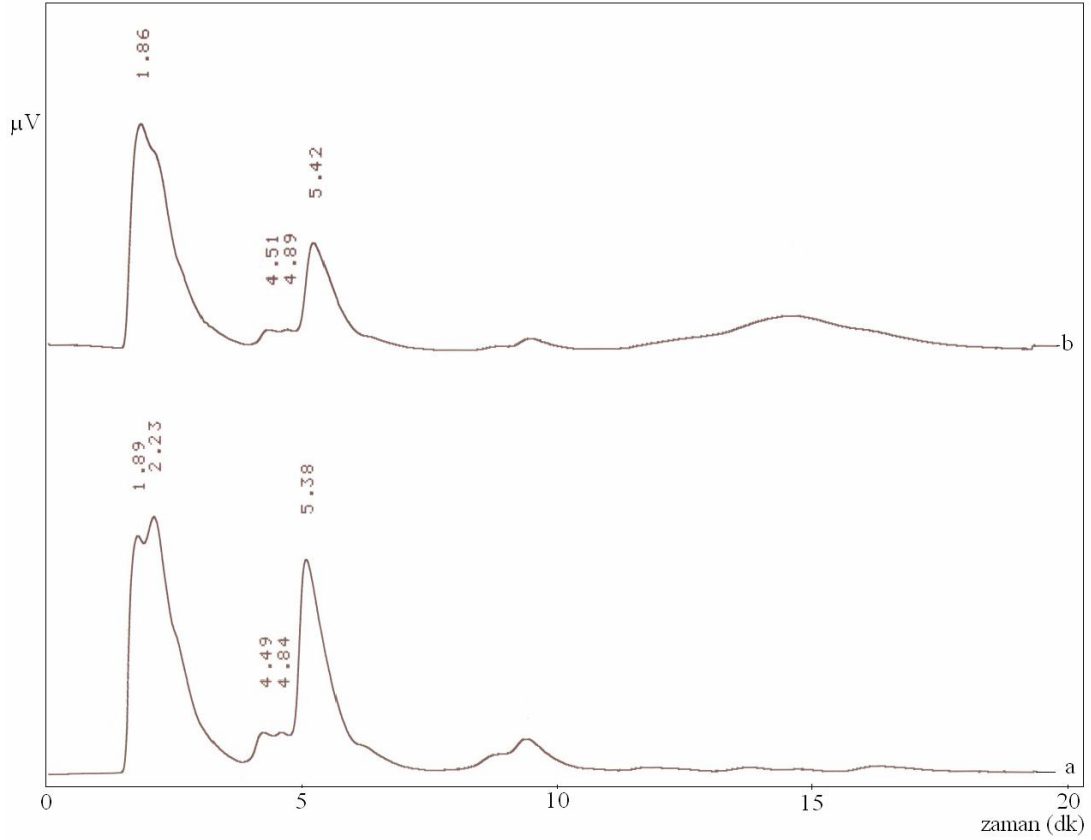
**Şekil 6.7.** Beyaz soğan, standart çözelti ve beyaz soğan-standart karışımına ait kromatogramların karşılaştırılması

### 6.7. Örnek Çözme ve Hesaplaması

Yaklaşık 0,5 g rendelenmiş soğan örnekleri 0,05 M 10 mL H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> çözeltisi eklenerek yarım saat karıştırılıp, süzüldü. Elde edilen çözeltilerden alınan 50 µL'lik çözeltiler hacimleri HPLC'ye enjekte edildi. Elde edilen kromatogramlar Şekil 6.1, Şekil 6.2 ve Şekil 6.3'teki gibidir. Sitrik asit, maleik asit, krotonik asit tayin limitlerinin altında olduğu için tayin edilememiştir. Okzalik asit için bulunan değerler. Tablo 6.3'de verilmiştir.

**Tablo 6.3.** Sarı, kırmızı ve beyaz soğanda tayin edilen okzalik asit miktarları

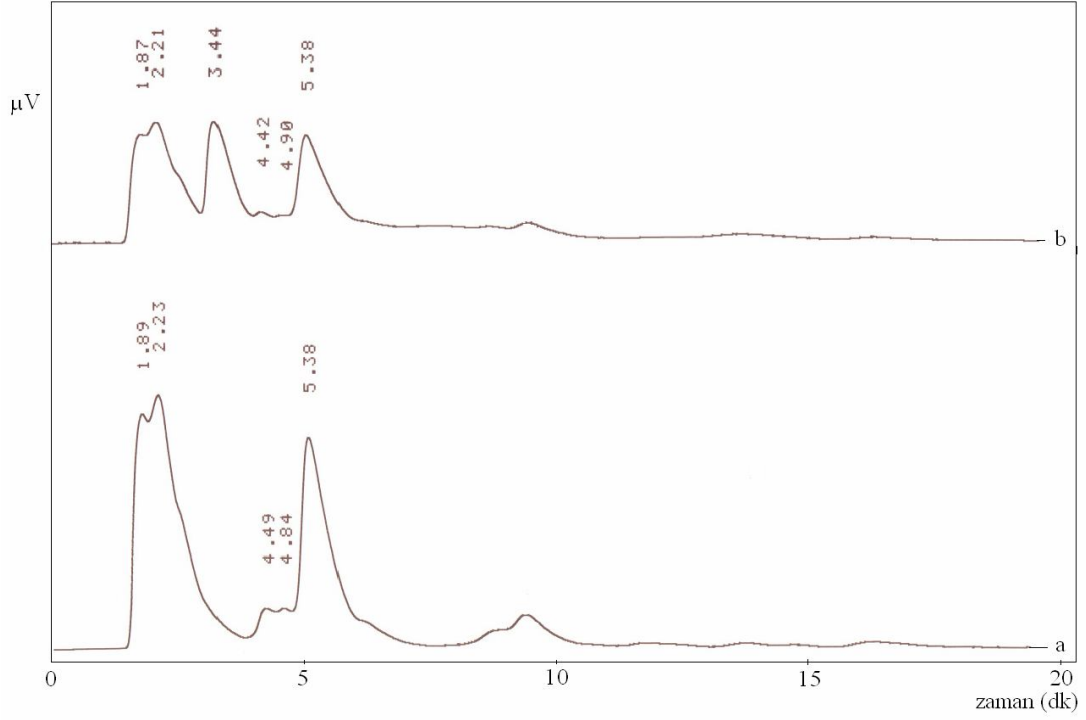
Soğan türleri Organik asit	Kırmızı soğan	Beyaz soğan	Sarı soğan
Okzalik asit (mg/Kg) (n=3)	1162,18±119,55	1260,33±7,64	3736,10±416,44



- a: Kırmızı soğana ait kromatogram.  
b: Kırmızı soğan ve 50 ppm olacak şekilde Okzalik asit eklenmiş karışıma ait kromatogram.

**Şekil 6.8.** Saf kırmızı soğan ve 50 ppm olacak şekilde Okzalik asit eklenmiş kırmızı soğan ekstraktına ait kromatogramların karşılaştırılması

Kırmızı soğan çözeltisine 50 ppm okzalik asit ilave edilince kırmızı soğan kromatogramındaki (b) 1.86 dakikadaki pik alanı okzalik asit ilavesinden dolayı yarı yarıya azalması gerekirken pik alanının yaklaşık 3 kat artığı gözlemlendi. 50 ppm okzalik asit sisteme tek başına gönderildiğinde elde edilen pik alanı ve alıkonma süresi ile standart olarak eklendiğinde (spike) elde edilen pik alanları ve alıkonma süreleri arasında bir fark yoktur. Ancak soğan örneklerinden kaynaklanan okzalik asit miktarları farklıdır.

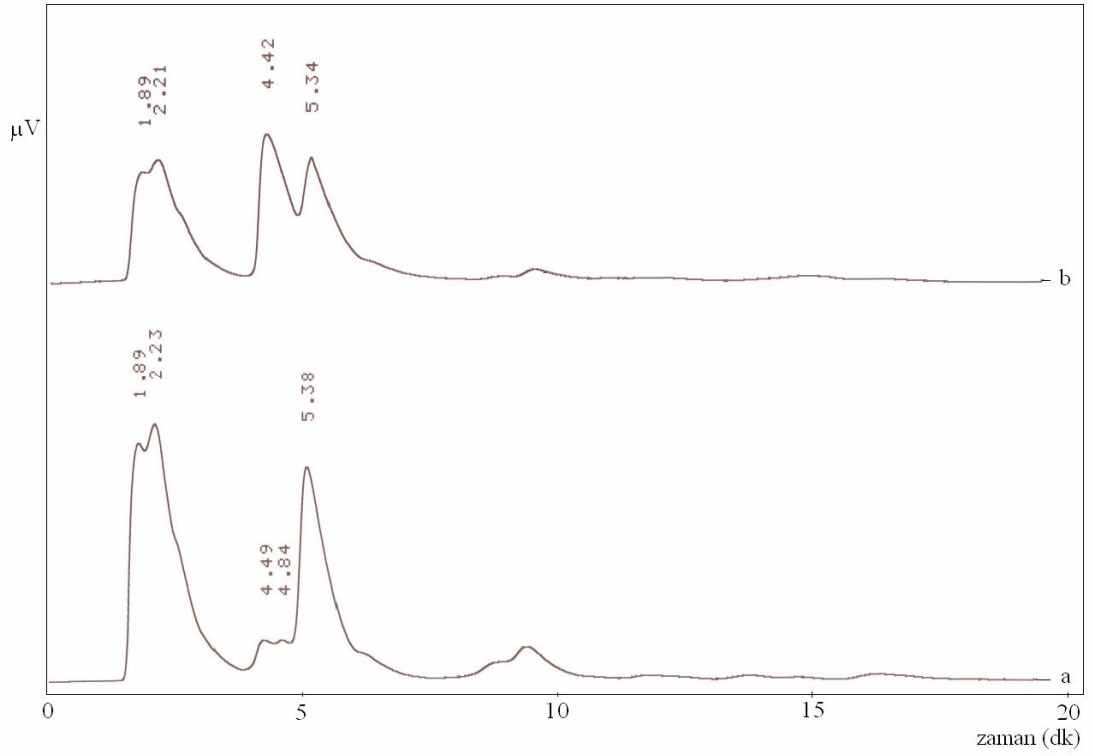


a: Kırmızı soğan aıt kromatogram.

b: Kırmızı soğan ve 5 ppm Maleik asit karışımına aıt kromatogram.

**Şekil 6.9.** Saf kırmızı soğan ve 5 ppm olacak şekilde Maleik asit eklenmiş kırmızı soğan ekstraktına aıt kromatogramların karşılaştırılması

Kırmızı soğan çözeltisine 5 ppm maleik asit ilave edilince kırmızı soğan kromatogramında (b) olmayan 3.44 dakikadaki pik gözlemlendi. Diğer piklerde bir değişiklik olmadı. 5 ppm maleik asit sisteme tek başına gönderildiğinde elde edilen pik alanı ve alıkonma süresi ile spike edildiğinde elde edilen pik alanları ve alıkonma süreleri arasında bir fark yoktur.

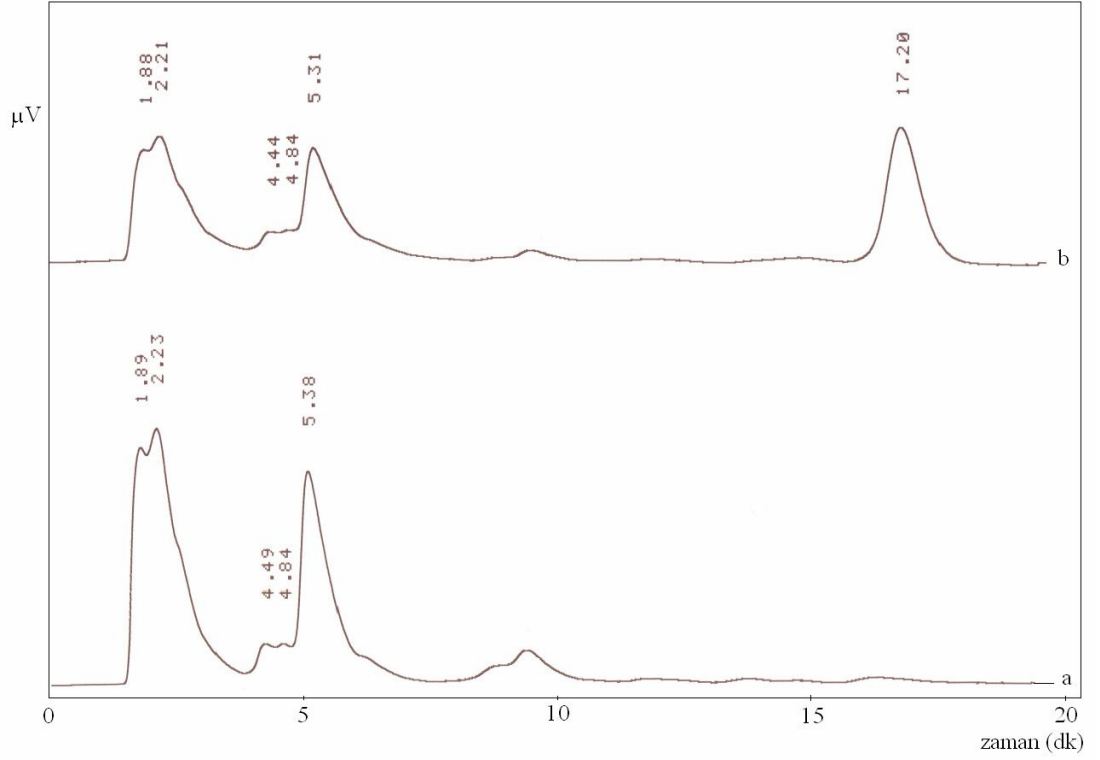


a: Kırmızı soğana ait kromatogram.

b: Kırmızı soğan ve 625 ppm Sitrik asit karışımına ait kromatogram.

**Şekil 6.10.** Saf kırmızı soğan ve 625 ppm olacak şekilde Sitrik asit eklenmiş kırmızı soğan ekstraktına ait kromatogramların karşılaştırılması

Kırmızı soğan çözeltisine 625 ppm sitrik asit ilave edilince kırmızı soğan kromatogramında (b) olmayan 4.42 dakikadaki pik gözlemlendi. Diğer piklerde bir değişiklik olmadı. 625 ppm sitrik asit sisteme tek başına gönderildiğinde elde edilen pik alanı ve alıkonma süresi ile spike edildiğinde elde edilen pik alanları ve alıkonma süreleri arasında bir fark yoktur.



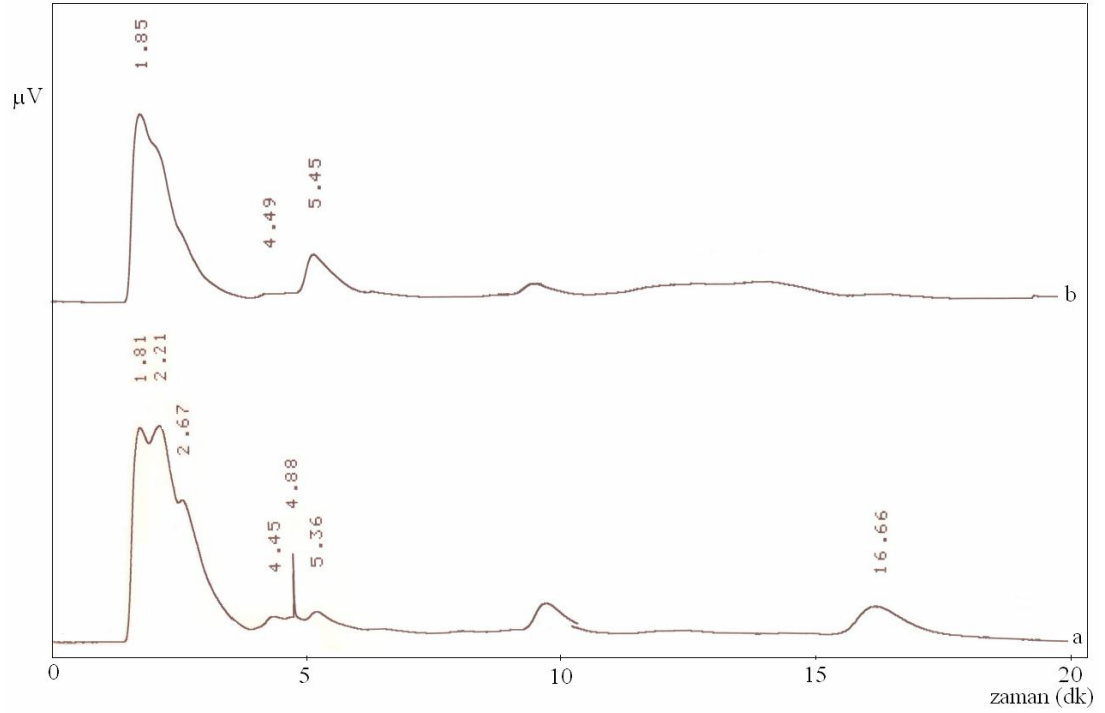
a: Kırmızı soğana ait kromatogram.

b: Kırmızı soğan ve 6,25 ppm Krotonik asit karışımına ait kromatogram.

**Şekil 6.11.** Saf kırmızı soğan ve 6,25 ppm olacak şekilde Krotonik asit eklenmiş kırmızı soğan ekstraktına ait kromatogramların karşılaştırılması

Kırmızı soğan çözeltisine 6,25 ppm krotonik asit ilave edilince sarı soğan kromatogramında (b) olmayan 17.20 dakikadaki pik gözlemlendi. Diğer piklerde bir değişiklik olmadı. 6,25 ppm krotonik asit sisteme tek başına gönderildiğinde elde edilen pik alanı ve alıkonma süresi ile spike edildiğinde elde edilen pik alanları ve alıkonma süreleri arasında bir fark yoktur.

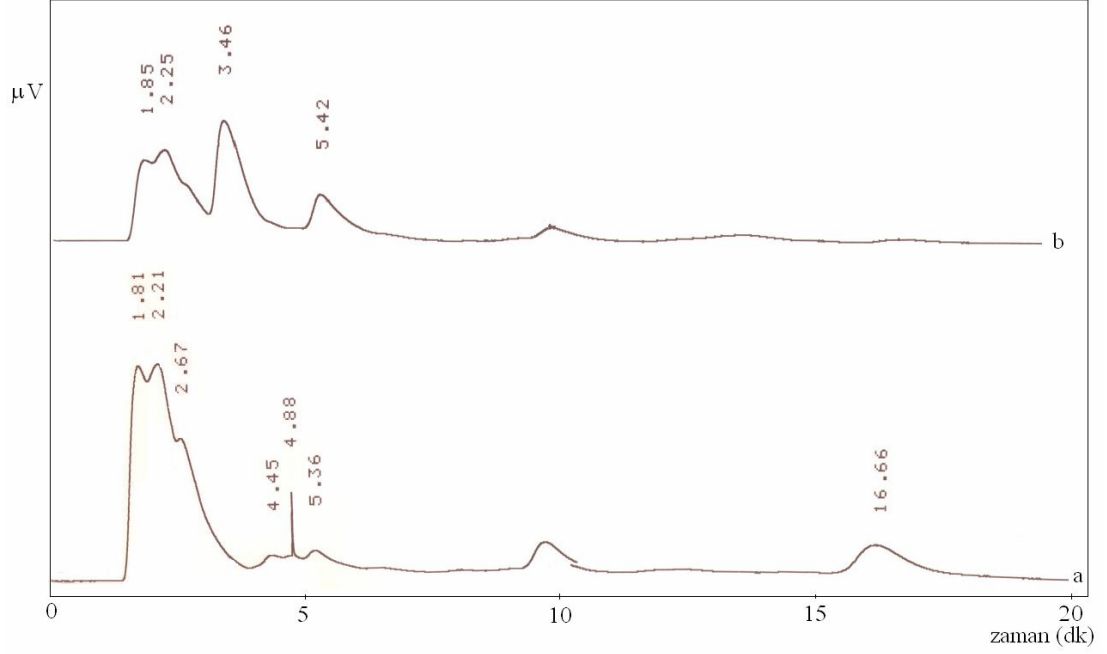




- a: Sarı soğana ait kromatogram.  
b: Sarı soğan ve 50 ppm Okzalik asit karışımına ait kromatogram.

**Şekil 6.12.** Saf sarı soğan ve 50 ppm olacak şekilde Okzalik asit eklenmiş sarı soğan ekstraktına ait kromatogramların karşılaştırılması

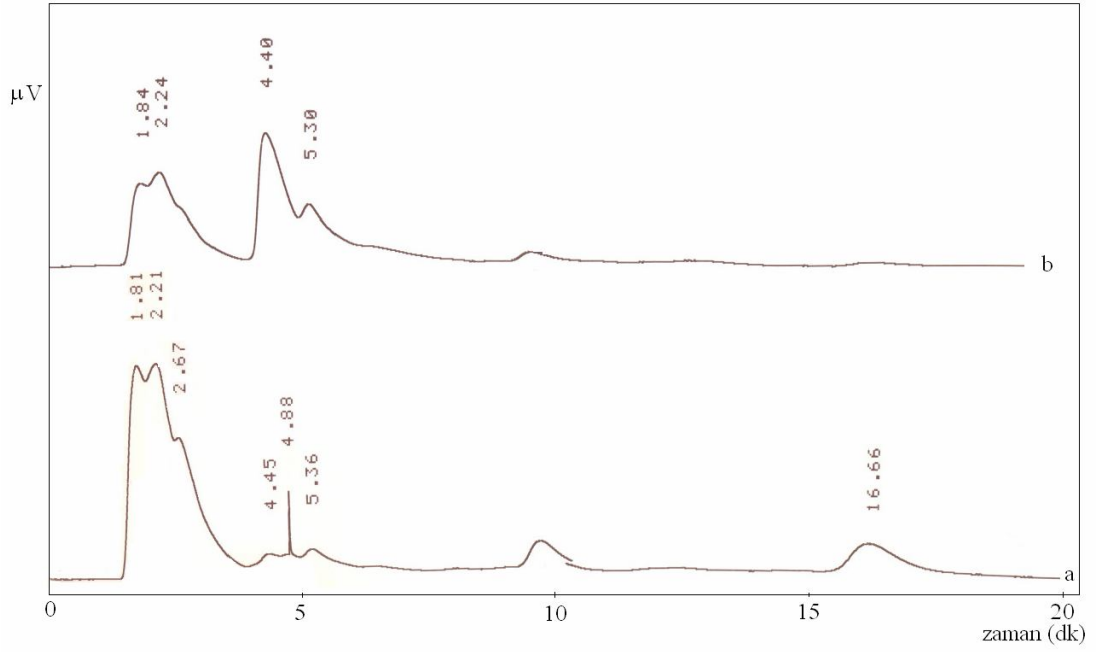
Sarı soğan çözeltisine 50 ppm okzalik asit ilave edilince sarı soğan kromatogramındaki (b) 1.81 dakikadaki pik alanı okzalik asit ilavesinden dolayı yarı yarıya azalması gerekirken pik alanının yaklaşık 5 kat arttığı gözlemlendi. 16.66 dakikadaki pik seyrelmeden dolayı görülmemektedir. 50 ppm okzalik asit sisteme tek başına gönderildiğinde elde edilen pik alanı ve alıkonma süresi ile spike edildiğinde elde edilen pik alanları ve alıkonma süreleri arasında bir fark yoktur. Ancak soğan örneklerinden kaynaklanan okzalik asit miktarları farklıdır.



- a: Sarı soğana ait kromatogram.  
b: Sarı soğan ve 5 ppm Maleik asit karışımına ait kromatogram.

**Şekil 6.13.** Saf sarı soğan ve 5 ppm olacak şekilde Maleik asit eklenmiş sarı soğan ekstraktına ait kromatogramların karşılaştırılması

Sarı soğan çözeltilisine 5 ppm maleik asit ilave edilince sarı soğan kromatogramında (b) olmayan 3.46 dakikadaki pik gözlemlendi. Diğer piklerde bir değişiklik olmadı. 5 ppm maleik asit sisteme tek başına gönderildiğinde elde edilen pik alanı ve alıkonma süresi ile spike edildiğinde elde edilen pik alanları ve alıkonma süreleri arasında bir fark yoktur.

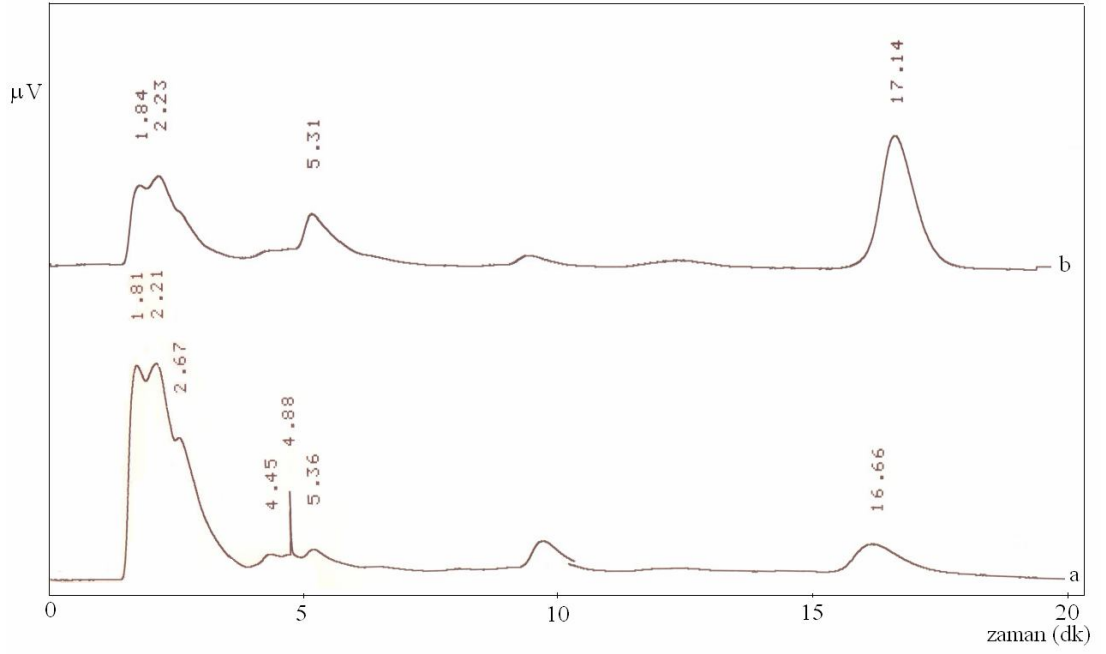


a: Sarı soğana ait kromatogram.

b: Sarı soğan ve 625 ppm Sitrik asit karışımına ait kromatogram.

**Şekil 6.14.** Saf sarı soğan ve 625 ppm olacak şekilde Sitrik asit eklenmiş sarı soğan ekstraktına ait kromatogramların karşılaştırılması

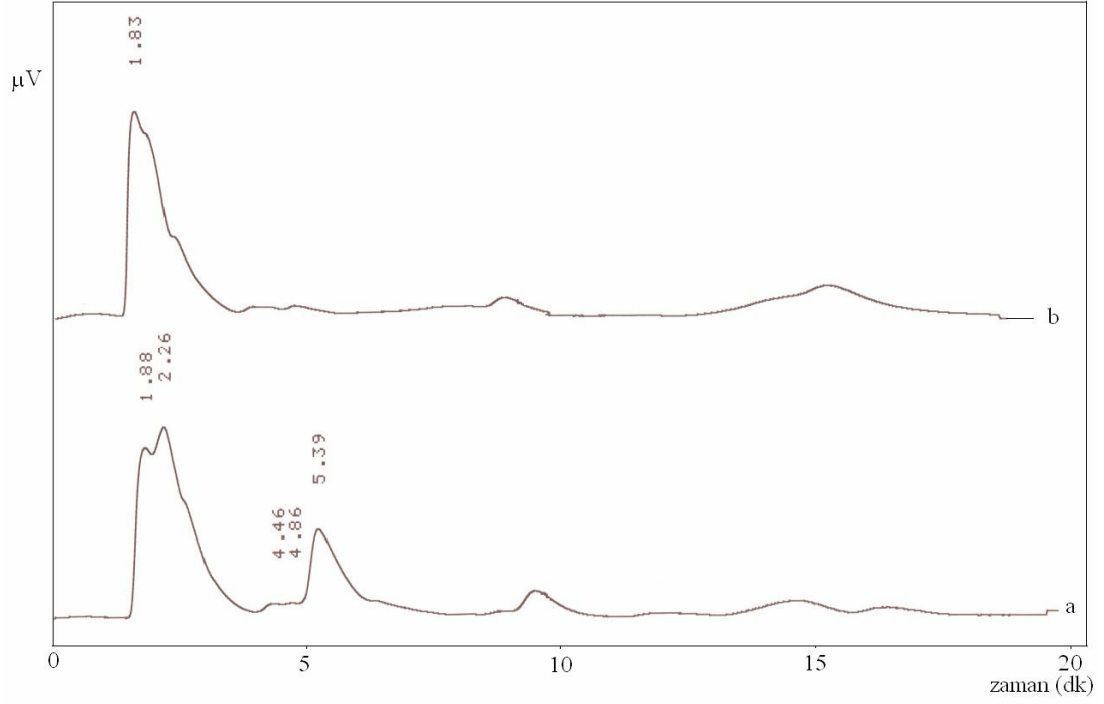
Sarı soğan çözeltisine 625 ppm sitrik asit ilave edilince sarı soğan kromatogramında (b) olmayan 4.40 dakikadaki pik gözlemlendi. Diğer piklerde bir değişiklik olmadı. 625 ppm sitrik asit sisteme tek başına gönderildiğinde elde edilen pik alanı ve alıkonma süresi ile spike edildiğinde elde edilen pik alanları ve alıkonma süreleri arasında bir fark yoktur.



- a: Sarı soğana ait kromatogram.  
b: Sarı soğan ve 6,25 ppm Krotonik asit karışımına ait kromatogram.

**Şekil 6.15.** Saf sarı soğan ve 6,25 ppm olacak şekilde Krotonik asit eklenmiş sarı soğan ekstraktına ait kromatogramların karşılaştırılması

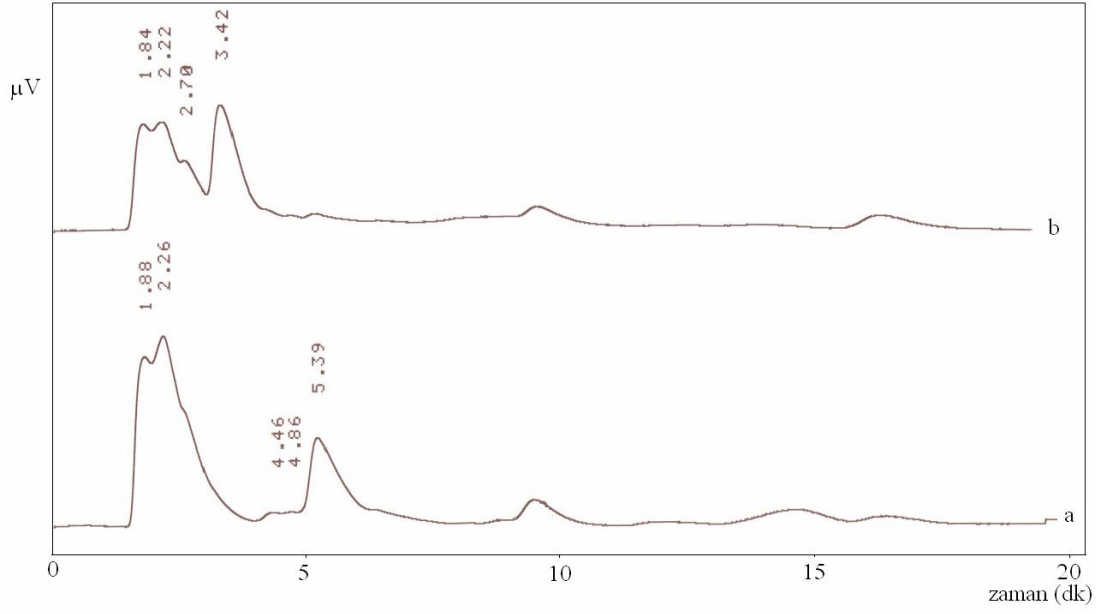
Sarı soğan çözeltilisine 6,25 ppm krotonik asit ilave edilince sarı soğan kromatogramında (b) olmayan 17.14 dakikadaki pik gözlemlendi. Diğer piklerde bir değişiklik olmadı. 6,25 ppm krotonik asit sisteme tek başına gönderildiğinde elde edilen pik alanı ve alıkonma süresi ile spike edildiğinde elde edilen pik alanları ve alıkonma süreleri arasında bir fark yoktur.



- a: Beyaz soğana ait kromatogram.  
b: Beyaz soğan ve 50ppm Okzalik asit karışımına ait kromatogram.

**Şekil 6.16.** Saf beyaz soğan ve 50 ppm olacak şekilde Okzalik asit eklenmiş beyaz soğan ekstraktına ait kromatogramların karşılaştırılması

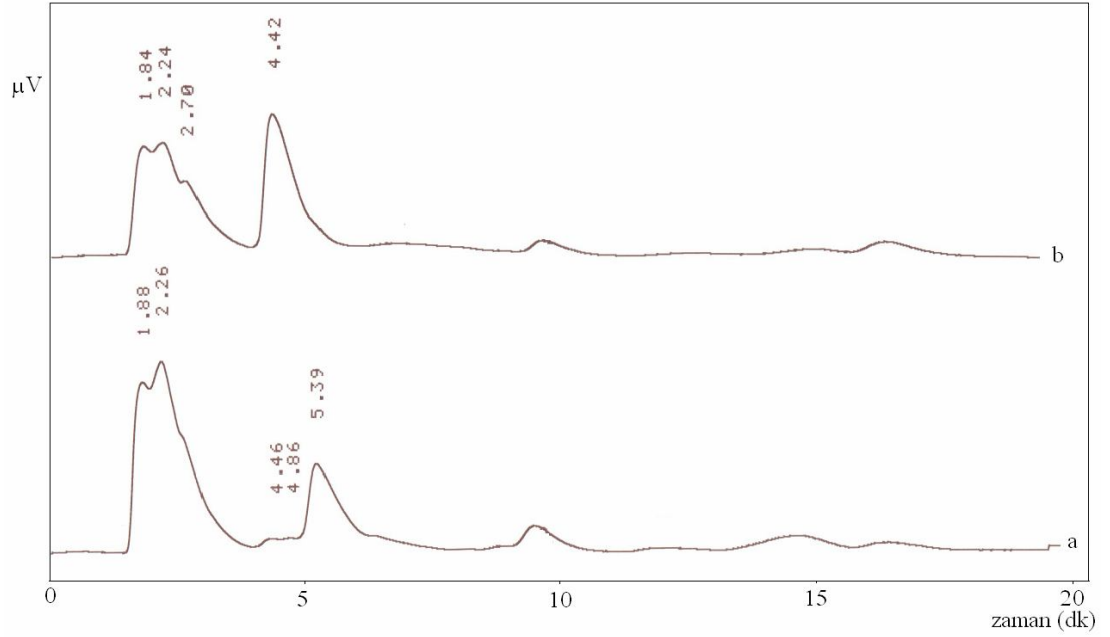
Beyaz soğan çözeltisine 50 ppm okzalik asit ilave edilince beyaz soğan kromatogramındaki (b) 1.88 dakikadaki pik alanı okzalik asit ilavesinden dolayı yarı yarıya azalması gerekirken pik alanı yaklaşık 8 kat arttığı gözlemlendi. Diğer pikler seyrelmeden dolayı görülmemektedir. 50 ppm okzalik asit sisteme tek başına gönderildiğinde elde edilen pik alanı ve alıkonma süresi ile spike edildiğinde elde edilen pik alanları ve alıkonma süreleri arasında bir fark yoktur. Ancak soğan örneklerinden kaynaklanan okzalik asit miktarları farklıdır.



- a: Beyaz soğan aıt kromatogram.  
b: Beyaz soğan ve 5ppm Maleik asit karışımına aıt kromatogram.

**Şekil 6.17.** Saf beyaz soğan ve 5 ppm olacak şekilde Maleik asit eklenmiş beyaz soğan ekstraktına aıt kromatogramların karşılaştırılması

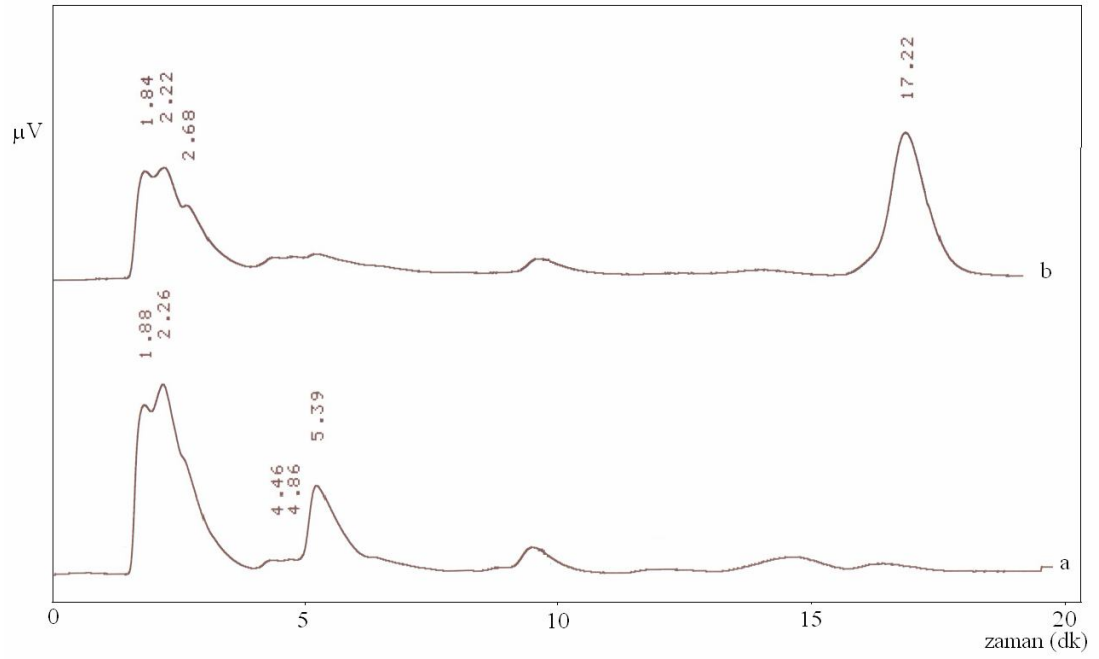
Beyaz soğan çözeltisine 5 ppm maleik asit ilave edilince beyaz soğan kromatogramında (b) olmayan 3.42 dakikadaki pik gözlemlendi. Diğer piklerde bir değişiklik olmadı. 5 ppm maleik asit sisteme tek başına gönderildiğinde elde edilen pik alanı ve alıkonma süresi ile spike edildiğinde elde edilen pik alanları ve alıkonma süreleri arasında bir fark yoktur.



- a: Beyaz soğana ait kromatogram.  
b: Beyaz soğan ve 625ppm Sitrik asit karışımına ait kromatogram.

**Şekil 6.18.** Saf beyaz soğan ve 625 ppm olacak şekilde Sitrik asit eklenmiş beyaz soğan ekstraktına ait kromatogramların karşılaştırılması

Beyaz soğan çözeltisine 625 ppm sitrik asit ilave edilince beyaz soğan kromatogramında (b) olmayan 4.42 dakikadaki pik gözlemlendi. Diğer piklerde bir değişiklik olmadı. 625 ppm sitrik asit sisteme tek başına gönderildiğinde elde edilen pik alanı ve alıkonma süresi ile spike edildiğinde elde edilen pik alanları ve alıkonma süreleri arasında bir fark yoktur.



a: Beyaz soğana ait kromatogram.

b: Beyaz soğan ve 6,25ppm Krotonik asit karışımına ait kromatogram.

**Şekil 6.19.** Saf beyaz soğan ve 6,25 ppm olacak şekilde Krotonik asit eklenmiş beyaz soğan ekstraktına ait kromatogramların karşılaştırılması

Beyaz soğan çözeltisine 6,25 ppm krotonik asit ilave edilince beyaz soğan kromatogramında (b) olmayan 17.22 dakikadaki pik gözlemlendi. Diğer piklerde bir değişiklik olmadı. 6,25 ppm krotonik asit sisteme tek başına gönderildiğinde elde edilen pik alanı ve alıkonma süresi ile spike edildiğinde elde edilen pik alanları ve alıkonma süreleri arasında bir fark yoktur.



## SONUÇ

HPLC metodu zayıf organik asitlerin ayrılmasında ve tayininde kullanılan önemli bir metottur. İdeal kromatografik şartları elde etmek için mobil faz olarak tüm çalışmalarda pH'ı 2,70 olan  $H_3PO_4/KH_2PO_4$  tamponu test edildi. Bu tampon mobil faz olarak tüm çalışmalarda kullanıldı. Bu mobil faz kullanılarak okzalik, sitrik, maleik ve krotonik asit 20 dakikadan daha az sürede bir birinden ayrılabilir.

İlk önce çözeltilerle çalışılarak okzalik, maleik, sitrik ve krotonik asitler mevcut kromatografik metotla ayrıldı ve tanımlandı. Şekil 6.4 bu organik asitlerin standart çözeltilerine ait kromatogramları gösterir. Örneklere ait kromatogramlar Şekil 6.1, Şekil 6.2, Şekil 6.3'de gösterilmiştir.

$KH_2PO_4/H_3PO_4$  tomponuna metanol ve etanolün değişik hacimce yüzdeleri mobil faza eklenerek denendi.  $KH_2PO_4/H_3PO_4$  tamponu mobil faz olarak seçildi.

Mobil faz akış hızı 0,5-1,5 mL/dk aralığı 0,1 mL arttırılarak denendi. 0,9 mL/dk akış hızı seçildi.

Mobil faz pH'ı 2,5 ile 5,0 aralığı denendi. pH=2,7 mobil faz pH'ı olarak seçildi.

Kalibrasyon grafikleri organik asit karışımlarının 8 farklı konsantrasyonları için belirlendi. Her bir standart asit çözeltileri beş kez tekrarlandı. Her bir bileşik için kalibrasyon grafikleri konsantrasyonuna karşı pik alanları grafiğe geçirilerek çizildi. Her bir standart organik asit için çizilen kalibrasyon grafikleri Grafik 6.1, Grafik 6.2, Grafik 6.3 ve Grafik 6.4' de verilmiştir.

Optimum koşullarda okzalik, sitrik, maleik ve krotonik asit sırasıyla 6,25-350 mg/L, 78-4000 mg/L, 0,63-30 mg/L ve 0,78-35 mg/L aralığında iyi bir lineerlik ve uygun tayin limitleri göstermiştir.

Soğan örneklerindeki okzalik asit miktarı kırmızı, beyaz ve sarı soğan örneklerinde sırasıyla  $1162,18 \pm 119,55$  mg/Kg,  $1260,33 \pm 7,64$  mg/Kg,  $3736,10 \pm 416,44$  mg/Kg kadar değişiklik gösterdi. Soğan türleri bir birleri ile karşılaştırıldığında en yüksek okzalik asit miktarı sarı soğan türünde iken en düşük okzalik asit kırmızı soğan türünde rastlandı. Geriye kalan diğer üç asit (Maleik, sitrik ve krotonik asit) tayin limitleri altında olduğu için tayin edilemedi.

Bu metot, analitik prosedürlerinin basitliği sayesinde tek bir enjeksiyonla bu dört organik asidin kolayca ayrılması ve tayininin yapılabilmesi avantajına sahiptir. Bu yöntem karmaşık örnek hazırlama işlemlerini gerektirmeyen, basit, hızlı, 20 dakikadan daha az bir sürede ayırma ve tayin yapmak için kromatografide kullanılan tek bir ters faz kolon gerektiren bir yöntemdir.

## KAYNAKLAR

- [1] Kopsell, D.A., Randle, W.M.; Onion cultivars differ in pungency and bulb quality changes during storage. *HortScience*, 32, 1260–1263, 1997.
- [2] Lanzotti, V.; The analysis of onion and garlic, *J. Chromatography*, 1112, 3–22, 2006.
- [3] Salisbury, F. B.; *Fisiologia de las plantas I. Paraninfo: Madrid, Spain, 2000.*
- [4] Chinnici, F., Spinabelli, U., Riponi, C., Amati, A.; Optimization of the determination of organic acids and sugars in fruit juices by ion-exclusion liquid chromatography, *Journal of Food Composition and Analysis*, 18, 121–130, 2005.
- [5] Block, E.; *Sci. Am.*, 252, 114, 1985.
- [6] Griffiths, G., Trueman, L., Crowther, T., Thomas, B., & Smith, B.; Onions a global benefit to health. *Phytotherapy Research*, 16, 603-615, 2002.
- [7] Pasteur, L.; *Ann. Chim. Phys. Ser.*, 52, 404, 1858.
- [8] Zeisel, S. H.; *Science*, 285, 1854, 1999.
- [9] Henry, C.M.; *Chem. Eng. News*, 29, 42, 1999.
- [10] Rose, P., Whiternan, M., Moore, P.K., & Zhu, Y.Z.; Bioactive Salk( en)yl cysteine sulfoxide metabolites in the genus *Allium*: the chemistry of potential therapeutic agents, *Nat. Prod. Rep.* 22, 351-368, 2005
- [11] Block, E.; *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 31, 1135, 1992.
- [12] Freeman, G.G, McBreen, F.; *Biochem. Soc. Trans.*, 1, 1150, 1973.
- [13] Bauer, R., Breu, W., Wagner, H., Weigand, W.; *J. Chromatogr., A*, 541, 464, 1991.
- [14] Sinha, N.K., Guyer, D.E., Gage, D.A., Lira, C.T., *J. Agric. Food Chem.*, 40, 842, 1992.
- [15] Block, E., Putman, D., Zhao,; *J. Agric. Food Chem.*, 40, 2431, 1992.
- [16] Randle, W.M., Block, E., Littlejohn, M.H., Putman, D., Bussard, M.L.; *J. Agric. Food Chem.*, 42, 2085, 1994.
- [17] Randle, W.M.; *Book of Abstracts, 211th American Chemical Society National Meeting, New Orleans, LA, March, 24–28, 1996.*
- [18] Corea, G., Fattorusso, E., Lanzotti, V., Capasso, R., Izzo, A.A; *J. Agric. Food Chem.*, 53, 935, 2005.

- [19] Ismailov, A.I., Aliev, A.M.; *Uchen. Zap.*, 37, 60, 1974.
- [20] Miean, K.H., Mohamed, S.; *J. Agric. Food Chem.*, 49 (6), 3106, 2001.
- [21] Rice Evans C.A., Miller, N.J., Paganga, G.; *Trends Food Sci.*, 2,152, 1997.
- [22] Wang, H.X., Ng, T.; *Life Sci.*, 65, 2663, 1999.
- [23] Augusti, K. T., Mathew, P. T.; Lipid lowering effect of alicin (diallyl disulfide oxide) on long-term feeding in normal rats. *Experientia*, 30, 468-470, 1974.
- [24] Fenwick, G. R., Hanley, A. B.; *The genus Allium. CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 22, 199-377, 1985.
- [25] Amagase, H.; Clarifying the real bioactive constituents of garlic. *Journal of Nutrition*, 136, 716S-725S, 2006
- [26] Corzo-Martinez M., Corzo N., Villamiel M.; Biological properties of onions and garlic, *Trends in Food Science & Technology*, 18, 609-625, 2007.
- [27] Pszczola, D. E.; Antimicrobials: setting up additional hurdles to ensure food safety, *Food and Technology*, 56, 99-107, 2002.
- [28] Saleheen, D., Ali, S. A., Yasinzai, M. M.; Antileishmanial activity of aqueous onion extract in vitro, *Fitoterapia*, 75(1), 9-13, 2004.
- [29] Zohri, A. N., Abdel-Gawad, K., & Saber, S.; Antibacterial, antidermatophytic and antioxidigenic activities of onion (*Allium cepa* L.) oil, *Microbiological Research*, 150, 167-172, 1995.
- [30] Gupta, N., & Porter, T. D.; Garlic and garlic-derived compounds inhibit human squalene monooxygenase, *The Journal of Nutrition*, 131, 1662-1667, 2001.
- [31] Tansey, M. R., & Appleton, J. A., Inhibition of fungal growth by garlic extract. *Mycologia*, 67, 409-413, 1975.
- [32] Phay, N., Higashiyama, T., Tsuji, M., Matsuura, H., Fukushi, Y., Yokota, A., et al.; An antifungal compound from roots of Welsh onion. *Phytochemistry*, 52, 271-274, 1999.
- [33] Bakri, I. M., & Douglas, C. W. I.; Inhibitory effect of garlic extract on oral bacteria, *Archives of Oral Biology*, 50(7), 645-651, 2005.
- [34] Tsao, S. M., & Yin, M. C.; In-vitro antimicrobial activity of four diallyl sulphides occurring naturally in garlic and Chinese leek oils. *Journal of Medical Microbiology*, 50(7), 646-649, 2001.
- [35] Ramos, F. A., Takaishi, Y., Shirotori, M., Kawaguchi, Y., Tsuchiya, K., Shibata, H., et al.; Antibacterial and antioxidant activities of quercetin oxidation products

from yellow onion (*Allium cepa*) skin, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 3551-3557, 2006.

[36] Wu, C. P., Calcagno, A. M., Hladky, S. B., Ambudkar, S. V., & Barrand, M. A.; Modulatory effects of plant phenols on human multidrug-resistance proteins 1, 4 and 5 (ABCC1, 4 and 5), *FEBS Journal*, 272(18), 4725-4740, 2005.

[37] Van Damme, E. J. M., Smeets, K., Engelborghs, I., Aelbers, H., Balzarini, J., Pusztai, A., et al.; Cloning and characterization of the lectin cDNA clones from onion, shallot and leek, *Plant Molecular Biology*, 23, 365-376, 1993.

[38] Borek, C.; Antioxidants and cancer, *Science & Medicine*, 4, 51-62, 1997.

[39] Hu, J., La Vecchia, C., Negri, E., Chatenoud, L., Bosetti, C., Jia, X., et al.; Diet and brain cancer in adults. A case-control study in northeast China. *International Journal of Cancer*, 81, 20-23, 1999.

[40] Le Marchand, L., Murphy, S. P., Hankin, J. H., Wilkens, L. R., & Kolonel, L. N.; Intake of flavonoids and lung cancer, *Journal of the National Cancer Institute*, 92, 154-160, 2000.

[41] El-Bayoumy, K., Sinka, R., Pinto, J. T., & Rivlin, R. S.; Cancer chemoprevention by garlic and garlic-containing sulfur and selenium compounds, *Journal of Nutrition*, 136(3), 864S-869S, 2006.

[42] El-Bayoumy, K., Chae, Y. H., Upadhyaya, P., & Ip, C.; Chemoprevention of mammary cancer by diallyl selenide, a novel organoselenium compound, *Anticancer Research*, 16, 2911-2918, 1996.

[43] Arnault, I., & Auger, J.; Seleno-compounds in garlic and onion, *Journal of Chromatography A*, 1112, 23-30, 2006.

[44] Lautraite, S., Musonda, A. C., Doehmer, J., Edwards, G. O., & Chipman, J. K.; Flavonoids inhibit genetic toxicity produced by carcinogens in cells expressing CYP1A2 and CYP1A1. *Mutagenesis*, 17, 45-53, 2002.

[45] Shin, S.-C., Choi, J.-S., & Li, X.; Enhanced bioavailability of tamoxifen after oral administration of tamoxifen with quercetin in rats. *International Journal of Pharmaceutics*, 313, 144-149, 2006.

[46] Knowles, L. M., & Milner, J. A.; Diallyl disulphide induces ERK phosphorylation and alters gene expression profiles in human colon tumor cells. *The Journal of Nutrition*, 133, 2901-2906, 2003.

[47] Van Erk, M. J., Roepman, P., van der Lende, T. R., Stierum, R. H., Aarts, J. M. M. J. G., van Bladeren, P. J., et al.; Integrated assessment by multiple gene expression analysis of quercetin bioactivity on anticancer-related mechanisms in colon cancer cells in vitro, *European Journal of Nutrition*, 44, 143-156, 2005.

- [48] Effendy, J. L., Simmons, D. L., Campbell, G. R., & Campbell, J. H.; The effect of aged garlic extract “Kyolic”, on the development of experimental atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 132, 37-42, 1997.
- [49] Liu, L., & Yeh, Y. Y.; S-alk(en)yl cysteines of garlic inhibit cholesterol synthesis by deactivating HMG-CoA reductase in cultured rat hepatocytes. *The Journal of Nutrition*, 132(6), 1129-1134, 2002.
- [50] Yeh, Y. Y., Lin, R. I., Yeh, S. M., & Evens, S.; Garlic reduced plasma cholesterol in hypercholesterolemic men maintaining habitual diets. In H. Ohgashi, et al. (Eds.), *Food factors for cancer prevention*, Tokyo, Springer-Verlag, 1997.
- [51] Glasser, G., Graefe, E. U., Struck, F., Veit, M., & Gebhardt, R.; Comparison of antioxidative capacities and inhibitory effects on cholesterol biosynthesis of quercetin and potential metabolites, *Phytomedicine*, 9, 33-40, 2002.
- [52] Singh, D. K., & Porter, T. D.; Inhibition of sterol 4 alpha-methyl oxidase is the principal mechanism by which garlic decreases cholesterol synthesis, *Journal of Nutrition*, 136(3), 759S-764S, 2006.
- [53] Srinivasan, K., & Sambaiah, K.; The effect of spices on cholesterol 7-alpha-hydroxylase activity and on serum and hepatic cholesterol levels in rats, *International Journal of Vitamin and Nutrition Research*, 61, 364-369, 1991.
- [54] Slowing, K., Ganado, P., Sanz, M., Ruiz, E., Beecher, C., & Tejerina, T.; Effect of garlic in cholesterol-fed rats. *Journal of Nutrition*, 131, 994S-999S, 2001
- [55] Moon, C. H., Jung, Y. S., Kim, M. H., Lee, S. H., Baik, E. J., & Park, S. W.; Mechanism for antiplatelet effect of onion: arachidonic acid release inhibition, thromboxane A(2) synthase inhibition and TXA (2)/PGH (2) receptor blockade, *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 62, 277-283, 2000.
- [56] Goldman, I. L., Kopelberg, M., Debaene, J. E. P., & Schwartz, B. S.; Antiplatelet activity of onion (*Allium cepa*) is sulphur dependent, *Thrombosis and Haemostasis*, 76, 450-453, 1996.
- [57] Block, E., Gulati, H., Putman, D., Sha, D., Niannian, Y., & Zhao, S.-H.; Allium chemistry: synthesis of 1-[alk(en)ylsulfinyl]-propyl alken(en)yl disulfides (cepaenes), antithrombotic flavorants from homogenates of onion (*Allium cepa*), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 4414-4422, 1997.
- [58] Wagner, H., Dorsch, W., Bayer, T., Breu, W., & Willer, F.; Antiasthmatic effects of onions: inhibition of 5-lipoxygenase and cyclooxygenase in vitro by thiosulfinates and “cepaenes”, *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 39, 59-62, 1990.
- [59] Platel, K., & Srinivasan, K.; Studies on the influence of dietary spices on food transit time in experimental rats, *Nutrition Research*, 21, 1309-1314, 2001.

- [60] Ernst, M., & Feldheim, W. J.; Fructans in higher plants and in human nutrition, *Angewandte Botanik*, 74, 5-9, 2000,
- [61] Gibson, G. R.; Dietary modulation of the human gut microflora using prebiotics. *The British Journal of Nutrition*, 80, 209-212, 1998.
- [62] Causey, J. L., Feirtag, J. M., Gallaher, D. D., Tunland, B. C., & Slavin, J. L.; Effects of dietary inulin on serum lipids, blood glucose and the gastrointestinal environment in hypercholesterolemic men, *Nutrition Research*, 20, 191-201, 2000.
- [63] Tattelman, E. M. D.; Health effects of garlic, *American Family Physician*, 72, 103-106, 2005.
- [64] Ackermann, R. T., Mulrow, C. D., Ramirez, G., Gardner, C. D., Morbidoni, L., & Lawrence, V. A.; Garlic shows promise for improving some cardiovascular risk factors, *Archives of Internal Medicine*, 161, 813-824, 2001.
- [65] Davis, S. R.; An overview on the antifungal properties of alicin and its breakdown products e the possibility of a safe and effective antifungal properties, *Mycoses*, 48(2), 95-100, 2005,
- [66] Friedman, T., Shalom, A., & Westreich, M.; Self-inflicted garlic burns: our experience and literature review, *International Journal of Dermatology*, 45(10), 1161-1163, 2006
- [67] Yang, C. Y., Chao, P. D. L., Hou, Y. C., Tsai, S. Y., Wen, K. C., & Hsiu, S. L.; Marked decrease of cyclosporin bioavailability caused by coadministration ginkgo and onion in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 44, 1572-1578, 2006.
- [68] Dicenzo, R., Frerichs, V., Larppanichpoonphol, P., Predko, L., Chen, A., Reichman, R., et al.; Effect of quercetin on the plasma and intracellular concentrations of saquinavir in healthy adults, *Pharmacotherapy*, 26(9), 1255-1261, 2006.
- [69] Jastrzebski, Z., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Namiesnik, J., Zachwieja, Z., Barton, H., et al.; The bioactivity of processed garlic (*Allium sativum* L.) as shown in vitro and in vivo studies on rats. *Food and Chemical Toxicology*, 45, 1626-1633, 2007,
- [70] Rohn, S., Buchner, N., Driemel, G., Rauser, M., & Kroh, L. W.; Thermal degradation of onion quercetin glycosides under roasting conditions, *Journal Agricultural and Chemistry*, 55, 1568-1573, 2007.
- [71] Önder E., Koparal A.S., Ögütveren Ü. B.; Electrochemical treatment of aqueous oxalic acid solution by using solid polymer electrolyte (SPE) reactor, *Chemical Engineering Journal* 147 ,122–129, 2009.
- [72] Safavi A., Banazadeh A.R.; Catalytic determination of traces of oxalic acid in vegetables and water samples using a novel optode, *Food Chemistry* 105, 1106–1111, 2007.

- [73] Luque S., Mato I., Huidobro J.F., Simal- Lazano J., Garcia- Monteagudo J.C.; Different forms of maleic and fumaric acids (cis and trans of 2-butenedioic acid) in honey, *Food Chemistry* 80, 215–219, 2003.
- [74] Qingyue S. ,Chunhua L.,Yaru N., Qing J., Zhongzi X.; Synthesis and Characteristic Study on Complexes of Europium(III) and Maleic Acid Doped with Non-Fluorescent Ions, *Journal of Rare Earths* 25- 549 – 553, 2007.
- [75] Ghassempour A., Najafi N. M. , Amiri A. A.; Determination of citric acid in fermentation media by pyrolysis mass spectrometry, *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 70, 251-261, 2003.
- [76] Ikram-ul H., Ali S., Qadeer M.A.,Iqbal J.; Citric acid production by selected mutants from cane molasses, *Bioresource Technology* 93- 125–130, 2004.
- [77] Quici N., LitterM.I., Braun A.M., Oliveros E.; Vacuum-UV-photolysis of aqueous solutions of citric and gallic acids, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 197-306–312, 2008.
- [78] Demiray S.; Şarap Üretim Aşamalarında Organik Asit Dağılımı, Ankara Üniversitesi, Ankara, 2006.
- [79] Misiak I. J.,Wieczorek P.P., Kafarski P.; Crotonic acid as a bioactive factor in carrot seeds (*Daucus carota* L.), *Phytochemistry* 66- 1485–1491, 2005.
- [80] Bassaid S., Chaib M., Bouguelia A., Trari M.; Elaboration and characterization of poly (acrylic acid-co-crotonic acid) copolymers: Application to extraction of metal cations Pb(II), Cd(II) and Hg(II) by complexation in aqueous media, *Reactive & Functional Polymers* 68- 483–491,2008.
- [81] Anonim; Merck Laboratuvar El Kitabı, 48, Ankara, 2007.
- [82] İnce M.; Yüksek Sıcaklıkta Hazırlanmış Gıdalarda Organik Kanserojen Maddelerin HPLC-MS ile Tayini, Fırat Üniversitesi, Elazığ, 2008.



## ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Denizli-Acıpayam’da doğan Ayşe KAYA, ilk, orta ve lise öğrenimini sırasıyla Pınaryazı Köyü İlkokulu, Acıpayam Ortaokulu ve Acıpayam Lisesi’nde tamamlamıştır. 1996 yılında kazandığı Balıkesir Üniversitesi Necatibey Eğitim Fakültesi Kimya Öğretmenliği Bölümü’nü 2001 yılında başarıyla bitirmiştir.

2009 yılında yüksek lisans eğitimine Bozok Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında Yrd. Doç.Dr. İsmail AKDENİZ danışmanlığında başlamıştır.

2002 – 2007 yılları arasında sırasıyla Muş ve Diyarbakır illerinde öğretmenlik yapmış olup; halen Çorum ilinde Alaca Mehmet Çelik Anadolu Lisesi’nde Kimya öğretmeni olarak çalışmaktadır.

### İletişim Bilgileri

Adres : Buharaevler Mah. Selçuk 34. Sok. Elif Apt. B-Blok No:12/11 19100  
ÇORUM/Merkez  
Telefon : (0 505) 629 89 36  
E-posta : ilhanayse72@hotmail.com