

Araştırma Makalesi

Hatay/Kırıkhan'da Yetiştirilen Safran (*Crocus sativus L.*) Stigmasının Ekstraktının GC-MS analizi

Ersen GÖKTÜRK¹, Hasan ASİL^{2*}

¹Mustafa Kemal Üniversitesi, Kimya Bölümü, Hatay

²Mustafa Kemal Üniversitesi, Altınözü Tarım Bilimleri MYO, Tıbbi ve Aromatik Bitkiler, Hatay

*Sorumlu yazar: hasanasil@mku.edu.tr

Geliş Tarihi: 07.06.2018

Düzeltilme Geliş Tarihi: 05.07.2018

Kabul Tarihi: 06.07.2018

Özet

Hatay/Kırıkhan'da yetiştirilen safran (*Crocus sativus L.*) stigmasının metanol/etil asetat karışımı ile ekstraksiyonu yapılmış ve safranın uçucu bileşenlerinin analizi GC-MS (gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi) ile gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre Safran stigmasında değişik yapılarda fitokimyasalların bulunduğu gözlenmiştir. Bu bileşenlerin bazıları literatürden elde edilen verilere göre, biyoaktif özelliklere ve birçok farmakolojik etkiye sahiptirler.

Anahtar kelimeler: *Crocus sativus L.*, GC-MS, ultrasonik ekstraksiyon, safran, stigma.

GC-MS Analysis of Saffron (*Crocus sativus L.*) Stigma Extract Grown in Hatay / Kırıkhan

Abstract

Saffron (*Crocus sativus L.*) stigma grown in Hatay / Kırıkhan was extracted with methanol / ethyl acetate mixture and volatile components of the saffron was determined by GC-MS analysis (gas chromatography-mass spectroscopy). According to the obtained results, phytochemicals in various structures were observed in the Saffron stigma. Some of these components have bioactive properties and many pharmacological effects according to the literature.

Key words: *Crocus sativus L.*, GC-MS, ultrasonic extraction, saffron, stigma.

Giriş

Safran (*Crocus sativus L.*), süsengiller (*Iridaceae*) familyasından olup sonbaharda çiçek açan, 20-30 cm boyunda soğanlı bir kültür bitkisidir (Arslan ve ark., 2007, Bakhtavari, 2010). Safranın (*Crocus sativus L.*) Türkiye'deki ekim alanları üretim zorlukları nedeniyle oldukça azalmıştır (20-30 dekara kadar düşmüş). Safran yakın gelecekte ülkemizde üretimi terk edilmek üzere olan önemli bir gıda, boya, kozmetik ve ilaç bitkisidir. Safran 4000 yıldır yetiştirilen, kokuları, renkleri ve şifa özellikleri baharat olarak kullanılan bir bitkidir (Çavuşoğlu ve Erkel, 2005, Arslan ve ark., 2008, Aytekin ve Açıkgöz, 2008). Bunun yanı sıra, kanser tedavisinde umut vaat ettiğinden dünyanın en pahalı baharatlarından biri olma özelliğini taşımaktadır (Gümüsoğlu, 2002, Çavuşoğlu ve

Erkel, 2005, Ünalı, 2007, Rezaeieh ve Vaziri, 2012).

Kullanım alanı böylesine geniş ve önemli olan bu bitkinin yetiştiriciliğinin sürdürülebilir olması oldukça önemlidir. Safran kısır bir bitki olması nedeniyle tohumla çoğaltılamamaktadır. Bitkinin çoğaltılması vejetatif yolla; soğanları ile olmaktadır. Ancak soğanlarıyla çoğaltımı da en az 2-3 yıl gibi bir süreye ihtiyaç duymaktadır. Yoğun bir iş gücü de gerektirdiği için yetiştiriciliği sürdürülebilir ve tatmin edici şekilde ekonomik olamamaktadır (Karaoğlu ve ark., 2007, İpek ve ark., 2009, Yıldırım ve ark., 2017).

Safranal ($C_{10}H_{14}O$) safran aromasının en temel uçucu yağını oluşturur ve safranın kalitesini gösterir. Safranal birçok farmakolojik etkiye sahiptir; mide ülserinin tedavisinde, antidepresan,

antimikrobiyal, antitümör, anticonvulsant, antitussif ve antinosiseptif olarak kullanılmaktadır. Krosin safranın rengini oluşturan kararsız bir moleküldür. Krosin’de bazı tıbbi uygulamalarda kullanılabilir; antitümör, antidepresan, hipotensiv, hipocampus gibi uygulamalarda kullanılmaktadır (Siracusa ve ark., 2013, Rubert ve ark., 2016, D’Archivio ve Maggi, 2017).

Safran stigmalarının toplanması, kurutulması ve depolanması esnasında yapısındaki krosin ve pikrokrosin miktarlarında bozulmalar meydana gelebilir. Gaz kromatografisi (GC) ve Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) analizleri kullanılarak safranın uçucu bileşenleri, baharat aroması ve kimyasal bileşenleri tanımlanabilmektedir. Safranın aroma bileşimlerinin ve uçucu bileşiklerin izolasyonunda, organik çözücüler kullanılarak ultrasonik çözücü ekstraksiyonu (USE) metodu yaygın olarak kullanılmaktadır. USE yöntemi, numune matrisi ve solvent arasında yüksek verimli bir temas sağlar. Akustik kaviteasyonlar, mekanik ve termal fonksiyonlar, ultrasonik ekstraksiyonun etkinliği üzerinde doğrudan bir etkiye sahiptir (Alonso ve ark., 1990, Lozano ve ark., 2000, Alissandrakis ve ark., 2003, Kanakis ve ark., 2004, Jerkovic ve ark., 2007, Pan ve ark., 2008).

Bu çalışmada, Türkiye’nin Hatay ili Kırıkhan ilçesinde yetiştirilen safranın stigmalarının uçucu bileşenlerinin USE metodu kullanılarak, GC-MS ile ayırma ve bileşenlerin saptanması gerçekleştirilmiştir.

Materyal ve Yöntem

Safran numunesi ve kullanılan kimyasallar

Safran stigmaları 2017 yılında Hatay/Kırıkhan’da yetiştirilen Safran bitkisinden elde edilmiştir. Stigmalar oda sıcaklığında kurutulmuş ve ışısız ortamda saklanmıştır. Metanol ve Etil asetat kullanılmıştır.

Ekstraksiyon prosedürü

Safran stigmalarının ekstraksiyon işlemi ultrasonik banyo kullanılarak ultrasonik-yardımlı çözücü ekstraksiyonu yöntemine göre gerçekleştirilmiştir (Jalali-Heravi ve ark., 2009). Safran numunesinin ekstraksiyon işlemi ise şu şekilde yapılmıştır: 1 g safran stigmaları toz haline getirilir. Daha sonra toz halindeki safran stigmaları tek boyunlu balona aktarılır ve içerisine (18–42 mL) metanol:etilasetat (70:30) çözücü karışımı eklenir. Sonikasyon işlemi başlatılır ve 15 dakika karışım sonikasyona tutulur. Sonikasyondan sonra, turuncu renkli organik çözelti santrifüj tüpüne konular ve 5000 d/d’da 3 dakika santrifüj edilir. Ekstrakt kısım ayrılıp, katı kısma tekrar 10 ml çözücü eklenir ve tekrar sonikasyon işlemi yapılır. Elde edilen yeni

çözelti tekrar 3 dakika santrifüj edilir ve elde edilen ekstrakt kısım bir önceki ekstrakt ile birleştirilir. Elde edilen ekstraktın çözücüsü buharlaştırılarak hacim 10 mL’ye kadar düşürülür ve + 4 °C’de buzdolabında ışısız ortamda GC-MS analizi için bekletilir. GC-MS analizi için bu ekstraktın 1 µL’si kullanılır.

Gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi (GC-MS) analizi

GC-MS analizi Hewlett-Packard 6890 serisi GC-MS analiz cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Cihazın kolonu HP-5MS fused silica column (5% phenyl methyl polysiloxane 30 m 0.25 mm i.d., film thickness 0.25 µm) ve dedektörü Hewlett-Packard mass selective detector 6890’dır. GC-MS analizi literatürde belirtilen prosedüre göre gerçekleştirilmiştir. Fırın 60 °C’ye ısıtılıp bu sıcaklıkta 1 dakika beklenir. Daha sonra sıcaklık dakikada 5 derece arttırılarak 200 °C’ye yükseltilip 1 dakika bekletilir. Son olarak sıcaklık dakikada 20 derece arttırılarak 280 °C’ye yükseltilir ve 21 dakika beklenir. Helyum (%99.9999) taşıyıcı gaz olarak ve 1 mL/dakika akış hızında kullanılmıştır. Enjektör sıcaklığı 200 °C’de tutulmuştur. Ayrılma oranı 1:5’dir.

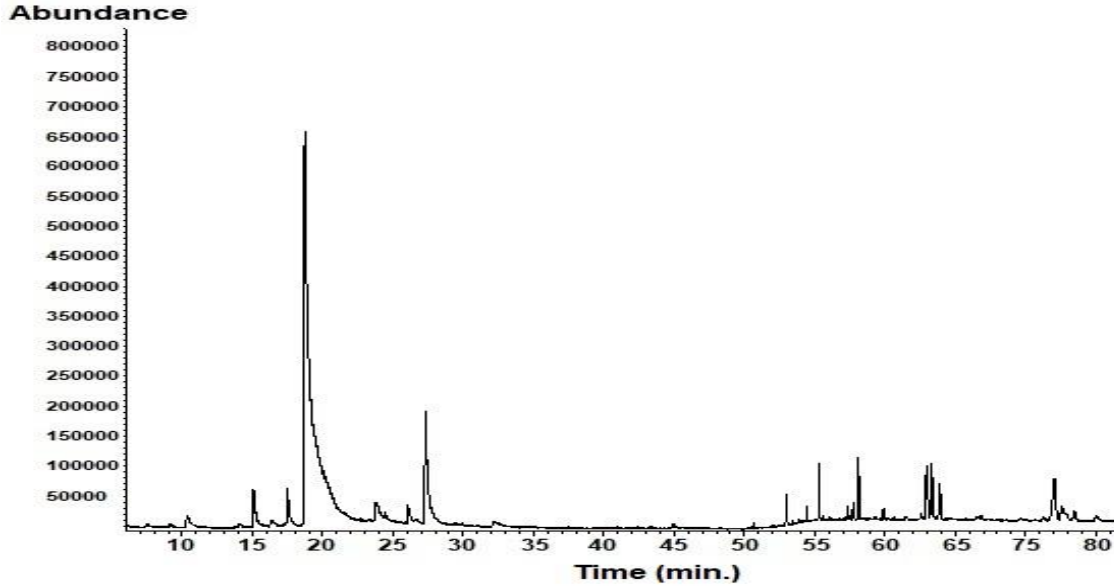
Kırıkhan Safran’ının uçucu bileşenlerinin karakterizasyonu

Bitkiler günlük hayatımızın önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Bitkilerin bileşimleri ve besin değerleri son yıllarda oldukça fazla araştırılan konulardan olmuştur. Tıbbi bitkiler, birçok hastalığın tedavisi için yeni ilaçların keşfedilmesi amacıyla umut vaat etmektedir. Bunun haricinde bitkiler, baharat, koku, boya ve pestisitler gibi kullanım alanına da sahiptir. Günümüzde, tıbbi bitkilerin biyolojik aktivitelerinin anlaşılması hususunda artan bir ilgi söz konusudur. Bu çalışmada bir tıbbi bitki olan safran bitkisinin uçucu bileşenlerinin tanınması ve bu bileşenlerin biyoaktivitelerinin incelenmesi hedeflenmiştir. Genel olarak Safran bitkisinin antibakteriyel, antifungal, antimalarial, antioksidan, antitümör, anti-inflammatory, hypocholesterolemic, antikanser, diuretic, antihyperglycaemic ve analjezik aktivite gösterdiği literatürde rapor edilmiştir (Fernández, 2004). Geniş farmakolojik aktivite göstermeleri sayesinde Safran bitkisi yüzyıllardır birçok tıbbi tedavide kullanılmaktadır.

Yapılan çalışmada 2017 yılında Kırıkhan’da üretilen Safran (*Crocus sativus* L.) bitkisinin stigmalarının USE metodu uygulanarak metanol/etil asetat ile ekstraksiyonu neticesinde elde edilen ekstraktın GC-MS analizi sonucu toplam iyon kromatogramı (TIC) Şekil 1’de gösterilmiş ve uçucu maddelerin bileşenleri alıkonma zamanlarına göre

cihazın kütüphane sisteminden belirlenmiştir (Tablo 1). Ekstraksiyon solventi olarak metanol/etil asetat karışımı kullanılmıştır, çözücü karışımı kullanılması sayesinde kullanılan solventlerin polarite aralığı artmakta ve ekstraksiyonun verimini arttırmaktadır. Metanol biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu için oldukça fazla kullanılan bir çözücüdür, pek çok polar bileşik ve bazı apolar bileşikler metanol içerisinde çözünebilmektedir. Bu sebeple ekstraksiyon solventi olarak metanol/etil asetat karışımı kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara

göre USE metodunun safranın bileşenlerinin ekstraksiyonu için uygun bir metot olduğu görülmektedir. Gaz kromatografisi analiz sonuçları, safran içerisindeki uçucu bileşenlerin farklı alıkonma zamanlarındaki ayrılmalarını başarılı bir şekilde göstermektedir. Safran stigmasında uygulanan solvent karışımı ile toplam 14 bileşen belirlenmiştir. Bu bileşenlerin çoğu da zaten literatürde rapor edilmiştir. Safran bitkisinin uçucu bileşenlerinin biyolojik aktiviteleri literatürden elde edilen verilere göre Tablo 1’ de özetlenmiştir.



Şekil 1. Kırıkhan'da üretilen Safran bitkisinin USE metodu uygulanarak elde edilen ekstraktının GC-MS analizi sonucu elde edilen toplam iyon kromatogramı.

GC-MS spektrumunda ilk ayrılan grupta gözlenen bileşikler genel olarak safranal ve isophorone grubu (aldehit ve/veya keton grubu içeren) bileşiklerdir. İkinci grup olarak fenol türevi bileşiğin ve ester gruplarının gözlemlendiği ve son grup olarak da lineer doymuş hidrokarbon grubu içeren bileşikler gözlenmiştir. Safran stigmasında gözlenen bileşiklerden, Aldehit grubu içeren bileşikler Safran içerisinde en yüksek oranda bulunmaktadır. Safranal’da aldehit grubu içeren bir bileşik olduğundan ve ekstrakttaki yüzdesi çok yüksek olduğundan safrandaki ana aldehitin Safranal olduğu görülmektedir. Aldehitlerden sonra yüksek oranda keton bileşikleri gelmektedir. Keton bileşikleri de aldehitlere kıyasla daha düşük miktarlarda olup genel olarak ise yüksek oranlarda bulunmaktadır.

Kırıkhan Safranının kimyasal bileşimi literatürde daha önce çalışılmış olan İran ve Yunanistan safran’larına kıyasla daha az bileşen içermektedir. Literatürden elde edilen bilgilere göre, İran ve Yunanistan da elde edilen safranlarda 40’ar adet bileşen keşfedilmiştir (Kanakis ve ark.,

2004, Jalali-Heravi ve ark., 2009). Kırıkhan Safranında gözlenen bazı bileşenler, İran ve Yunanistan safranı içerisinde de bulunmaktadır. Ancak coğrafik koşulların ve iklimin farklı oluşu sebebiyle bileşenlerin büyük bir kısmı benzerlik göstermemektedir.

Sonuç ve Öneriler

Bu çalışmanın sonuçları; Hatay/Kırıkhan’da yetiştirilen Safran (*Crocus sativus* L.) bitkisinin stigmalarının, metanol/etil asetat karışımı ile elde edilen ekstraktlarında birçok biyoaktif bileşen bulunduğunu kanıtlamıştır. Bu biyoaktif bileşenler birçok farmakolojik aktiviteden sorumludurlar. Elde edilen diğer bulgulara göre coğrafik koşullar farklı bileşenlerin gözlenmesinden sorumludur. Devam eden çalışmalarımız farklı tıbbi bitkilerin kimyasal bileşimlerini aydınlatma üzerine odaklanacaktır. Bu çalışmanın bu nedenle ileriki tıbbi bitkilerle yapılacak çalışmalar için rehber olacağını umut etmekteyiz. Safran bitkisiyle alakalı olarak ileride yapılacak çalışmalar, bu aktif bileşenlerin izolasyonunu ve saflaştırılıp ilaç sanayinde

kullanılmasının sağlanması hususunda yararlı olabilir.

Tablo 1. Kırıkhan Safran'ının (*Crocus sativus* L.) ultrasonik ekstraksiyon metoduyla elde edilen bileşenlerin listesi.

| No | Kimyasal Adı | Kapalı Formül | Fonksiyonel Grup | M _w (g/mol) | tR | % | MF | Kullanım Alanı |
|----|---|--|---------------------------------|------------------------|-------|-------|----|----------------------------------|
| 1 | β-Isophorone | C ₉ H ₁₄ O | Halkalı Keton α-β | 138.21 | 10.36 | 0.31 | 70 | Farmakoloji |
| 2 | α-Isophorone | C ₉ H ₁₄ O | Doymamış Halkalı Keton α-β | 138.21 | 15.07 | 0.82 | 91 | Aroma |
| 3 | 4-Ketoisophorone | C ₉ H ₁₂ O ₂ | Doymamış Halkalı Diketon α-β | 152.19 | 17.49 | 0.60 | 86 | Aroma |
| 4 | Safranal (2,6,6-trimethyl-1,3-cyclohexadiene-1-carboxaldehyde) | C ₁₀ H ₁₄ O | Doymamış Aldehit α-β | 150.22 | 18.72 | 16.20 | 98 | Aroma, Farmakoloji, Biyoaktivite |
| 5 | 3,5,5-Trimethyl-2-hydroxy-1,4-cyclohexane-2-dione | C ₉ H ₁₄ O ₂ | Doymamış Halkalı Diketon | 154.21 | 23.78 | 0.47 | 50 | Biyoaktivite |
| 6 | 2,4,4-Trimethyl-3-carboxaldehyde-5-hydroxy-2,5-cyclohexadiene-1-one | C ₁₀ H ₁₂ O ₃ | Keto-Aldehit | 180.20 | 26.07 | 0.37 | 64 | NF |
| 7 | 2,4-bis(1,1-dimethylethyl) phenol | C ₁₄ H ₂₂ O | Fenol | 206.33 | 27.32 | 2.69 | 72 | Biyoaktivite |
| 8 | Bis-(2-ethylhexyl)adipate | C ₂₂ H ₄₂ O ₄ | Diester | 370.57 | 52.99 | 0.22 | 83 | Farmakoloji, Biyoaktivite |
| 9 | Heneicosane | C ₂₁ H ₄₄ | Alkan | 296.58 | 54.46 | 0.08 | 87 | Farmakoloji |
| 10 | Bis-(2-ethylhexyl)phthalate | C ₂₄ H ₃₈ O ₄ | Diester | 390.56 | 55.32 | 0.35 | 90 | Farmakoloji, Biyoaktivite |
| 11 | Hexatriacontane | C ₃₆ H ₇₄ | Alkan | 506.99 | 57.32 | 0.11 | 62 | NF |
| 12 | 1-Eicosanol | C ₂₀ H ₄₂ O | Alkol | 298.56 | 57.75 | 0.15 | 74 | Farmakoloji, Biyoaktivite |
| 13 | Heptacosane | C ₂₇ H ₅₆ | Alkan | 380.75 | 58.13 | 0.48 | 98 | Farmakoloji |
| 14 | Hexacosane | C ₂₆ H ₅₄ | Alkan | 366.72 | 59.92 | 0.11 | 50 | Farmakoloji, Biyoaktivite |

*M_w molekül ağırlığı, tR alıkonma zamanı, % kısmi pik alanının toplam pik alanına oranı, MF kütüphanedeki benzerlik faktörü ve NF bulunamadı olarak verilmiştir.

Kaynaklar

- Alissandrakis, E., Daferera, D., Tarantilis, P.A., Polissiou, M., Harizanis, P.C. 2003. Ultrasound-assisted extraction of volatile compounds from citrus flowers and citrus honey. *Food Chem.*, 82(4): 575-582.
- Alonso, G.L., Varon, R., Gomez, R., Navaro, F., Salinas, M.R. 1990. Auto-oxidation in Saffron at 40°C and 75% Relative Humidity. *J. Food sci.*, 55(2): 595-596.
- Arslan, N., Gürbüz, B., İpek, A., Özcan, S., Sarihan, E., Daeshian, A.M., Moghadassi, M.S. 2007. The effect of corm size and different harvesting times on Saffron (*Crocus sativus* L.) regeneration. *Acta Horticulturae*, 739: 113-117.
- Arslan, N., Sarihan, E.O., İpek, A. 2008. Farklı soğan kesme yöntemlerinin *Fritillaria persica* L.'nin bazı özellikleri üzerine etkisi. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 14(3): 246-250. Doi: 10.1501/Tarimbil_0000001037.
- Aytekin, A., Açıkgöz, A.O. 2008. Hormone and microorganism treatments in the cultivation of saffron (*Crocus sativus* L.) plants. *Molecules*, 13(5): 1135-1147.
- Bakhtavari, A.S. 2010. Farklı Soğan (Korm) Boylarının ve Bitki Sıklığının Safran (*Crocus sativus* L.)'nin Verim ve Diğer Bazı Özellikleri Üzerine Etkisi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Tarla Bitkileri Anabilim Dalı Doktora

- Tezi, 79 sayfa. Ankara. DOI: 10.1501/ankara-24521.
- Çavuşoğlu, A., Erkel, İ.A. 2005. Kocaeli ili koşullarında safran (*Crocus sativus* L.) yetiştiriciliğinde yetiştirme yeri ve korm çapının verim ve erkencilik üzerine etkisi. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18(2): 179-184.
- D'Archivio, A.A., Maggi, M.A. 2017. Geographical identification of saffron (*Crocus sativus* L.) by linear discriminant analysis applied to the UV-visible spectra of aqueous extracts. *Food Chemistry*, 219: 408-413.
- Fernández, J.A. 2004. Biology, biotechnology and biomedicine of saffron. *Recent Research Developments in Plant Science*, 2: 127-159.
- Gümüšoğlu, İ. 2002. Altın Değerinde Bitki Safran (*Crocus sativus* L.). *Safranbolu Hizmet Birliği Kültür Yayınları* No:10 Birinci Basım.
- İpek, A., Arslan, N., Sarihan, E.O. 2009. Farklı dikim derinliklerinin ve soğan boylarının safranin (*crocus sativus* l.) verim ve verim kriterlerine etkisi. *A.Ü. Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 15(1): 38-46.
- Jalali-Heravi, M., Parastar, H., Ebrahimi-Najafabadi, H. 2009. Characterization of volatile components of Iranian saffron using factorial-based response surface modeling of ultrasonic extraction combined with gas chromatography-mass spectrometry analysis. *Journal of Chromatography A*, 1216: 6088-6097.
- Jerkovic, I., Mastelic, J., Marijjanovic, Z., Klein, Z., Jelic, M. 2007. Comparison of hydrodistillation and ultrasonic solvent extraction for the isolation of volatile compounds from two unifloral honeys of *Robinia pseudoacacia* L. and *Castanea sativa* L. *Ultrasonic Sonochem.*, 14(6): 750-756.
- Kanakis, C.D., Daferera, D.J., Tarantilis, P.A., Polissiou, M.G. 2004. Qualitative determination of volatile compounds and quantitative evaluation of safranal and 4-Hydroxy-2,6,6-trimethyl-1-cyclohexene-1-carboxaldehyde (HTCC) in Greek saffron. *J. Agric. Food Chem.*, 52: 4515-4521.
- Karaoğlu, C., Cocu, S., İpek, A., Parmaksız, I., Sarihan, E., Uranbey, S., Arslan, N., Kaya, M.D., Sancak, C., Özcan, S., Gürbüz, B., Mirici, S., Er, C., Khawar, K.M. 2007. *In Vitro* micropropagation of saffron. *Acta Horticulturae*, 739: 223-228. DOI: 10.17660/ActaHortic.2007.739.28.
- Lozano, P., Delgado, D., Gomez, D., Rubio, M., Iborra, J.L. 2000. A non-destructive method to determine the safranal content of saffron (*Crocus sativus* L.) by supercritical carbon dioxide extraction combined with high-performance liquid chromatography and gas chromatography. *J. Biochem. Biophys. Methods*, 43 (1-3): 367-378.
- Pan, J., Xia, X.X., Liang, J. 2008. Analysis of pesticide multi-residues in leafy vegetables by ultrasonic solvent extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Ultrasonics Sonochem.*, 15(1): 25-32.
- Rezaeieh, K.A.P., Vaziri, P. 2012. Safran (*Crocus sativus* L.)'in farklı eksplantlarından *in vitro* koşullarda bitki çoğaltımı hakkında derleme ve beklentiler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 5(2): 29-31.
- Rubert, J., Lacina, O., Zachariasova, M., Hajslova, J. 2016. Saffron authentication based on liquid chromatography high resolution tandem mass spectrometry and multivariate data analysis. *Food Chemistry*, 204: 201-209.
- Siracusa, L., Gresta, F., Avola, G., Albertini, E., Raggi, L., Marconi, G., Lambardo, G.M., Ruberto, G. 2013. Agronomic, chemical and genetic variability of saffron (*Crocus sativus* L.) of different origin by LC-UV-vis-DAD and AFLP analyses. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 60(2): 711-721.
- Ünalı, Ü.E. 2007. Tehdit altında bir kültür bitkisi: safran (*Crocus sativus* L.). *Fırat Üniversitesi Sosyal Bilimler Dergisi*, 17(2): 53-67.
- Yıldırım, M.U., Hajzadeh M., Küçük G., Sarihan E.O. 2017. Farklı hayvan gübrelerinin safran (*Crocus sativus* L.) bitkisinin gelişimine ve bazı özelliklerine etkisi. *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, 20 (Özel Sayı): 327-331. DOI: 10.18016/ksudobil.349277.