

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

KİMYA ANABİLİM DALI

Salvia pinnata L. ve *Salvia bracteata* Banks & Sol. **BITKİLERİNİN UÇUCU
BİLEŞENLERİ ve ANTiOKSiDANT AKTİVİTELERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Serkan ELÇİN

**OCAK 2009
MUĞLA**

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

KİMYA ANABİLİM DALI

Salvia pinnata L. ve *Salvia bracteata* Banks & Sol. **BİTKİLERİNİN UÇUCU
BİLEŞENLERİ ve ANTiOKSİDANT AKTİVİTELERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Serkan ELÇİN

MUĞLA 2009

T.C.
MUĞLA ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

Prof.Dr. Mansur HARMANDAR danışmanlığında **Serkan ELÇİN** tarafından hazırlanan *Salvia pinnata* L. ve *Salvia bracteata* Banks& Sol. bitkilerinin uçucu bileşenleri ve antioksidant aktiviteleri başlıklı tez, .19../ 01../ 2009. tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak oybirliği / oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Mansur HARMANDAR

İmza : 

Üye : Yrd. Doç. Dr. Hasalettin DELİGÖZ

İmza : 

Üye : Yrd. Doç. Dr. Mehmet Emin DURU

İmza : 

Üye :

İmza :

Üye :

İmza :

ÖNSÖZ

Tez çalışmam boyunca, bilgisi, deneyimi ve tecrübesiyle beni yönlendiren değerli zamanını benden esirgemeyen sayın tez danışman hocam Prof. Dr. Mansur HARMANDAR'a,

Tez arazi çalışmalarında, deneyler aşamasında ve bitki uçucu yağının GC, GC/MS analizleri süresince bilgisini, değerli zamanını ve özverisini benden esirgemeyen sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Mehmet Emin DURU'ya

Tez çalışmasında kullandığım bitkilerin botanik tanımlamasını yapan ve arazi çalışmasında dikkat edilmesi gereken hususları bana özenle anlatan Pamukkale Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi sayın Doç. Dr. Olcay Dinç DÜŞEN'e

Deneyisel çalışmalarım esnasında yardımını ve zamanını esirgemeyen değerli çalışma arkadaşım Musa GÖKÇE'ye

Yaşamımda rehber edindiğim ve arazi çalışmamda bana yardımcı olan dayım Hasan TAHTALLI'ya

Bu güne kadar benden desteklerini esirgemeyen değerli aileme,

Ve emeği geçen herkese çok teşekkür ederim.

Serkan Elçin Muğla
02 Ocak 2009

İÇİNDEKİLER	Sayfa No
ÖNSÖZ.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ÖZET.....	V
ABSTRACT.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
TABLolar/ÇİZELGELER DİZİNİ.....	XIV
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	XV
1. G İRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	3
2.1. Çalışmada Kullanılan Bitkilerin Botanik Özellikleri.....	3
2.1.1. <i>Lamiaceae</i> Familyası.....	3
2.1.1.1. <i>Salvia</i> Cinsi.....	3
2.1.1.1.1. <i>Salvia bracteata</i> Banks & Sol.	4
2.1.1.1.2. <i>Salvia pinnata</i> L.	4
2.2. <i>Salvia</i> Türleriyle İlgili Literatür Araştırmaları.....	5
2.2.1. <i>Salvia</i> Türlerindeki Terpenoid Bileşik Çalışmaları.....	5
2.2.2. Uçucu Yağ Çalışmaları.....	7
2.3. <i>Salvia</i> Türlerinin Halk Arasında Kullanımı.....	9
2.4. Uçucu Yağlar.....	11
2.4.1. Uçucu Yağların Eldesi.....	12
2.4.1.1. Su Destilasyonu.....	12
2.4.1.2. Su-Buhar Destilasyonu.....	13
2.4.1.3. Su Buharı Destilasyonu.....	13
2.4.1.4. Kuru Destilasyon.....	14
2.4.1.5. Hidrodifüzyon.....	14
2.4.1.6. Maserasyon İle Distilasyon.....	15
2.4.1.7. Anfloraj (Soğuk Yağ İle Özütleme).....	15
2.4.1.8. Maserasyon (Sıcak Yağ İle Özütleme).....	15
2.4.1.9. Organik Çözücülerle Özütleme.....	15
2.4.1.10. Sıvılaştırılmış Gazlarla Özütleme.....	16
2.4.1.11. Kesiksiz Subkritik Su İle Özütleme.....	18
2.4.1.12. Sıkma İle Yapılan Mekanik Özütleme.....	18
2.4.1.13. Çizerek Özütleme.....	19
2.4.1.14. Mikro Dalga İle Özütleme.....	19
2.4.1.15. Likens-Nickerson Aparatı İle Özütleme.....	20
2.4.2. Uçucu Yağların Elde Edilişlerindeki Değişmeler.....	22
2.4.3. Uçucu Yağların Kullanımı.....	24
2.4.3.1. Uçucu Yağların Tarihi Kullanımı.....	24
2.4.3.2. Uçucu Yağların Günümüzdeki Kullanımı.....	25
2.4.4. Uçucu Yağların Bileşimi.....	26
2.4.4.1. Uçucu Yağda Bulunan Maddelerin Kimyasal Yapılarının Aydınlatılması.....	28
2.4.4.2. Terpenoidlerin Biyosentezi.....	28
2.4.4.3. Terpenoid Bileşiklerin Özütlenmesi.....	31
2.4.4.4. Terpenoid Bileşiklerin Sınıflandırılması.....	32
2.4.4.4.1. Monoterpenler.....	32
2.4.4.4.2. Seskiterpenler.....	33
2.4.4.4.3. Diterpenler.....	35
2.4.4.4.4. Sesterpenler.....	38

2.4.4.4.5. Triterpenler.....	39
2.4.4.4.6. Tetraterpenler.....	39
2.5. Antioksidant Maddeler ve Oksidasyon.....	40
2.5.1. Doğal Antioksidant Kaynaklar.....	41
2.5.2. Fenolik Bileşiklerin Antioksidant Aktivitelerinin Karşılaştırılması.....	42
2.5.3. Antioksidant Aktivite Belirleme Metodları.....	42
2.6. Çalışmanın Amacı.....	46
3. MATERYAL ve METOT.....	48
3.1. Materyaller.....	48
3.1.1. Çözücüler ve Kimyasallar.....	48
3.1.2. Bitkisel Materyal.....	48
3.2. Yöntemler.....	48
3.2.1. Özütleme Yöntemleri.....	48
3.2.2. Uçucu Yağın Kimyasal Analizi.....	49
3.2.2.1. Yoğunluk Tayini.....	49
3.2.2.2. Kırılma İndisi.....	49
3.2.2.3. Optik Çevirme.....	50
3.2.2.4. Gaz Kromatografisi (GC) Analizi.....	50
3.2.2.5. Gaz Kromatografisi / Kütle Spektrometri (GC/MS) Analizi.....	51
3.2.3. Antioksidant Aktivite Analiz Yöntemleri.....	51
3.2.3.1. Toplam Antioksidant Aktivitenin Belirlenmesi.....	51
3.2.3.2. Serbest Radikal Giderim Aktivitenin Belirlenmesi.....	53
3.2.3.3. Toplam Fenolik Bileşik Miktarının Belirlenmesi.....	54
3.2.3.4. Toplam Flavanoid Madde Miktarının Belirlenmesi.....	54
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	55
4.1. Özüt Verimleri.....	55
4.2. Uçucu Yağın Kimyasal Bileşenleri.....	55
4.2.1. Uçucu Yağların Fizikokimyasal Özellikleri.....	55
4.2.2. Uçucu Yağın Kimyasal Bileşenleri.....	56
4.3. Toplam Antioksidant Aktivitenin Belirlenmesi.....	123
4.4. Serbest Radikal Giderim Aktivitenin Belirlenmesi.....	125
4.5. Toplam Fenolik Bileşik Miktarının Belirlenmesi.....	128
4.6. Toplam Flavanoid Madde Miktarının Belirlenmesi.....	129
5. TARTIŞMA ve SONUÇLAR.....	131
5.1. Özüt Verimleri.....	131
5.2. Uçucu Yağın Kimyasal Bileşenleri.....	131
5.3. Serbest Radikal Giderim Aktivite Sonuçları.....	133
5.4. Toplam Antioksidant Aktivite Sonuçları.....	134
5.5. Toplam Fenolik Madde Miktarı Bulguları.....	135
5.6. Toplam Flavanoid Madde Miktarı Bulguları.....	135
KAYNAKLAR.....	137
EKLER.....	153
ÖZGEÇMİŞ.....	155

***Salvia pinnata* L. ve *Salvia bracteata* Banks & Sol. BİTKİLERİNİN UÇUCU
BİLEŞENLERİ VE ANTIOKSİDANT AKTİVİTELERİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Serkan ELÇİN

**MUĞLA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

2009

ÖZET

Yapılan bu çalışmada, Türkiye florasında yetişen 87 *Salvia* türünden iki tanesi olan *Salvia pinnata* ve *Salvia bracteata* bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağ bileşenleri GC/MS sistemi ile analiz edildi. *Salvia pinnata* da 79 ve *Salvia bracteata* da 76 bileşen olmak üzere iki bitkide toplam 119 ayrı bileşen tespit edildi ve kimlikleri aydınlatıldı. *Salvia pinnata* da tespit edilen ana bileşenler α -pinen (%6.45), kamfen (%13.86), β -pinen (%5.79), kamfor (%8.97), borneol (%20.24), izobornil format (%7.02), izobornil asetat (%26.24). *Salvia bracteata* da tespit edilen ana bileşenler ise α -pinen (%10.82), kamfen (%2.17), β -fellandren (%2.93), β -pinen (%24.49), β -mirsen (%4.11), *p*-simen (%2.77), ökaliptol “1,8-sineol” (%4.90), kamfor (%6.77), borneol (%2.94), β -karyofilen (%5.52), γ -kadinen (%3.17), karyofilen oksit (%4.93) dir.

Bu çalışma *Salvia pinnata* ve *Salvia bracteata* bitkilerinin uçucu yağ ve sıralı ekstraksiyonla elde edilen artan polaritedeki özütlerin DPPH serbest radikal giderim aktivitesi ve toplam antioksidant aktivitesi standart antioksidantlar α -Tokoferol ve BHA ile karşılaştırılarak belirlendi. Tüm özütlerde ve uçucu yağlarda konsantrasyon artışına bağlı olarak serbest radikal giderim aktivitesinin ve toplam antioksidant aktivitesinin de arttığı görülmüştür. DPPH serbest radikal giderim aktivitesi analizinde en yüksek inhibisyon değerine hem *Salvia pinnata* hem de *Salvia bracteata* bitkisinde metanol özütü sahiptir. Bitkilerin ve standartların (α -Tokoferol ve BHA) 200 mikrogram konsantrasyondaki metanol özütleri sırasıyla %54.40,

%26.09, %95.55 ve %95.45 inhibisyona sahip olduğu gör÷lmektedir. En yüksek toplam antioksidant aktivite değerine iki bitkide de etil asetat öz÷tleri sahiptir. 100 mikrogram konsantrasyondaki etil asetat öz÷tlerinin ve standartların inhibisyon değerleri sırasıyla %70.49, %63.02, %93.90, %93.65'dir.

Ayrıca, bu çalışmada artan polariteyle elde edilen öz÷tlerin toplam fenolik madde miktarı ve toplam flavanoid madde miktarı belirlendi. Her iki bitkide de metanol öz÷tleri en yüksek fenolik madde miktarına (*Salvia pinnata* 48.63 µg PEs / mg ve *Salvia bracteata* 35.76 µg PEs / mg) sahipken, etil asetat öz÷tleri iki bitkide de en yüksek flavanoid madde miktarına (*Salvia pinnata* 469.59 µg QEs / mg ve *Salvia bracteata* 486.29 µg QEs / mg)sahiptir.

Anahtar Kelimeler : *Salvia pinnata*, *Salvia bracteata*, Uçucu yağ, Antioksidant aktivite, DPPH, β-Karoten

Sayfa adedi : 155

Tez yöneticisi : Prof. Dr. Mansur HARMANDAR

**CHEMICAL COMPOSITION of the ESSENTIAL OIL of (*Salvia pinnata* L.
and *Salvia bracteata* Banks & Sol.) and DETERMINATION of
ANTIOXIDATION PROPERTIES**

(M. Sc. Thesis)

Serkan ELÇİN

**MUGLA UNIVERSITY
INSTITUTE of SCIENCE and TECHNOLOGY**

2009

ABSTRACT

In this study, volatile compounds from the aerial parts of *Salvia pinnata* and *Salvia bracteata* which are grown up in Turkey's flora were analyzed by GC and MS system, and total 79 and 76 constituents were identified, respectively. The major constituents of the oil of *S.pinnata* were α -pinene (%6.45), camphene (%13.86), β -pinene (%5.79), camphor (%8.97), borneol (%20.24), isobornyl formate (%7.02), isobornyl acetate (%26.24), whereas those of *S.bracteata* were α -Pinene (%10.82), camphene (%2.17), β -phellandrene (%2.93), β -pinene (%24,49), β -myrcene (%4.11), p-cymene (%2.77), eucalyptol "1,8-cineole" (%4.90), camphor (%6,77), borneol (%2.94), β -caryophyllene (%5.52), γ -cadinene (%3,17), caryophyllene oxide (%4.93).

In this study, hydro-distilled essential oils and hexane, ethyl acetate, methanolic extracts of *S.pinnata* and *S.bracteata* were evaluated for their capacity to scavenge DPPH and the total antioxidant activity. The result of the activities were compared with the vitamin E and BHA that they used as a standart antioxidant. For all extracts and essential oils, antioxidant and total (DPPH) radical scaving activity proportionally increases by increase of concentration. The methanolic extracts showed the highest antiradical activity towards the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) of the whole extracts and essential oils of *S.pinnata* and *S.bracteata*.

200 µg concentration of the methanolic extracts and standarts (vitamin E and BHA) showed respectively percent inhibition (%54.40, %26.09, %95.55 and %95.45). The ethyl acetate extracts displayed highest total antioxidant activity from all extracts and essential oils of herbs. 100 µg concentration of the ethyl acetate extracts and standarts displayed respectively inhibition (%70.49, %63.02, %93.90, %93.65).

In addition, in this study the amounts of total phenolic compounds and total flavinoid compounds are determined in the hexane, ethyl acetate, methanolic extracts. For both of that plants, the highest amount of phenolics are achieved from methanol extracts (*Salvia pinnata* 48.63 µg PEs / mg ve *Salvia bracteata* 35.76 µg PEs / mg). On the other hand for them, the highest amounts of flavinoids are achieved from the ethylasetate extracts (*Salvia pinnata* 469.59 µg QEs / mg ve *Salvia bracteata* 486.29 µg QEs / mg).

Key Words : *Salvia pinnata*, *Salvia bracteata*, Essential oil, Antioxidant activity, DPPH, β-Karoten

Page number : 155

Adviser : Prof. Dr. Mansur HARMANDAR

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil No</u>	<u>Sayfa</u>
	<u>No</u>
Şekil 2.1. Biogenetik izopren kuralı.....	27
Şekil 4.1. <i>Salvia pinnta</i> bitkisinin uçucu yağının GC kromotogramı.....	62
Şekil 4.2. <i>Salvia bracteata</i> bitkisinin uçucu yağının GC kromotogramı.....	62
Şekil 4.3. <i>Salvia pinnta</i> bitkisinin uçucu yağının GC/MS kromotogramı....	63
Şekil 4.4. <i>Salvia bracteata</i> bitkisinin uçucu yağının GC/MS kromotogramı	63
Şekil 4.5. <i>cis</i> -3-Hekzen-1-ol'ün kütle spektrumu.....	64
Şekil 4.6. <i>trans</i> -2-Hekzen-1-ol'ün kütle spektrumu.....	64
Şekil 4.7. 3,4-Dimetil pentanol'ün kütle spektrumu.....	65
Şekil 4.8. Trisiklen'in kütle spektrumu.....	65
Şekil 4.9. α -Tujen'in kütle spektrumu.....	66
Şekil 4.10. α -Pinen'in kütle spektrumu.....	66
Şekil 4.11. Kamfen'in kütle spektrumu.....	67
Şekil 4.12. <i>o</i> -Ksilen'in kütle spektrumu.....	67
Şekil 4.13. <i>trans</i> -2-etil-2-hekzen-1-ol'ün kütle spektrumu.....	68
Şekil 4.14. β -Fellandiren'in kütle spektrumu.....	68
Şekil 4.15. β -Pinen'in kütle spektrumu.....	69
Şekil 4.16. 2-Pentilfuran'ın kütle spektrumu.....	69
Şekil 4.17. β -Mirsen'in kütle spektrumu.....	70
Şekil 4.18. 3-Oktan-1-ol'ün kütle spektrumu.....	70
Şekil 4.19. <i>trans</i> -2-Karen-4-ol'ün kütle spektrumu.....	71
Şekil 4.20. <i>p</i> -Simen'in kütle spektrumu.....	71
Şekil 4.21. Ökalyptol (1,8-Sineol)'ün kütle spektrumu.....	72
Şekil 4.22. D-Limonen'in kütle spektrumu.....	72
Şekil 4.23. <i>cis</i> - β -Osimen'in kütle spektrumu.....	73
Şekil 4.24. 2-metil-Benzaldehit'in kütle spektrumu.....	73
Şekil 4.25. <i>trans</i> - β -Osimen'in kütle spektrumu.....	74
Şekil 4.26. γ -Terpinen'in kütle spektrumu.....	74
Şekil 4.27. <i>cis-p</i> -Menth-2-en-1-ol'ün kütle spektrumu.....	75
Şekil 4.28. <i>cis</i> -Linalol oksit'in kütle spektrumu.....	75

Şekil 4.29. <i>trans</i> -Linalol oksit'in kütle spektrumu.....	76
Şekil 4.30. Terpinolen'in kütle spektrumu.....	76
Şekil 4.31. <i>cis</i> -Sabinen hidrat'ın kütle spektrumu.....	77
Şekil 4.32. (E)-2-Desen-1-ol'ün kütle spektrumu.....	77
Şekil 4.33. Linalol'ün kütle spektrumu.....	78
Şekil 4.34. α -Kamfolenal'in kütle spektrumu.....	78
Şekil 4.35. 4-İzopropil-1-metil-2-siklohekzen-1-ol'ün kütle spektrumu.....	79
Şekil 4.36. 6-Kamfenol'ün kütle spektrumu.....	79
Şekil 4.37. Kamfor'un kütle spektrumu.....	80
Şekil 4.38. <i>trans</i> -Pinokarveol'ün kütle spektrumu.....	80
Şekil 4.39. <i>cis</i> - β -Terpineol'ün kütle spektrumu.....	81
Şekil 4.40. <i>cis</i> -Verbenol'ün kütle spektrumu.....	81
Şekil 4.41. Pinokarvon'un kütle spektrumu.....	82
Şekil 4.42. Verbenon'un kütle spektrumu.....	82
Şekil 4.43. Borneol'ün kütle spektrumu.....	83
Şekil 4.44. Terpinen-4-ol'ün kütle spektrumu.....	83
Şekil 4.45. Mirtenal'in kütle spektrumu.....	84
Şekil 4.46. α -Terpineol'ün kütle spektrumu.....	84
Şekil 4.47. Mirtenol'ün kütle spektrumu.....	85
Şekil 4.48. <i>cis-p</i> -Menth-1-en-3-ol'ün kütle spektrumu.....	85
Şekil 4.49. <i>trans-p</i> -Menth-1-en-3-ol'ün kütle spektrumu.....	86
Şekil 4.50. <i>trans</i> -Karveol'un kütle spektrumu.....	86
Şekil 4.51. γ -Elemen'in kütle spektrumu.....	87
Şekil 4.52. İzobornil format'ın kütle spektrumu.....	87
Şekil 4.53. Piperiton'un kütle spektrumu.....	88
Şekil 4.54. <i>p</i> -Mentha-1,8-dien-7-al'ın kütle spektrumu.....	88
Şekil 4.55. Undekanol'ün kütle spektrumu.....	89
Şekil 4.56. Bornilasetat'ın kütle spektrumu.....	89
Şekil 4.57. İzobornil asetat'ın kütle spektrumu.....	90
Şekil 4.58. <i>p</i> -Mentha-1,8-dien-7-ol'ün kütle spektrumu.....	90
Şekil 4.59. Dihidro- β -Ionon'un kütle spektrumu.....	91
Şekil 4.60. Timol'ün kütle spektrumu.....	91

Şekil 4.61. Eugenol'ün kütle spektrumu.....	92
Şekil 4.62. Izobornil propiyonat'ın kütle spektrumu.....	92
Şekil 4.63. Ylangen'in kütle spektrumu.....	93
Şekil 4.64. α -Kubeben'in kütle spektrumu.....	93
Şekil 4.65. α -Kopaen'in kütle spektrumu	94
Şekil 4.66. β -Bourbonen'in kütle spektrumu.....	94
Şekil 4.67. α -Bourbonen'in kütle spektrumu.....	95
Şekil 4.68. δ -Elemen'in kütle spektrumu.....	95
Şekil 4.69. β -Elemen'in kütle spektrumu.....	96
Şekil 4.70. α -Gurjunen'in kütle spektrumu.....	96
Şekil 4.71. β -Karyofilen'in kütle spektrumu.....	97
Şekil 4.72. Kadinen'in kütle spektrumu.....	97
Şekil 4.73. Thujopsen'in kütle spektrumu.....	98
Şekil 4.74. β -Gurjunen'in kütle spektrumu.....	98
Şekil 4.75. Aromadendren'in kütle spektrumu.....	99
Şekil 4.76. Di-epi- α -Sedren'in kütle spektrumu.....	99
Şekil 4.77. <i>allo</i> -Aromadendren'in kütle spektrumu.....	100
Şekil 4.78. γ -Murolen'in kütle spektrumu.....	100
Şekil 4.79. α -Karyofilen (α -Humulen)'in kütle spektrumu.....	101
Şekil 4.80. <i>cis</i> - β -Farnesen'in kütle spektrumu.....	101
Şekil 4.81. γ -Gurjunen'in kütle spektrumu.....	102
Şekil 4.82. Germakren D'in kütle spektrumu.....	102
Şekil 4.83. α -Longipinen'in kütle spektrumu.....	103
Şekil 4.84. β -Ionen'in kütle spektrumu.....	103
Şekil 4.85. Murolen'in kütle spektrumu.....	104
Şekil 4.86. α -Kurkumen'in kütle spektrumu.....	104
Şekil 4.87. β -Selinen'in kütle spektrumu.....	105
Şekil 4.88. α -Selinen'in kütle spektrumu.....	105
Şekil 4.89. (Z,E)- α -Farnesen'in kütle spektrumu.....	106
Şekil 4.90. α -Murolen (α -Amorphen)'in kütle spektrumu.....	106
Şekil 4.91. γ -Kadinen'in kütle spektrumu.....	107
Şekil 4.92. <i>trans</i> -Kalamenen'in kütle spektrumu.....	107

Şekil 4.93. δ -Kadinen'in kütle spektrumu.....	108
Şekil 4.94. β -Seskufellandren'in kütle spektrumu.....	108
Şekil 4.95. <i>trans, trans</i> -Farnesal'in kütle spektrumu.....	109
Şekil 4.96. 9-Metoksi Kalamenen'in kütle spektrumu.....	109
Şekil 4.97. α -Kalakoren'in kütle spektrumu.....	110
Şekil 4.98. Kadala-1(10),3,8-trien'in kütle spektrumu.....	110
Şekil 4.99. Elemol'ün kütle spektrumu.....	111
Şekil 4.100. 3-Hekzen-1-ol benzoat'ın kütle spektrumu.....	111
Şekil 4.101. γ -Elemen'in kütle spektrumu.....	112
Şekil 4.102. Spathulenol'ün kütle spektrumu.....	112
Şekil 4.103. Karyofilen oksit'in kütle spektrumu.....	113
Şekil 4.104. Aristolen epoksit'in kütle spektrumu.....	113
Şekil 4.105. Kubenol'ün kütle spektrumu.....	114
Şekil 4.106. <i>tau</i> -Kadinol'ün kütle spektrumu.....	114
Şekil 4.107. δ -Kadinol'ün kütle spektrumu.....	115
Şekil 4.108. α -Eudesmol'ün kütle spektrumu.....	115
Şekil 4.109. α -Kadinol'ün kütle spektrumu.....	116
Şekil 4.110. Kadalen'in kütle spektrumu.....	116
Şekil 4.111. Alloaromadendren oksit-(1)'in kütle spektrumu.....	117
Şekil 4.112. Leden oksit-(II)'nin kütle spektrumu.....	117
Şekil 4.113. 8-Sedren-13-ol'ün kütle spektrumu.....	118
Şekil 4.114. Aromadendren oksit-(2)'nin kütle spektrumu.....	118
Şekil 4.115. 8-hidroksi-endo-sikloizolongifolen'in kütle spektrumu.....	119
Şekil 4.116. α -Bisabolol'ün kütle spektrumu.....	119
Şekil 4.117. (E)-3-Eikosen'in kütle spektrumu.....	120
Şekil 4.118. Benzil Benzoat'ın kütle spektrumu.....	120
Şekil 4.119. Kaleren epoksit'in kütle spektrumu.....	121
Şekil 4.120. Aristolene epoksit'in kütle spektrumu.....	121
Şekil 4.121. Sıklerol'ün kütle spektrumu.....	122
Şekil 4.122. 3-etil-5-(2-etilbutil)-Oktadekan'ın kütle spektrumu.....	122
Şekil 4.123. All- <i>trans</i> -Squalen'in kütle spektrumu.....	123
Şekil 4.124. <i>Salvia pinnata</i> bitkisinin uçucu yağı, takip eden ekstraksiyon	

ile elde edilen hekzan, etil asetat, metanol özütleri ve standartların α -tokoferol ile BHA'nin toplam antioksidant aktivitesi	124
Şekil 4.125. <i>Salvia bracteata</i> bitkisinin uçucu yağı, takip eden ekstraksiyon ile elde edilen hekzan, etil asetat, metanol özütleri ve standartların α -tokoferol ile BHA'nin toplam antioksidant aktivitesi	125
Şekil 4.126. <i>Salvia pinnata</i> bitkisinin uçucu yağı, hekzan, etil asetat, metanol özütleri ve standartların (α -tokoferol ve BHA) DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri	126
Şekil 4.127. <i>Salvia pinnata</i> bitkisinin uçucu yağı, özütleri ve standartların IC50 değerleri	127
Şekil 4.128. <i>Salvia bracteata</i> bitkisinin uçucu yağı, hekzan, etil asetat, metanol özütleri ve standartların (α -tokoferol ve BHA) DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri	127
Şekil 4.129. <i>Salvia bracteata</i> bitkisinin uçucu yağı, özütleri ve standartların IC50 değerleri	128
Şekil 4.130. <i>Salvia pinnata</i> ve <i>Salvia bracteata</i> bitki özütlerinin toplam fenolik madde miktarları.....	129
Şekil 4.131. <i>Salvia pinnata</i> ve <i>Salvia bracteata</i> bitki özütlerinin toplam flavanoid madde miktarları.....	130
Şekil 4.132. <i>Salvia pinata</i> bitkisinin uçucu yağ ana bileşenlerinin formülleri	132
Şekil 4.133. <i>Salvia bracteata</i> bitkisinin uçucu yağ ana bileşenlerinin formülleri.....	133

TABLolar / ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. <i>Cupressocyparis leylandii</i> (Dall. Et Jacks.) Dall. uçucu yağının değişik pH aralıklarında destilasyonu terpen yüzdelerinin değişimi.....	23
Tablo 2.2. <i>Liquidambar orientalis</i> var. <i>orientalis</i> uçucu yağında bazı terpenlerin su destilasyonu, buhar destilasyonu ve ekstraksiyon yöntemlerine göre miktarlarının değişmesi.....	23
Tablo 4.1. <i>Salvia pinnata</i> ve <i>Salvia bracteata</i> özüt verimleri.....	55
Tablo 4.2. Uçucu Yağların Fizikokimyasal Özellikleri.....	56
Tablo 4.3. <i>Salvia pinnata</i> ve <i>Salvia bracteata</i> bitkilerinin uçucu yağ bileşen verimleri.....	56
Tablo 4.4. <i>Salvia pinnata</i> ve <i>Salvia bracteata</i> bitkilerinin uçucu yağı, takip eden ekstraksiyon ile elde edilen hekzan, etil asetat, metanol özütleri ve standartların α -tokoferol ile BHA'nin β -karoten-linoleik asit sistemindeki toplam antioksidant aktiviteleri	124
Tablo 4.5. <i>Salvia pinnata</i> ve <i>Salvia bracteata</i> bitkilerinin uçucu yağı, hekzan, etil asetat, metanol ve standartların (α -tokoferol ve BHA) DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri	126
Tablo 4.6. <i>Salvia pinnata</i> ve <i>Salvia bracteata</i> bitki özütlerinin toplam fenolik madde miktarları.....	128
Tablo 4.7. <i>Salvia pinnata</i> ve <i>Salvia bracteata</i> bitki özütlerinin toplam flavanoid madde miktarları.....	130

SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

BHA	Bütillenmiş Hidroksi Anisol
BHT	Bütillenmiş Hidroksi Toluen
PG	Propil Gallat
TBHQ	Tersiyer Bütil Hidrokinon
DNA	Deoksiriboz Nükleik Asit
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
PEs	Pirokatekol ekivalent
QEs	Kuersetin Ekivalent
FID	Alev İyonizasyon Dedektörü
GC	Gaz Kromatografisi
GC/MS	Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi
GGPP	Geranilgeranil pirofosfat
µg	Mikrogram
ppm	Milyonda bir madde
mL	Mililitre
mg	Miligram
µL	Mikrolitre
°C	Santigrat Derece
eV	Elektron Volt
<i>in vitro</i>	Hücre Dışı (Laboratuar Ortamında)
<i>in vivo</i>	Hücre içi

1. GİRİŞ

Yontmataş (paleolitik) Çağı'ndan beri (M. Ö. 50000-7000 yılları) Anadolu'da yaşamakta olan 'Anadolu insanı' (Umar, 1982) devamlı olarak çevresindeki bitkilerden yararlanmıştır. Bunları gıda, yakacak, silah, ilaç veya mesken yapımı için kullanmıştır. *Allium*, *Origanum*, *Salvia*, *Mentha* ve *Thymus* cinslerinin bazı türlerinde olduğu gibi bitkiler besin maddesi olarak kullanılmalarının yanı sıra koku verici ve tat verici olarak da kullanılmaktadırlar (Baytop, 1984).

Bitkilerin hastalıkların tedavisinde kullanılmasının ilk bilimsel izleri ve yazılı delilleri 5000 yıl öncesi Çin, Hint ve Yakındoğu medeniyetlerine kadar uzanmaktadır. Anadolu'da 2000 yıl önce Hititler'in haşhaş, badem, hardal, mazı, meyan, üzerlik, soğan, söğüt vb. bitkileri kullandıkları bulunmuştur. Bitkilerden elde edilen ilk etken madde 1805'te Alman Kimyacı Serturme tarafından afyon bitkisinden izole edilen morfindir. Bunu 1820 de kınakınanın kabuklarından kinin, 1868 de yüksük otu (*Digitalis*) yapraklarından kalp yetmezliği tedavisinde kullanılan digitalin ve 1890 da söğüt dalı kabuğundan asetil salisilik asidin izolasyonu takip etmiştir. Daha sonraları doğal ilaçların sentetik türevleri sentezlenerek insanların hizmetine sunulmuştur. Bazı doğal ilaçların laboratuarda sentezi pahalı bir işlem olduğu için hala bitkisel droglardan elde edilmektedir. Sentetik olarak elde edilen ilaçların istenmeyen yan etkilerinin olması, insanları tekrar doğal kaynaklı ilaçları kullanmaya yönlendirmiştir. Bitkisel drogların tedavide kullanılmasının başka bir üstünlüğü birkaç etkiye birden sahip olmalarıdır. Oysa sentetik ilaçlar sadece tek etkiye sahiptirler. Bu amaçla yeni doğal ilaç ham maddeleri bulmak üzere bitkiler üzerinde yapılan araştırmalar gün geçtikçe artmaktadır (Baytop, 1984).

Türkiye değişik iklim ve ortam koşullarına sahip olması ve üç floristik bölgenin birleştiği bir kesimde bulunması nedeniyle bitki türü bakımından Avrupa ülkelerinden daha zengindir. Ülkemiz florasında yaklaşık olarak 10.000 kadar tür yetişmekte ve bunlardan 650 kadarı halk hekimliğinde tedavi amacıyla kullanılmaktadır (Baytop, 1984).

Dünya üzerinde yetişen çeşitli bitkilerin, etken madde bakımından çok azının araştırılmış olduğu göz önüne alınırsa, bitkiler âleminde daha birçok bitkinin keşfedilmeyi beklediğini söyleyebiliriz (Baytop, 1984; İlisulu, 1992).

XX. yüzyılda sanayileşmenin dünyamıza getirdiği kitle üretimi, ilaç sanayinde sentetik ilaçlar lehinde bir gelişim gösterdiğinden, bitkisel ürünlerin kullanımı gittikçe azalma eğilimindeydi. Ancak, sentetik ilaçların arzulanmayan yan etkilerinin çokluğu ile Seveso ve Bhopat facialarının yaşanması insanlara doğanın önemini hatırlatmış ve alternatif arayışlar içine itmiştir (Başer, 1990).

Dünyada ilaç, kozmetik, parfümeri ve gıda sektörlerinde bitkisel ürünlere olan talep sürekli artış göstermektedir. Bu eğilim “Doğaya Dönüş” sloganıyla simgelenmekte “Yeşil Devrim” ve “Yeşil Dalga” gibi çarpıcı isimlerle de önemi vurgulanmaktadır (Başer, 1990).

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Çalışmada Kullanılan Bitkilerin Botanik Özellikleri

2.1.1. *Lamiaceae* Familyası

Salvia cinsini de içeren *Lamiaceae* (*Labiatae*) familyası bir ya da çok yıllık, genellikle salgı tüylü ve kokulu, otsu veya çalimsı bitkileri içermektedir. Gövde genellikle dört köşeli, yapraklar stipulasız, basit veya parçalı, karşılıklı çaprazdır. Çiçekler braktelerin koltuğunda yalancı vertisiller halinde, brakteler yapraklara benzer veya onlardan farklıdır. Çiçekler genellikle erdişidir. Kaliks 5 sepalli, sinsepal. Korolla 5 petalli, sinpetal, genellikle belirgin iki dudaklıdır. Stamenler 4 ve didinam, bazen ikinci konnektif iyi gelişmiştir. Ovaryum üst durumlu, 2 karpelli. Stilus ginobazik. Meyva 4 nukstan ibaret şizokarpdır (Davis, 1982).

Bu familyada 200 cins ve 3500 tür bulunmaktadır (Heywood, 1979). Türkiyede doğal olarak yetişen 43 cins vardır. *Lamiaceae* bitkileri özellikle terpenoid bileşikler yönünden zengindir, ayrıca flavonoidler, uçucu yağlar, az da olsa kinoid yapıda maddelerle bazen basit alkaloidleri de taşırlar.

2.1.1.1. *Salvia* Cinsi

Labiatea familyasına bağlı olan ve uçucu yağ içeren *Salvia* türleri özellikle Akdeniz Bölgesinde yaygın durumdadır. *Salvia* cinsine bağlı bitkiler tek veya çok yıllık otsu veya çalimsıdırlar. Özellikle çiçekleri bariz iki dudaklıdır ve dört adet stamen bulunur. Stamenlerin özel yapıları vardır, konektif iki kol şeklinde uzamış, uzun kolun ucunda verimli teka, kısa kolun ucunda ise plak şekline dönüşmüş verimsiz teka bulunur.

Salvia cinsi 91 adet tür içermekte ve bunlardan iki tanesi ülkemizde de yetişen *Salvia bracteata* ve *Salvia pinnatadır*.

2.1.1.1.1. *Salvia bracteata*

Bazen tabanda yayılım gösteren çok yıllık bitkileridir. Gövde birkaç parçalı 20-50 cm, morumsu-kırmızımsı renkte, yükselici yada dik, yoğun glandalı (salgı) yumuşak tüylü, bazen glandsız yumuşak tüylü. Yapraklar ovate-oblaong, uç segmentler 2,5-7x1,5-3,5 cm 1-2 parçalı küçük yan segmentler, yoğun glandsız yumuşak tüylüdür. Petiolate (çiçek sapı)1-5 cm, seyrek silli yapıda. Çiçek durumu penikulate, çevresel çiçek durumu 5-10 çiçekli, hemen hemen zarımsı yapraklarla aralanmış haldeler, 15-30x9-17 mm brakteler çok sayıda, morumsu kırmızımsı, brakteoller mevcut. Pedisel 1-5 mm Kaliks tüb-huni şeklinde, 12-16mm, hemen hemen meyvede bulunmakta, gladlı-tüylü. Korolla pembeden morumsu kırmızıya dönen renkte, 20-30 mm. Korolla tübü 14-20 mm bariz şekilde halkalı yapıda, üst dudak düz şekilde. Stamenler (erkek organ) fındıksı küresel yapıda 3,5x3 mm. Çiçeklenme 5-7 aylar volkanik kayalar ve kalkerli yamaçlarda *Quercus brantii* ile birlikte bulunur, nadasa bırakılan alanlar, üzüm bağları kenarları, yol kenarları boş ekilmemiş arazilerde 50-2000 m arasında bulunur.

2.1.1.1.2. *Salvia pinnata*

Gövdeler 60 cm'ye kadar olan toprak üzerinde yatık 4 (dört) köşeli, yoğun glandlı yumuşak tüylü çok yıllık bitkiler. Yapraklar düzensiz pinnatisek, uçtaki segmentteki yapraklar ovate-oblong 7x4 cm'e kadar boylanır ve 2-5 parçalı sapsızdır. Ya da yan segmentteki yapraklar düzensiz sıralıdır, hemen hemen zarımsı oymalı-kestane dişli, glandlı tüylü, saplar 4-12 cm. çevresel dizilmiş çiçek durumu 4-6(-9) mm ovate, çabuk düşücü. Çiçek sapı 12-15(20)mm, dik yayık. Kaliks testi şeklinde az çok morumsu kırmızılı, 12-15 mm, meyvede hemen hemen açılmış durumda yoğun gladlı (salgı organı) tüylü; üst dudak tepesi kesik biçimde, belli belirsiz üçlü dişli, korolla açık mor-pembe, 25-30 mm, korolla tübü dereceli bir şekilde boğaza doğru genişler, uzunluğuna tüyler içerir. Üst korolla dudağa dik alt dudak küçüktür. Erkek organlar (stamenler) fındıksı küre şeklinde, 2,5x2,25 mm. Çiçeklenme 3-5 aylar arası hububat alanlar ve nadasa bırakılmış alanlarda, kuru çayırlarda bulunur. Deniz seviyesinden-1060 m'ye kadar bulunur.

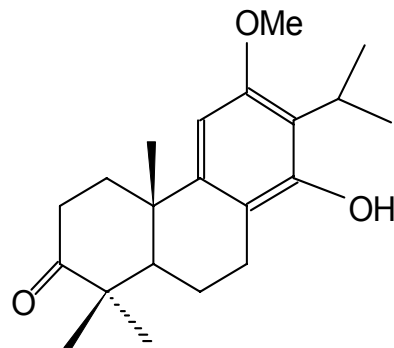
2.2. *Salvia* Türleriyle İlgili Literatür Araştırmaları

2.2.1. *Salvia* Türlerindeki Terpenoid Bileşik Çalışmaları

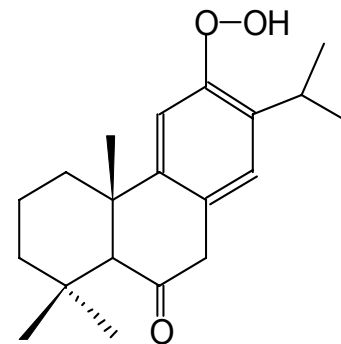
Yapılan literatür çalışmalarında, *Salvia* türlerinden daha çok diterpen ve triterpen türü bileşiklerin izole edildiği görülmüştür. Ayhan Ulubelen ve arkadaşları Antalya yöresinden topladıkları *Salvia potentillifolia* bitkisi üzerinde terpenoid bileşik çalışmaları yapmışlar ve Soxhlet aparatı ile elde edilen aseton ekstraktından hormininon, 7 α -asetilhormininon, ferruginol ve cryptanol olmak üzere dört diterpen izole etmişlerdir. Daha önceki bir çalışmada *Salvia potentillifolia* köklerinden kratogolik asit, oleanolik asit, vergatik asit, β -amirin ve β -sitosterol gibi triterpen bileşiklerini izole etmişlerdir (Ulubelen, 1987).

Bir çalışmada Filistin'in güney bölgelerinden toplanan, yaygın olarak ülkemizde de uçucu yağı bağırsak ve mide şikâyetlerinin giderilmesinde kullanılan *Salvia triloba* bitkisinden yeni bir triterpen olan Palestinol (20 α -hidroksilupan) izole edilmiştir.

A. Ulubelen ve arkadaşlarının bir *salvia* alttürü olan *Salvia multicaulis* ile çalışmasında diterpenoid ve triterpenoid türü bileşikler elde edilmiştir. Bu çalışmada; 3-okso-12 metoksi-14-hidroksiabieta-8,11,13-trien (I) ve 6-okso-12-peroksiabieta-8,11, 13-trien (II) olmak üzere yeni iki adet diterpen izole edilmiştir. Buna ilave olarak da bilinen altı triterpenoid, altı diterpenoid ve sitosterol bileşikleri de izole edilerek yapıları aydınlatılmıştır. Yeni izole edilen diterpen bileşiklerinden iki tanesinin yapısı aşağıda verilmiştir. (Ulubelen, 1998).

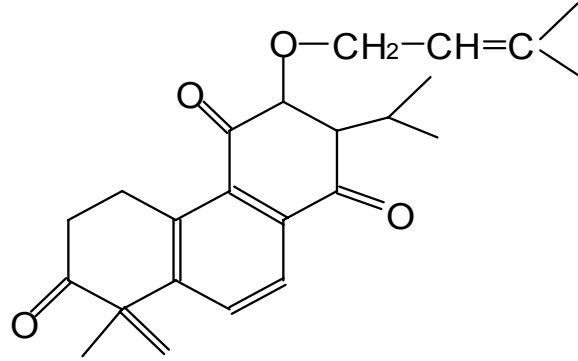


(I)



(II)

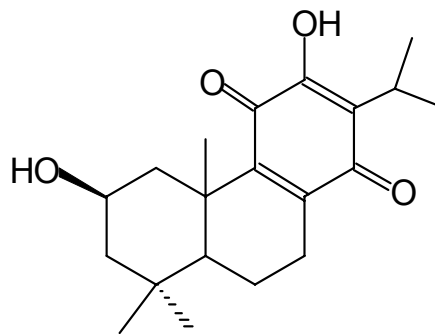
Salvia cyanescens topraküstü kısımları ile yapılan bir çalışmada, bir tanesi yeni olmak üzere altı diterpen, iki seskiterpen ve üç triterpen izole edilmiştir. 12-isopentenil-3-okso-salvipison bileşiği ilk kez bu bitkiden izole edilmiş olup yapısı aşağıda verilmiştir. (Gökdil, 1997).



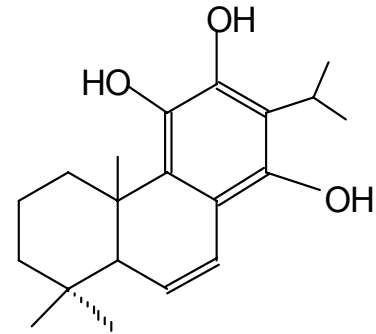
12-isopentenil-3-okso-salvipison

Başka bir çalışmada *Salvia sclarea* bitkisinin köklerinden terpenoid bileşikleri elde edilmiştir. Çalışma sonucunda *Salvia sclarea* bitkisinden; iki triterpenoid, bir steroid ve 12 diterpen bileşiği izole edilmiştir. İzole edilerek yapı tayini yapılan bu bileşikler 3-okso-oleanolik asit ve α -amirindir (Ulubelen, 1997).

Türkiye’de *Salvia* alt türleriyle yapılan başka bir çalışmada 20 *Salvia* türüyle çalışılmış ve 80 adet diterpen bileşiği izole edilmiş, bunlardan 35 tanesi yeni terpenoid bileşiğidir. *Salvia cryptantha* kökleri ile yapılan çalışmada iki tanesi yeni diterpenoid bileşiği olmak üzere bunun yanında bilinen bileşiklerde saflaştırılmıştır. Bu terpenoid bileşiklerin yapıları aşağıda verilmiştir (Tepe vd, 2005).



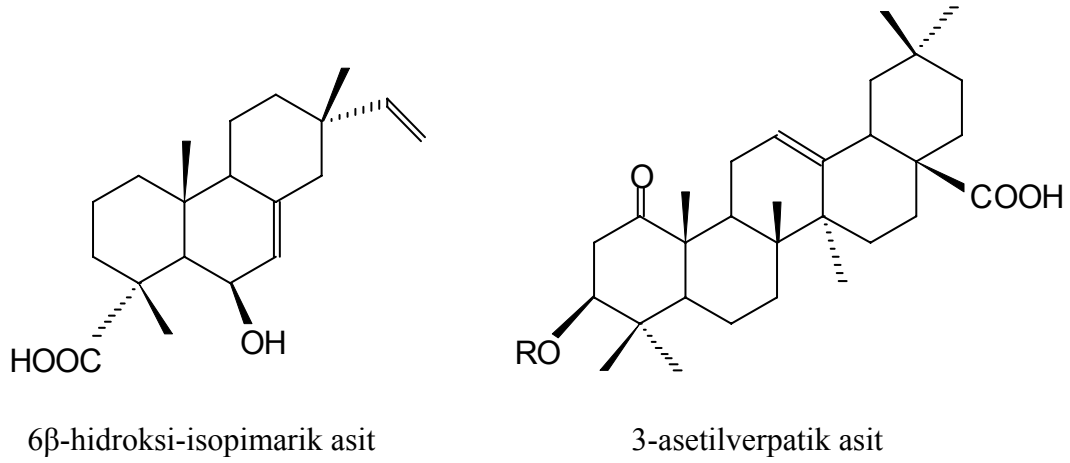
2β-Hidroksiroyleanon



Kriptanol

Salvia caespitosa bitkisinin kökleriyle yapılan başka bir çalışmada dört bilinen diterpen bileşiğinin yanında yeni bir diterpen olan 6β-hidroksi-isopimarik asit izole

edilmiştir. Ayrıca bilinen beş triterpenoid bileşiği yanında bir yeni triterpen, 3-asetilverpatik asit, iki steroid ve bir flavon bileşiği izole edilmiştir (Ulubelen, 2001).



2.2.2. Uçucu Yağ Çalışmaları

Son yıllarda bitkilerden elde edilen uçucu yağ ve değişik ekstraktlar üzerinde yoğun çalışmalar yapılmıştır. Hatta bazı ülkeler ekonomik gelir sağlamak amacıyla bazı bitkilerin kültürlerini oluşturup uçucu yağ ticaretine başlamışlardır. Yapılan literatür taramalarında birçok *Salvia* türünün uçucu bileşenlerinin tayin edildiği görülmüştür (Tepe vd, 2005).

Delamare ve arkadaşları *Salvia officinalis* ve *Salvia triloba*'nın toprak üstü kısımlarından elde ettikleri uçucu yağın kimyasal bileşimini belirlemişler ve ana bileşenleri şöyle belirtmişlerdir. *Salvia officinalis* için 1,8 sineol (%24.80), kamfor (%10.09), borneol (%11.10), δ-gurjunen (%8.20). *Salvia triloba* da 1,8 sineol (%15.70), α-tujen (%20.10), kamfor (%12.60), β-karyofilen (%11.80), viridifrol (%7.52) (Delamare vd, 2007).

Kamatou ve arkadaşları 2006 yılında iki ayrı *Salvia* türü üzerinde yaptıkları çalışmada ana bileşenleri sırasıyla şöyle bulmuşlardır. *Salvia albicaulis*'de 1,8-sineol (%9.4), limonen (%9.4), β-karyofilen oksit (%5.6), viridifrol (%24.5), ledol (%6.6); *Salvia dolomitica* ise linalol (%16.6), geraniol (%19.6), linalil asetat (%19.6), neritol asetat (%4.6) (Kamatou vd, 2007).

2006 yılında Senatore ve arkadaşları *Salvia microstegia* uçucu yağı üzerine yaptıkları çalışmada elde ettikleri uçucu yağdaki ana bileşenleri şöyle belirtmişlerdir.

linalol (%3.1), menton (%4.9), pulegon (%5.7), 4-vinilguasol (%5.3), karyofilen oksit (%6.2), fitol (%2.8), hekzadekanoik asit (%5.1). (Senatore vd, 2006).

Tognolini ve arkadaşlarının 2005 yılında 23 ayrı aromatik bitki (*Anthemis nobilis*, *Artemisia dracuncululus*, *Cannabis sativa*, *Cupressus sempervirens*, *Cymbopogon citratus*, *Curcuma longa*, *Foeniculum vulgare*, *Hypericum perforatum*, *Hyssopus officinalis*, *Mentha spicata*, *Origanum vulgare*, *Pinus nigra*, *Monarda didyma*, *Ocimum basilicum*, *Ocotea quixos*, *Pinus silvestris*, *Piper crassinervium*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis*, *Salvia sclarea*, *Santolina chamaecyparissus*, *Thymus vulgaris*, *Zingiber officinale*) üzerinde yaptıkları çalışmada elde ettikleri uçucu yağlar içinde en fazla tekrarlanan bileşiker; α -pinen (21), kamfen (16), trisiklen (8), β -pinen (16), mirsen (22), *p*-simen (17), *cis*-osimen (13), γ -terpinen (12), linalol (12), kamfor (14), terpinen-4-ol (11), α -terpineol (14), linolil asetat (8), borneol asetat (9), β -bourbonen (10), karyofilen (15), β -kopaen (9), karyofilen oksit (11). (Tognolini vd, 2006).

Tepe ve arkadaşları *Salvia cryptantha* ve *Salvia multicaulis*'in uçucu yağlarının antibakteriyel ve antioksidant aktivitesini incelerlerken uçucu yağda şu ana bileşenlere rastlamışlardır. α -Pinen: *Salvia cryptantha*(18.1), *Salvia multicaulis* (21.9); kamfen: *Salvia cryptantha*(6.4), *Salvia multicaulis*(7.8); β -pinen: *Salvia cryptantha*(4.6), *Salvia multicaulis*(4.7); ökaliptol: *Salvia cryptantha*(15.3), *Salvia multicaulis*(20.1); kamfor: *Salvia cryptantha*(7.7), *Salvia multicaulis*(11.0); borneol: *Salvia cryptantha*(4.7), *Salvia multicaulis*(7.3); mirtenol: *Salvia cryptantha*(3.2); bornil asetat: *Salvia cryptantha*(3.7), *Salvia multicaulis*(3,3); *trans*-sabinen asetat: *Salvia cryptantha*(3.4); karyofilen: *Salvia cryptantha*(3.4), *Salvia multicaulis*(4,2); β -eudesmol: *Salvia cryptantha*(2.4); bornil asetat: *Salvia cryptantha*(3.7), *Salvia multicaulis*(3,3); valeranon: *Salvia cryptantha*(2.5), *Salvia multicaulis*(0,9). (Tepe vd, 2005).

Farhat ve arkadaşları *Salvia libanotica*'nın uçucu yağını dört ayrı sezonda elde etmişler ve elde ettikleri ana bileşenlerin sezonluk değişimlerini şöyle belirtmişlerdir. (Farhat vd, 2001).

Bileşik adı	Ağustos 1998	Ekim 1998	Ocak 1999	Nisan 1999
α -Pinen	3,9	3,1	6,6	5,3
Kamfen	3,0	2,3	4,8	3,1
β -Pinen	5,1	5,5	9,8	9,8
Limonen	2,4	2,2	4,8	6,1
Sineol	57,4	50,0	50,0	47,7
α -Tujen	1,2	1,0	1,9	1,3
β -Tujen	1,1	1,2	1,8	1,2
Kamfor	8,4	7,8	12,3	7,7
Linalol	0,7	0,8	1,2	1,1
Linalil asetat	1,0	0,8	1,2	1,1
Borneol	2,6	2,8	3,9	3,7

2.3. *Salvia* Türlerinin Halk Arasında Kullanımı

Yurdumuzda *Salvia* için endemiklik oranı %50.6'dır (Başer, 1997). *Salvia* türleri terpenler, flavonoidler, antosiyanozitler, saponozitler, ozlar, tanenler, steroller, karotenler ve kumarin tipi bileşikler içermektedirler. *Salvia* türlerinin en önemli etken maddelerini terpenler oluşturmaktadır.

Salvia triloba halk arasında Anadolu adaçayı (Baytop, 1999), elma çalbası, boz şalba, elma çalısı olarak bilinir (Baytop,1997; Baytop, 1999). Muğla yöresinde almiya çalbası veya adaçayı olarak bilinir (Sezik ve Yeşilada, 2002). Batı ve Güney Anadolu'da bu türün yapraklarından hazırlanan infüsyonlar çay olarak geniş miktarda kullanılmaktadır (Baytop, 1997; Baytop, 1999). Yaprakları, kimyasal içeriği ve tedavi edici etkisi bakımından tıbbi adaçayı *Salvia officinalis* yaprağına benzemektedir (Kırimer vd, 1991; Baytop, 1999). Gaz söktürücü, antiseptik (boğaz ve burun hastalıklarında), kuvvet verici ve uyarıcı etkilerinden dolayı dâhilen ve haricen kullanılmaktadır (Baytop, 1999). Bitki ayrıca dişeti iltihaplarında, yüzdeki sivilcelerin kurutulmasında, böbrek ve mesane taş ve kumlarını düşürücü ve

dezenfektan olarak (Kırimer vd, 1991), bebeklerde kabızlığa karşı, soğuk algınlığında, öksürükte ve mide ağrısına karşı (Sezik ve Yeşilada, 2002) kullanılır. *Salvia triloba*'nın ezilmiş yaprakları Kıbrıs'ta antienflamatuvar olarak ve antiseptik özelliklerinden dolayı dermatolojide kullanılmaktadır (Bellomeria vd, 1992).

Salvia triloba tıbbi adaçayı olarak bilinen *Salvia officinalis*'e göre daha keskin kokuludur. Her iki adaçayının uçucu yağı kimyasal bileşim bakımından çok büyük farklılık göstermemekle beraber (Zeybek, 1994; Ceylan, 1996) etken maddelerin oranı çok değişiktir ve bu yönüyle birbirinden ayrılır. Kullanım yönünden *Salvia triloba*, *Salvia officinalis*'e benzemekle beraber *Salvia triloba*'da thujon oranı daha düşük olduğundan çay şeklinde tüketime daha uygundur (Ceylan, 1996).

Bu türden su buharı destilasyonu ile elde edilen uçucu yağ halk arasında elma yağı veya acı elma yağı olarak bilinir (Zeybek, 1994; Kırimer vd, 1991). Uçucu yağın gaz söktürücü, midevi, ter kesici ve idrar arttırıcı etkileri vardır (Kırimer vd, 1991; Baytop, 1999). Haricen yara iyi edici ve antiseptik olarak da kullanılmaktadır (Baytop, 1999).

Diğer *Salvia* türlerine göre daha büyük çiçeklere sahip olan *Salvia tomentosa* Bilecik yöresinde şalba, Afyon yöresinde ise kır çayı olarak bilinir (Sezik ve Yeşilada, 2002). Yaprakları *Salvia fruticosa*'ninki gibi tıbbi adaçayı yerine kullanılır (Baytop, 1999). Halk arasında ağrı kesici olarak, soğuk algınlığı ve astım tedavisinde kullanılmaktadır (İçlim vd, 2001). *Salvia tomentosa* infüzyon ve dekoksasyon halinde çay gibi hazırlanıp aç karnına içilir. Bilecik'te şalba olarak bilinen bitkinin çözültisi, romatizmaya karşı banyo halinde kullanılır. Afyon'da ise kır çayı olarak adlandırılan bitkinin infüzyonu karın ağrısına karşı kullanılır (Sezik ve Yeşilada, 2002). Isparta yöresinde bu türün infüzyonu; genel ve karın ağrısı kesici olarak, iltihaplı yaralarda, soğuk algınlığında, astımda, göğüs yumuşatıcı ve öksürük kesici olarak kullanılmaktadır (Erol, 1996). Güneydoğu Anadolu yöresinde, halk arasında yara iyileştirici olarak ve karın ağrılarına karşı kullanılmaktadır (Ulubelen vd, 1984).

Yabani adaçayı olarak da bilinen *Salvia verbenaca*'nın yaprakları misk adaçayı olarak bilinen *Salvia sclarea* gibi midevi, kabız, terlemeyi azaltıcı ve yatıştırıcı olarak kullanılır. Ancak etkisi daha zayıftır. Tohumlarında bulunan müsilaj Doğu ülkelerinde göz hastalıklarına karşı kullanılmaktadır (Baytop, 1999).

2.4. Uçucu Yağlar

Uçucu yağlar bitkilerden ve bitkisel droglardan su veya buhar destilasyonu ile elde edilen, oda sıcaklığında sıvı olan, kolayca buharlaşabilen karışımlardır ve "uçucu yağ", "eterik yağ", "esans" gibi isimler alırlar (Baytop, 1986).

Uçucu yağlar bitkinin herhangi bir organında bulunduğu gibi familyaya göre bazı organlarda, örneğin salgı tüylerinde, salgı ceplerinde, salgı kanallarında veya salgı hücrelerinde de bulunabilmektedir. Uçucu yağların bitkide protoplazmada bulunduğu ya da hücre duvarının reçinemi tabakasının bozunması ile meydana geldiği ileri sürülmekle birlikte, glikozitlerin hidrolizi ile oluştukları kesinlik kazanmıştır (Savaş Tetik, 1996).

Uçucu yağlar genellikle renksizdirler, fakat uzun süre bekletilirse oksitlenebildikleri ve reçineleşebildikleri için renkleri koyulaşır. Bu nedenle soğukta ve koyu renkli şişelerde saklanmalıdır. Suda az, organik çözücüler ve yağlarda kolaylıkla çözünürler. Sulu etanol de çözünebilme özellikleri ile uçucu yağlar sabit yağlardan ayrılırlar. Yoğunlukları ise karanfil ve tarçın yağları dışında sudan daha azdır. Ayrıca kırılma indisleri yüksek ve optikçe aktiftirler (Savaş Tetik, 1996).

Uçucu yağların bitkilerde biyolojik bir olaya katılmadığı, bitkinin yaralanması sırasında yaprak ve çiçekleri koruduğu, böceklere karşı çekici özellik gösterdiği ve çiçeklerin tozlaşmasına yardımcı olduğu sanılmaktadır (Tyler vd, 1988; Ewans, 1989).

Uçucu yağların büyük bir kısmı parfümeride koku verici madde olarak değerlendirilirken, gıda sanayinde de tat verici olarak kullanılmaktadır. Baharatın besinlere verdiği tat ve koku dışında baharatta bulunan uçucu yağdan ileri gelen koruyucu bir etkisi vardır. Uçucu yağların antiseptik özelliği bakterilerin üremesini yavaşlatmakta ve besinlerin bozulması geciktirmektedir (Tanker ve Tanker, 1990).

Lamiaceae familyasında bulunan birçok Akdeniz bölgesi ve Avrupa bitkisi; *Thymus*, *Lavandula*, *Mentha*, *Melissa* vb türler, değerli uçucu yağ kaynaklarıdır (Tanker ve Tanker, 1990). Bu familyanın *Coridothymus*, *Dorystoechas*, *Lavandula*, *Origanum* ve *Thymbra* cinslerinden bütün türlerin ve *Mentha*, *Salvia*, *Satureja*, *Thymus* ve *Ziziphora* cinslerinden bazı türlerin oldukça değerli uçucu yağ ürettikleri kabul edilmektedir (Karadoğan vd, 2003).

Uçucu yağ içeriklerine göre Lamiaceae yapılan sınıflandırmalarda; *Lavandula*, *Origanum*, *Satureja* ve *Thymbra* türleri yüksek düzeyde (%2'den fazla), *Acinos*, *Calamintha*, *Cyclotrichium*, *Mentha*, *Nepeta*, *Rosmarinus*, *Salvia* ve *Thymus* türleri orta düzeyde (%0.5- 2.0 arasında), *Ajuga*, *Ballota*, *Clinopodium*, *Lamium*, *Marrubium*, *Melissa*, *Micromeria*, *Phlomis*, *Scutellaria*, *Sideritis*, *Stachys* ve *Teucrium* türleri düşük düzeyde (%0.5'den az) uçucu yağ içerenler grubunda sınıflandırılmıştır (Karadoğan vd, 2003).

Uçucu yağların bileşiminde bulunan maddelerin tanınması için, bu maddelerin birbirinden ayrılması gerekmektedir. Bu amaçla çeşitli destilasyon ve kromatografik yöntemler kullanılmaktadır. Kromatografik yöntemler arasında en iyi sonuç gaz kromatografisi ile alınmaktadır. Gaz kromatografisinde ayırım gerçekleştirildikten sonra değerlendirmeler için uçucu yağlarda genellikle alev iyonlaşma dedektörü (FID) kullanılmaktadır. Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi (GC/MS) ile sonuçlar değerlendirilmektedir (Savaş Tetik, 1996).

2.4.1. Uçucu Yağların Eldesi

Gelişmekte olan ülkeler uçucu yağ üretiminde büyük potansiyele sahiptir. Dünya üretiminin %55'i gelişmekte olan ülkelere, %35'i gelişmiş ülkelere, %10'u ise doğu Avrupa ülkelerinde gerçekleştirilmektedir.

Bitkilerden elde edilen uçucu yağ bileşiklerinin kullanım alanlarının çok geniş olması nedeniyle, uçucu yağların izolasyonu ve saflaştırılması büyük önem taşımaktadır. Yaygın olarak kullanılan çözücü ekstraksiyonu ve buhar destilasyon tekniklerinin bazı sakıncalarından dolayı yeni özütleme teknikleri geliştirilmiştir.

2.4.1.1. Su Destilasyonu

Su destilasyonunda materyal su ile birlikte kaynatılır, uçucu yağ ve su buharları bir soğutucuda yoğunlaştırılır. Soğutucudan seperatöre gelen yağ ve su birbirinden ayrılır. Su destilasyonunda bitkisel materyal her zaman su ile doğrudan temas halindedir, su miktarı az olursa materyal aşırı ısınmadan dolayı kavrulabilir ki bu

sebepden dolayı kazan içinde yeterli miktarda su bulunması gerekir (Curtis ve Williams, 1994).

2.4.1.2. Su-Buhar Destilasyonu

Su-buhar destilasyonunda, bitkisel materyal kazanın altında bulunan ısı kaynağı ile doğrudan temas edemez. Bununla beraber kazanın cidarları ısıyı iyi iletir ve kazanın kenarına değen bitkisel materyalde sıcaklık nedeniyle bozunma meydana gelebilir. Bu işlemin dezavantajı kullanılan buhar ıslak olduğu için bitkisel materyal tamamen ıslanır ve bu durum destilasyon hızının yavaşlamasına neden olur. Ayrıca kazanın alt kısmında suyun toplanması geri döngüye neden olur. Riflaks (geri çevirme) kontrolünü sağlayan bir cihaz yerleştirilirse bunun önüne geçmek mümkündür (Lawrence, 1995).

(Lawrence, 1995), su-buhar destilasyonunun su destilasyonuna olan avantajlarını aşağıdaki gibi sıralamıştır:

- Yağ verimi daha yüksektir.
- Yağın bileşikleri hidroliz ve polimerizasyona daha az maruz kalırlar.
- Riflaks kontrol edilirse polar bileşiklerin kaybı en aza iner.
- Su-buhar destilasyonuyla üretilen yağın kalitesinin yeniden üretilebilirliği daha yüksektir.

Su destilasyonuna göre daha hızlı bir işlemdir.

2.4.1.3. Su Buharı Destilasyonu

Bu yöntem, destilasyon kazanının dışında bulunan bir jeneratörde üretilen buharın kazanın içine yerleştirilmiş olan bitkinin içinden geçirilmesiyle uygulanır. Bitkisel materyal buhar girişinin üzerinde yer alan ızgara üzerine yerleştirilir. Buhar kazanının dışarıda olması buhar hızının kontrol edilebilmesini sağlar. Ayrıca bitkisel materyal ile temas eden ısı 100 °C den daha yüksek değildir. Bu şekilde bitkinin sıcaklıkla zarar görmesi önlenmiş olur. Buhar destilasyonu büyük ölçekte uçucu yağ üretimi için en çok tercih edilen işlemdir (Thapa, 1989; Varshney, 1993; Curtis ve Williams, 1994; Lawrence, 1995).

Ayrıca buhar destilasyonu, gliserin gibi yüksek kaynama noktalı bileşiklerin, yağ asitleri gibi kaynama halinde dekompoze olan ve terebentin gibi doğrudan ısıtma sonucunda yapısı bozulan maddelerin ayrımında ve saflaştırılmasında kullanılabilir.

2.4.1.4. Kuru Destilasyon

Kuru destilasyon (parçalayıcı destilasyon) da bitkinin çeşitli kısımları (gövde, kabuk, dal gibi) doğrudan kuru bir şekilde ısıya maruz bırakıldığında bitki içinde bulunan uçucu maddeler kısmen oldukları şekilde, kısmense parçalanarak destile olurlar. Hiç uçucu olmayan maddelerde parçalanarak uçucu maddeler haline gelip distile olurlar. Kuru destilasyon işlemi özel destilasyon aparatlarında yapılır. Ağaç, odun ve dallar kurumaya bırakılır, parçalara bölündükten sonra kazanlara doldurulup distile edilir. Destilasyonla geçen kısımlar su ile soğutulan kondansatörlerde yoğunlaşırlar. Çeşitli kodekslerde bu şekilde elde edilmiş preparatlar vardır. Bunlara katran adı verilir, kayın ağacı katranı ve ardıç katranı örnek olarak verilebilir (Yalçındağ, 1965).

Toros dağlarında toprak içinde küçük çukurlar açılmak suretiyle katran üretilmektedir. Bunun için toprak içinde bir tanesi büyük iki çukur açılır ve içi çamur ile sıvanır. Daha sonra bu iki çukur dip kısmından bir boru ile birbirine bağlanır. Çıralı kök ve gövde parçaları büyük çukura doldurulup üzerleri çamur ile sıvanır. Bu esnada küçük bir yakma deliği bırakılır. Sıvama işlemi tamamlandıncı fırındaki odun parçaları yavaş yavaş yanar ve meydana gelen katran dipteki boru yardımıyla küçük çukurda toplanır. Bu yöntemle “kara katran”, “sarı katran” ve “andız katranı” olmak üzere üç farklı bitkiden katran elde edilebilmektedir (Baytop ve Öztekin, 1984).

2.4.1.5. Hidrodifüzyon

Bu yöntemle elde edilen yağ verimi buhar destilasyonu ile elde edilenden daha yüksektir. Destilasyon süresi kısa ve daha az buhar harcandığı için daha az masraflıdır. Bu yöntemin dezavantajı buhar ve kondanse olan su aşağı doğru hareket ederken uçucu olmayan veya uçuculuğu az olan lipitler, klorofil, yağ asitleri ve kumarinler gibi suda çözünen bazı maddeler yağa geçebilirler (Lawrence, 1995).

2.4.1.6. Maserasyon İle Destilasyon

Glikozit yapısında uçucu bileşik içeren bitkiler, içerdikleri uçucu yağın açığa çıkması için sıcak suyun içinde maserasyona bırakılır. Badem çekirdekleri, soğan, sarımsak, hardal tohumu gibi droglar bu özelliğe sahiptir (Lawrence, 1995).

2.4.1.7. Anfloraj (Soğuk Yağ İle Özütleme)

Hasat edildikten sonra bir gün veya daha uzun süre fizyolojik aktivitelerini devam ettiren çiçekler (yasemin gibi) soğuk yağ ile özütlenirler. Yöntem için genellikle saflaştırılmış domuz yağı iç yağ karışımı gibi kokusuz ve uygun kıvamda bir yağ seçilir ve kenarları tahta çerçeve ile kaplanmış bir cam plak üzerine yayılır ve yağ kaplı bir plak bunun üzerine kapatılır. Taze olarak toplanmış çiçekler yağın üzerine serpilir, bir gün bekletilir ve yerine yenileri konur. Bu işleme yağ tamamen doyuncaya kadar devam edilir ve elde edilen ürüne ‘pomat’ denir. Pomat alkol ile özütlenir, alkolde çözülmüş durumdaki yağ süzülür ve alkol düşük basınçta destilasyonla uzaklaştırılır, ürüne ‘Absolü’ adı verilir (Guenther, 1948; Thapa, 1989).

2.4.1.8. Maserasyon (Sıcak Yağ İle Özütleme)

Yöntemin soğuk yağ ile özütlemekten belirgin farkı, koparma sonucu fizyolojik aktiviteleri hemen duran gül, mimazo, akasya, portakal çiçeği gibi çiçeklerin 60-70 °C sıcaklıktaki yağa daldırılarak özütlenmesidir. Doygun yağ süzülerek ‘pomat’ elde edilir, soğuk yağla ekstraksiyona benzer yolla pomattan alkol özütü ve ‘absolü’ hazırlanır (Guenther, 1948; Thapa, 1989).

2.4.1.9. Organik Çözücülerle Özütleme

Taze bitkisel materyaller petrol eteri, hekzan, metil klorür, benzen, aseton gibi saf çözücülerle, bazı özel durumlarda iki çözücü karışımı ile özütlenebilirler. Özüt, düşük basınçta konsantre yağ veya konkret olarak elde edilir (Thapa, 1989; Wijesekera, 1992).

Özellikle ısıya karşı hassas ve buhar destilasyonu ile elde edilemeyecek kadar küçük miktarda bulunan yağlar bu yöntemle elde edilir. Ancak uçucu yağlarla birlikte kullanılan çözücüde çözünebilen diğer maddeler de özütlenirler. Kullanılacak olan çözücü inert, düşük kaynama noktalı, seçici bir etkiye sahip, ucuz, kolay bulunur ve su ile karışmayan bir çözücü olmalıdır (Thapa, 1989; El-Gammal, 1991; Curtis ve Williams, 1994).

Çözücü ile özütlemenin başlıca sakıncası özütte çözücü artığının kalması ve bu nedenle toksik risk oluşturmasıdır. Ayrıca verimli bir ekstraksiyon için uzun bir süre gerekmektedir. Birde organik çözücüler düşük seçiciliğe sahiptir. Bu nedenle istenen bileşiklere ilave yüksek molekül ağırlıklı ve uçucu olmayan sabit yağlar, reçineler, mumlar ve renk maddeleri de ekstrakte olmaktadır.

2.4.1.10. Sıvılaştırılmış Gazlarla Özütleme (Süpercritical Fluid Extraction,SFE)

Süperkritik akışkanlar, basınç, sıcaklık ve akışkanın bileşimine bağlı olarak gaz ve sıvılar arasında bir özelliğe sahiptir. Vizkoziteleri sıvılarınkinden düşüktür ve difüzyon katsayıları yüksektir. Böylece daha etkili özütleme yapılabilir. Ayrıca yoğunlukları ve dolayısıyla akışkanın çözücü gücü basınç ve sıcaklıkla ayarlanabilir. Bu şekilde teorik olarak yüksek seçicilikle özütleme yapılabilir. SFE sistemi yüksek basınç pompası ve örneği içeren bir özütleme bölgesinden oluşur. Bir organik çözücü ilave edilerek çözme özellikleri artırılabilir. SFE, statik ve dinamik şekilde çalıştırılabilir. Özütlenecek bileşiklerin yapısı (apolar, apolar-polar arası, iyonik yapıda), basınç, sıcaklık ve zaman gibi özütleme parametreleri ve özütlenecek materyalin yapısı (büyük partiküler, aktif yöreler ve su içeriği) SFE ile özütlemeyi etkileyen faktörlerdir. Çevre numuneleri, bitkiler, gıdalar, yağlar ve polimerler gibi geniş bir alanda bir yöntemdir. Polisiklik aromatik hidrokarbonlar, poliklorobifeniller, fenoller, pestisitler, organometalik bileşikler, lipitler, kokulu ve uçucu bileşikler, doğal ürünler, katkı maddeleri gibi çok çeşitli maddelerin özütlenmesi için uygundur. (Di Giacomo vd 1989; Hawthorne vd 1993; Reverchon, 1997; Goodarznia ve Eikani, 1998; Simandi vd 1998; Camel, 2001; Simith, 2003). Son yıllarda gıda, farmasötik ve kimya endüstrilerinde olası uygulamalara ilişkin çalışmalar yapılmıştır. (Bruno ve Ely, 1991).

Kurutulmuş bitkisel materyalin tümü basınç altında sıvı CO₂ ile kolayca özütlenebilir. Sıvı CO₂'in kritik noktası 73 kg/m² basınç ve 31 °C sıcaklıktır. Yöntem esas olarak kritik noktanın yakınında sıvı hale getirilmiş gazın yüksek basınçlı özütleme tankının içinde sirkülasyonudur. Basıncın değiştirilmesi veya tamamıyla buharlaştırmak suretiyle çözücünün hemen hemen tamamı uzaklaştırılır. Ayrılan gaz yeniden kullanım için sıkıştırılır. (Wijesekera, 1992). CO₂, sıvı ve süper akışkan özütleme için tercih edilmektedir. Çünkü kokusuz, tatsız ve renksizdir. Toksik bir çözücü değildir, ucuzdur ve kolayca temin edilebilir. Kalıntı bırakmadan kolayca ortamdaki uzaklaştırılabilir. Oysaki hekzan ve metilen klorür gibi çözücüleri kullanan basit çözücü özütlemelerinde elde edilen son üründe çözücünün tamamını uzaklaştırmak çok zor ve masraflıdır. Düşük viskozitesinden dolayı CO₂ kurutulmuş bitkisel materyal içinde kolayca absorplanabilir. Korozyif değildir, kolayca yanmaz, alkoller, aldehytlar, esterler ve ketonlar gibi güçlü bir çözücüdür. Sıcaklık ve basıncı değiştirmek suretiyle seçiciliği değiştirilebilir. Ayrıca subkritik veya süperkritik CO₂ özütünün kokusu, özütleme işleminin yapıldığı hammaddenin taze dokusuna hemen hemen eşdeğerdir. Oysaki buhar destilasyonu veya bir özütten çözücünün uzaklaştırılması sırasında karışım ısıya maruz kalmaktadır. Bu durum geri dönüşümü olmayan hidroliz, izomerizasyon ve polimerizasyon tepkimelerine neden olur. (Thapa, 1989; Lawrence, 1995; Wijesekera, 1992).

Karbondiyoksit, molekül kütlesi 250'den küçük olan bileşikler için iyi bir çözücüdür. Böyle bileşiklere uçucu yağlardaki hidrokarbonlar ve oksijenli monoterpenler örnek olarak verilebilir. Molekül kütlesi 250-400 arasında olan bileşiklerin sıvı CO₂'deki çözünürlükleri düşüktür. Molekül kütlesi 400'ü aşan bileşikler ise çözünmezler. Sabit yağlar, proteinler mumlar, klorofil ve pigmentler sıvı CO₂'de çözünmediklerinden bu çözücü, özütleme için oldukça kullanışlıdır. (Lawrence, 1995). Saf CO₂, apolar ve düşük polariteli bileşikler için etkili bir biçimde özütler. Polar maddelerinde özütlemesini artırabilmek için ayrıca başka bir çözücünün de ilave edilmesi gerekir. (Camel, 2001).

2.4.1.11. Kesiksiz Subkritik Su İle Özütleme

Bu teknikte, özütleyici olarak dinamik tarzda ve 100-374 °C sıcaklıklar arasında (Suyun kritik noktası 221 bar ve 374°C'dir) su kullanılır. Sıvı halin korunması için yeterince yüksek bir basıncın uygulanması gerekir. Bu teknik, katı numunelerin özütlenmesinde önemli bir alternatif olmuştur. Suyun dielektrik sabiti kolayca kontrol edilebilir. Bu parametre, orta basınç altında sıcaklığı değiştirmek suretiyle geniş bir aralık içinde değişikliğe uğratabilir. Çevre sıcaklığı ve basıncında suyun dielektrik sabiti yaklaşık 80'dir. Yani aşırı bir polar çözücüdür. Bu parametreyi, sıcaklığı orta basınç altında yükseltmek suretiyle çok düşürmek olasıdır. Örneğin 250 °C sıcaklık ve 40 barın üzerindeki bir basınçta subkritik suyun dielektrik sabiti 27'dir. Bu haliyle etil alkole benzer ve düşük polariteli bileşikleri özütlemek için uygun bir hale gelmiş olur. Bu nedenle çevre ölçümleri için alınan numunelerden geniş aralıklarda polariteye sahip atık meddeleri özütlemek olanaklı hale gelmiş olacaktır. Uçucu yağ izolasyonunda bu tekniğin kullanımı yenidir ve oldukça umut vaat etmektedir.(Jimenez-Carmona vd 1999; Rovio vd 1999; Gamiz-Garcia ve Luque de Castro, 2000; Ayala ve Luque de Castro, 2001; Ozel vd 2003).

Kesiksiz subkritik su özütleme sistemi, su tankı, yüksek basınç pompası, paslanmaz çelikten silindirik özütleme bölgesine sahip bir özütleme (Dip kısmı sirülasyona izin verecek şekilde kapatılmış) kısımlarından oluşur. Özütleme bölgesi paslanmaz çelikten yapılmış bir ön ısıtıcı ile birlikte 300 °C'ye kadar ısınabilen bir fırının içine yerleştirilir. Soğutma sistemi fırından çıkan akışkanı soğutmak için kullanılır. Ayrıca değişken özellikli bir sınırlayıcı ile tercih edilen basınç dinamik sistem içinde muhafaza etmek mümkündür (Luque de Castro vd 1999; Gamiz-Garcia ve Luque de Castro, 2000).

2.4.1.12. Sıkma İle Yapılan Mekanik Özütleme

Uçucu yağların bazıları kimyasal kompozisyonları ve doğaları gereği ısıdan etkilendiklerinden destilasyon işlemine tabi tutulmazlar. Örneğin, narenciye meyvelerinden uçucu yağların elde edilmesi için mekanik özütleme uygulanır.

Önceleri meyveler kesilip iç kısımları alındıktan sonra kabukları kolayca özütleyebilmek için bir süre suda bekletilirdi. Presler kullanılarak turunc meyvelerinin kabuklarında bulunan eterik yağ bezleri parçalanır ve yağın açığa çıkması sağlanırdı. Yağ bir sünger yardımıyla alınıp bir kaba sıkılarak elde edilirdi. Bir miktar su içerdiğinden dolayı bulanık olan uçucu yağ bir süre bekletilir ve süzülerek saf hale getirilirdi (El-Gammal, 1991).

2.4.1.13. Çizerek Özütleme

Canlı çam ağaçlarında reçinenin ağaç bünyesinden alınmasında ‘yaralama tekniği’ ve uyarıcılarla ‘tahrik tekniği’ kullanılır. Yaralama tekniğinin çeşitli yöntemlerinden biri olan ‘Oluklu Çizgi Yöntemi’ ülkemizde 1950’li yıllardan günümüze kadar uygulanmıştır. 1980’li yıllarda ise asit-pasta tahrik tekniği deneme maliyetinde uygulanmaya başlamış, daha sonra yaralama tekniği tamamen terk edilerek, bu teknik yaygınlaştırılmıştır (Acar vd, 1996).

2.4.1.14. Mikro Dalga İle Özütleme (Microwave-Assisted Extraction, MAE)

Mikro dalga enerjisi (300-300.000 MHz frekansa sahiptir), iyonların göç etmesi ve dipollerin rotasyonu vasıtasıyla moleküllerin hareketine neden olur. Dipollerin rotasyonu, elektrik alanına bağlı olarak çözücüde ve örneklerde bulunan daimi veya indüklenmiş dipol momentine sahip molekülleri aynı hizaya getirir. Alan şiddeti azaldıkça termal düzensizlik düzgün hale getirilir ve termal enerji açığa çıkar. 2450 MHz (Ticari sistemlerde kullanılan frekans)’de moleküllerin sıralanmasının ardından saniyede $4,9 \cdot 10^9$ kez düzensizliğe geri dönüş olur. Böylece hızla ısınma gerçekleşir. Mikrodalgaya özgü etkiler nedeni ile mikrodalga ile ısıtma işlemi hemen olur ve örneğin tam içinde gerçekleşir. Bu şekilde çok hızlı özütleme yapılabilir. Çoğu durumda özütleme çözücüsü mikrodalgaları absorplar. Sıcaklıkla bozulan bileşikler söz konusu olduğunda, mikrodalgalar sadece ortam tarafından absorplanır, örnek ısınır ve maddeler soğuk çözücüye salıverilirler. Mikrodalganın, bitkisel materyaller üzerindeki etkisi hakkında yapılan çalışmalarda, bez ve damar sistemindeki serbest su molekülleri ile seçici olarak etkileştiği görülmüştür. Hızlı bir ısınma ve sıcaklık

artışı sonrasında hücre duvarlarının bozulduğu ve uçucu yağın çözücü içine salıverildiği belirtilmiştir. Özütlenecek bileşiklerin yapısı (Polar ya da apolar özellikte olmaları), sıcaklık ve zaman dibi özütleme parametreleri, özütlenecek materyalin yapısı (Büyük partiküller, su içeriği) mikrodalga ile özütlemeyi etkileyen parametrelerdir (Camel, 2001).

Mikrodalga ile özütleme, mikrodalga enerjisi yardımıyla çok çeşitli materyallerden çözünür bileşiklerin bir akışkan yardımı ile özütlenmesidir. Teknik, sıvı faz özütlemesi ve gaz faz özütlemesi olmak üzere iki şekilde uygulanabilir. Sıvı faz özütlemesinde özütleme işlemi (Bitkilerde uçucu yağların izolasyonu), mikrodalgaya maruz kalan maddelerin kimyasal doğalarına bağlı olarak mikrodalga enerjisini farklı absorplama yeteneklerine bağlı olarak gerçekleşir. Bu fiziksel özelliği ölçmek için genellikle kullanılan parametre dielektrik sabitidir. Mikrodalga yardımı ile sıvı faz özütlemesinde, materyal özütlemenin gerçekleşeceği düşük dielektrik sabitine sahip ve mikrodalga göreceli olarak geçiren bir çözücüye daldırılır. Tekniğin ilk uygulamaları bitkisel ürünlerden uçucu yağların özütlenmesinde kullanılmıştır. Ayrıca mikrodalga ile özütleme, bitki dokusu içindeki herbisitleri belirlemek için sıvı kromatografisi ile birlikte kullanılabilir (Ganzler vd 1986; Luque de Castro vd 1999; Eskilsson ve Björklund, 2000; Simith, 2003).

2.4.1.15. Likens-Nickerson Aparatı İle Özütleme

Uçucu organik maddelerin doğal kaynaklardan elde edilmesi için kullanılan buhar destilasyonu ve çözücü özütlemesi, uçucu özellikteki maddenin ciddi kayıplara uğramasına neden olabilmektedir. Çünkü yağı içeren çözeltiler uçurma işlemine tabi tutulurlar. Çok saf çözücüler içinde bulunan eser bileşikler bile ppm seviyesinde çalışıldığında analizde hataya sebep olurlar. Çözücü özütlemesi ile uçucu olmayan bileşiklerde özütlenmektedir. Buhar destilasyonunda ise, büyük miktarda numune için faz ayırımı, yoğunlaşma işleminden sonra gerçekleşir. Ancak küçük miktarda (güçlü kokuya sahip fakat az miktarda uçucu yağ içeren çiçekler gibi) veya seyreltik numunelerden maddeyi kazanabilmek için çözücü ile özütleme gerekir. Likens-Nickerson aparatı, buhar destilasyonu ve destilatın kesiksiz sıvı-sıvı özütlemesi için

kullanılan bir ayardır. Yöntemin tek dezavantajı çözücünün uzaklaştırılması işlemdir. (Godeftroot vd 1981). Bu aparat ile atmosfer basıncında ve düşük basınçta çalışma olanağı vardır. (Pollien vd 1998).

Aparat 10-100 mL sulu çözeltili veya 1-20 g su ile karıştırılmış katı maddenin kullanımını sağlar ve distilatın 1 mL pentan veya metilen klorür ile özütlenmesini gerçekleştirir. Bir miktar numune (Gıda, içecek, parçalanmış bitki dokusu gibi) kuru örnekler için bir miktar su ile birlikte örnek balonuna konur. Sistemin diğery balonuna ise sudan daha yoğun olan (Metilen klorür, kloroform vb.) özütleme çözücüsü konur. Bu iki balon ısıtılır; su ve çözücü buharları yoğunlaşmalarını sağlayacak olan soğutucu tüpü içeren ekstraktör gövdesine ulaşırlar. Bu işlemde aroma bileşikleri su buharıyla meteryalden ayrılır ve sıvılar soğutucu tüp üzerinde yağunlaştıklarında çözücü geçer. Su ve çözücü, yoğunlaştıktan sonra ekstraktörde toplanır ve sürekli reflaksı sağlamak üzere kendi balonlarına dönerler. Aparatı modifiye etmek suretiyle sudan daha hafif olan (Pentan ve etil asetat) çözücüleri kullanmakta olanaklıdır. Normal olarak işlem 1 saat sürmektedir. Çözücü özütlemesi ise buhar destilasyonu işlemi kesildikten sonra 20 dakika daha devam etmektedir. Bu şekilde buhar ile distile olabiley maddelerin tümü toplanmış olur. (Poole ve Schuette, 1984; Augusto vd 2003).

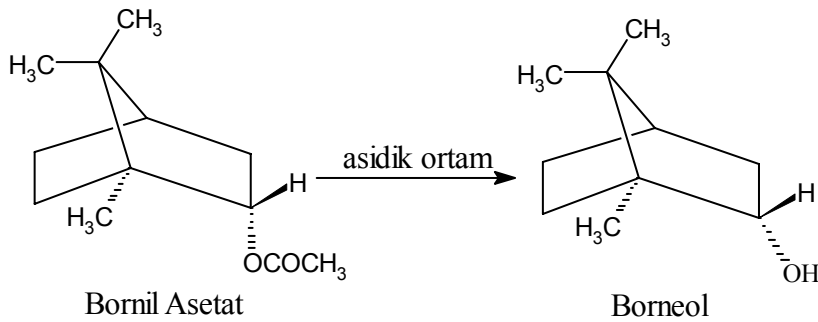
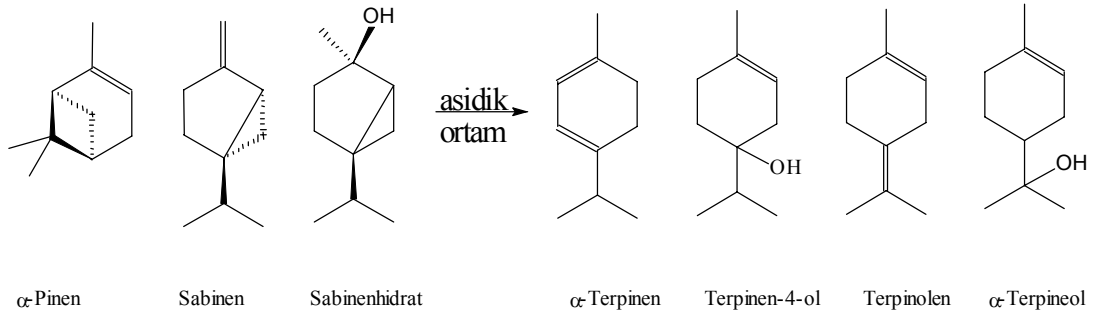
Likens-Nickerson aparatı ile fenollerin (Bartak vd 2000), gıdalarda bulunan tat maddelerinin (Demole vd 1982), uçucu yağ bileşenlerinin (Nunez ve Benelmanz, 1984; Diaz-Maroto vd 2002) sulu örneklerin, yağ/su ve yağ örneklerinin (Au-Yeung ve Mac Leod, 1981) özütlemesine yönelik çalışmalar yapmıştır.

2.4.2. Uçucu Yağların Elde Edilişlerindeki Değişmeler

Destilasyon sırasında uçucu yağın değişikliğe uğrayıp uğramadığının tespiti için birçok araştırma yapılmıştır. Bu araştırmalarda destilasyona bağılı olarak, ortam şartlarında meydana gelen değişiklikler ve bunların uçucu yağının kimyasal yapısı üzerine olan etkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, uçucu yağ ya destilasyon şartlarından veya destilasyon cihazına bağılı olarak değişmektedir. Değişmelere sebep olan faktörleri başlıca destilasyon süresi, tatbik edilen ısı, ortamın pH'sı ve destilasyon aletinin yapısıdır. (Başaran, 1984).

Uçucu yağın bulunduğu dokuya bağlı olarak, tatbik edilen süre değişir. Uçucu yağ dış salgı tüylerinde bulunuyorsa, süre kısa, buna karşılık içteki dokularda bulunuyorsa süre uzundur. Bu süreyi kısaltmak için bitki toz edilir. Fakat Toz etme esnasında meydana gelen ısı materyalin taşıdığı uçucu yağın bir kısmının kaybolmasına ve yapısının değişmesine sebep olabilir. Bu nedenle toz etme işlemi, sıvı azot veya karbondioksit karı ile sağlanan düşük ısıda yapılmalıdır (Duru,1993).

Destilasyon ısısının uzun süre tatbik edilmesinden dolayı uçucu yağın yapısında bulunan maddelerde bazı değişiklikler meydana gelir. Özellikle düşük polariteye sahip hidrokarbonlar bu durumdan kolayca etkilenirler. Ayrıca, kaynama noktasında uzun süreli ısı tatbikinden dolayı, ortamın pH'sı asite doğru kayar ve bazı terpenlerin yapıları değişir. Uçucu yağda bulunan sabinen, sabinen hidrat ve α -pinen, asidik ortamda terpinen-4-ol, α -terpinen, terpineolen ve α -terpineol'e döner. Bornil asetat ise borneole dönüşmektedir. Araştırmalarda incelenen maddelerin çeşitli pH aralıklarında % miktarları tablo 2.1.'de verilmiştir.



Tablo 2.1. *Cuprassocyparis leylandii* (Dall. Et jacks.) Dall. Uçucu yağının değişik pH aralıklarında destilasyonu terpen yüzdelерinin değışimi

Terpen/pH	2,2	3	4	5	6	7	8
α -Pinen	13,9	14,7	15,4	15,9	16,3	16,4	16,4
α -Tujen	0,5	0,9	1,2	1,4	1,6	1,7	1,7
Sabinen	6,0	13,8	21,4	26,9	32,3	35,5	37,2
α -Terpinen	10,5	7,0	5,0	3,6	2,6	1,8	1,5
γ -Terpinen	12,24	1,07	7,9	5,9	4,0	3,1	2,4
Terpineolen	5,8	4,9	4,1	3,8	3,3	3,0	2,9
Sabinen hidrat	0,2	0,2	0,3	1,0	2,8	3,7	4,2
Terpinen-4-ol	23,3	20,7	17,0	12,8	8,0	6,3	5,2
α -Terpineol	2,8	2,1	1,4	1,2	0,9	0,9	0,8
Bornil Asetat	18,0	-	-	24,1	-	36,0	-
Borneol	16,5	-	-	11,7	-	4,2	-

Duru ve arkadaşları metot farklılığına göre uçucu yağların kimyasal bileşimlerdeki değışmeler üzerine araştırma yapmıştır. Bu araştırmada ekstraksiyon sonucu elde edilen uçucu yağ ile detilasyon sonucu elde edilen uçucu yağ arasında önemli farklılıklar gözlenmiştir (Duru, 2003). Bu sonuçlar aşağıdaki Tablo 2.2.'de verilmiştir.

Tablo 2.2. *Liquidambar orientalis* var. *orientalis* uçucu yağında bazı terpenlerin su destilasyonu, buhar destilasyonu ve ekstraksiyon yöntemlerine göre miktarlarının değışmesi

Terpenler	Su Destilasyonu (%)	Buhar Destilasyonu (%)	Ekstraksiyon (%)
α -pinen	6,30	4,1	2,6
Sabinen	13,0	11,0	7,0
α -Terpinen	9,0	1,1	1,0
γ -Terpinen	15,0	6,3	4,8
Mentol	0,5	1,9	2,4
Terpinen-4-ol	35,0	22,0	15,0
α -Terpineol	1,9	25,0	29,0
α -Farnesen	0,2	1,0	2,5

Tabloda görüleceği üzere ekstrakte edilmiş uçucu yağda α -pinen, sabinen, α -terpinen, γ -Terpinen ve terpinen-4-ol miktarları düşerken; α -Terpineol, α -Farnesen ve mentol miktarları da dikkat çeken oranda artışlar göstermektedir. Bu durum ilgili bileşiklerin drogtan kazanımı sırasında ısı ile değiştiğini göstermektedir.

2.4.3. Uçucu Yağların Kullanımı

Gıda üretim tekniklerindeki modern gelişmelere rağmen hala gıda güvenliği önemli bir sağlık sorunu halindedir (WHO, 2002a). Endüstriyel ülkelerdeki insanların %30'dan daha çoğunun her yıl gıda kökenli hastalıklara yakalandığı belirtilmektedir ve 2000 yılında dünyada en az 2 milyon kişinin ishalden öldüğü bilinmektedir (WHO, 2002a). Bu yüzden gıdalarda bulunan ve hastalık yapan türlerin azaltılmasında ve yok edilmesinde mevcut tekniklere adapte edilebilecek yeni yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Batılı toplumlar, çevreye daha az zarar veren sentetik katkı maddeleri ve ürünleri az tercih ettiklerinden, yeşil tüketici (Green) olma konusunda oldukça duyarlı oldukları gözükmemektedir (Tuley de Silva, 1996; Smid and Gorris, 1999).

Ayrıca Dünya Sağlık Örgütü, kalp damar rahatsızlıklarını azaltmak için dünya genelinde tuz kullanımının azaltılmasını istemektedir. (WHO,2002b). Bu doğrultuda şayet üretilen gıdalardaki tuz oranı azaltılırsa, gıdaların bozulmasını önlemek amacıyla diğer katkı maddelerine başvurulması kaçınılmaz olacaktır. Bu yüzden doğal ve yeşil orijinli güvenilir gıda üretimi yeni tekniklerin kullanılabileceği oldukça çok alan bulunmaktadır. Bu tekniklerden birisi de anti bakteriyel ve antioksidan katkı maddesi olarak uçucu yağların kullanılmasıdır.

2.4.3.1. Uçucu Yağların Tarihi Kullanımı

Eski çağlardan beri baharatlar, parfüm, tat ve koruma amaçlı kullanılmalarına (Bauer vd 2001) rağmen Roma ve Yunan tarihinde uçucu yağlardan sadece neft yağı olarak bahsedilmiştir (Guenther, 1948). Doğuda (Mısır, Hindistan ve İran) destilasyon, uçucu yağların elde edilmesinde 2000 yıldan beridir kullanılmaktadır (Guenther, 1948). Daha sonraları Araplar tarafından 9.yy.'da geliştirilmiştir. (Bauer

vd 2001). Uçucu yağların destilasyonu ile ilgili ilk orijinal örnekler Katalan doktor Villanova tarafından yazılmıştır (Guenther, 1948). 13.yy'a kadar uçucuyağlar eczacılar tarafından elde edilmiş ve bunlar farmakolojik etkileri farmakoloji kitaplarında belirtilmiştir (Bauer vd 2001). Fakat Londra'da ticari amaçlı kullanılmasına değin 16.yy'a kadar yaygın bir kullanım alanı bulmamıştır (Crosthwaite, 1998). Bu yüzyılda uçucu yağların kullanımı ve destilasyonu üzerine ilk yayınlar iki Strassburg'lu doktor olan Brunscwing ve Reiff tarafından yayımlanmıştır. Fransız doktor Du Chesne'e göre 17.yy.'da uçucu yağların hazırlanması iyi bilinirdi ve bu amaçla 15-20 uçucu yağın stoklandığı da belirlenmektedir (Guenther, 1948). Çay ağacı yağını daha önceleri yerli Avustralyalıların kullanmış olması ihtimali yüksek olmasına rağmen, Avustralya'nın sömürgeleşmesi nedeniyle medikal amaçlı kullanımı 19.yy.'da belgelenmiştir (Carson ve Riley. 1993). Uçucu yağların bakteriyel özelliklerinin ilk deneysel ölçümlerinin 1881 yılında De La Croix tarafından gerçekleştirildiğini söylenmektedir (Boyle, 1955). Diğer taraftan 19. ve 20.yy. boyunca tıp alanında uçucu yağların kullanımı, tat ve aroma olarak kullanımlarına oranla daha az olmuştur.

2.4.3.2. Uçucu Yağların Günümüzdeki Kullanımı

Avrupa Birliğinde uçucu yağların en geniş kullanım alanları arasında gıda (çeşni olarak), parfümeri (güzel koku ve tıraş losyonu olarak) ve ilaç (fonksiyonel özelliklerinden faydalanmak için) sanayi yer almaktadır (Bauer ve Garbe, 1985; Van Welie, 1997; Van de Braak ve Leijten, 1999). Uçucu yağların aromaterapideki kullanımı toplam pazarın %2'sinden az fazladır (Van de Braak vd Leijten, 1999). Diğer taraftan gerek sentetik gerekse bitkilerden özütlenen uçucu yağın önemli bileşenleri gıda çeşnisi olarak kullanılmaktadır. (Oosterhaven vd 1995).

Uçucu yağların antibakteriyel özellikleri ve bileşenleri, diş kökü kanallarının açılması antiseptik (Bauer ve Garbe, 1985; Cox vd 2000) ve mayalı ekmekler için katkı maddesi olarak (Van Krimpen ve Binnendijk, 2001) oldukça farklı alanlarda kullanılmaktadırlar. Uçucu yağları içeren birkaç koruyucu ve katkı maddesi halen yaygın olarak kullanılmaktadır. DOMCA S.A. (Alhendî'n, Granada, İspanya) tarafından üretilen "DMC Base Natural" gıda koruyucusu olarak kullanılmakta ve bu

ürün %50 ada çayı ve biberiye uçucu yağı ile özütlerinden üretilen “Protecta One” and “Protecta Two” ürünleri karıştırılarak hazırlanan yeni ürün Amerika da güvenli gıda katkı maddesi olarak bilinir ve bu özütlerde bir yada daha çok uçucu yağ bulunduğu bilinmektedir (Cutter, 2000). Uçucu yağların fizyolojik etkilerinden patates filizlenmesinin engellenmesi (Hartmans vd, 1995) ve böceklerin uzaklaştırılması (Carson ve Riley, 1993) gibi oldukça farklı alanlarda kullanılmaktadır.

2.4.4. Uçucu Yağların Bileşimi

Uçucu yağlar, terpenik hidrokarbonlar (alifatik, monosiklik, bisiklik ve seskiterpen) ve bunların oksijenli türevlerinin (alkol, aldehit, keton) karışımıdır. Terpenik maddelerden oksijensiz olanlar çoğunlukla kolay uçucudurlar ve uçucu yağlar soğutuldukça, oldukça düşük derecelerde bile sıvı halde kalırlar (Baytop, 1986).

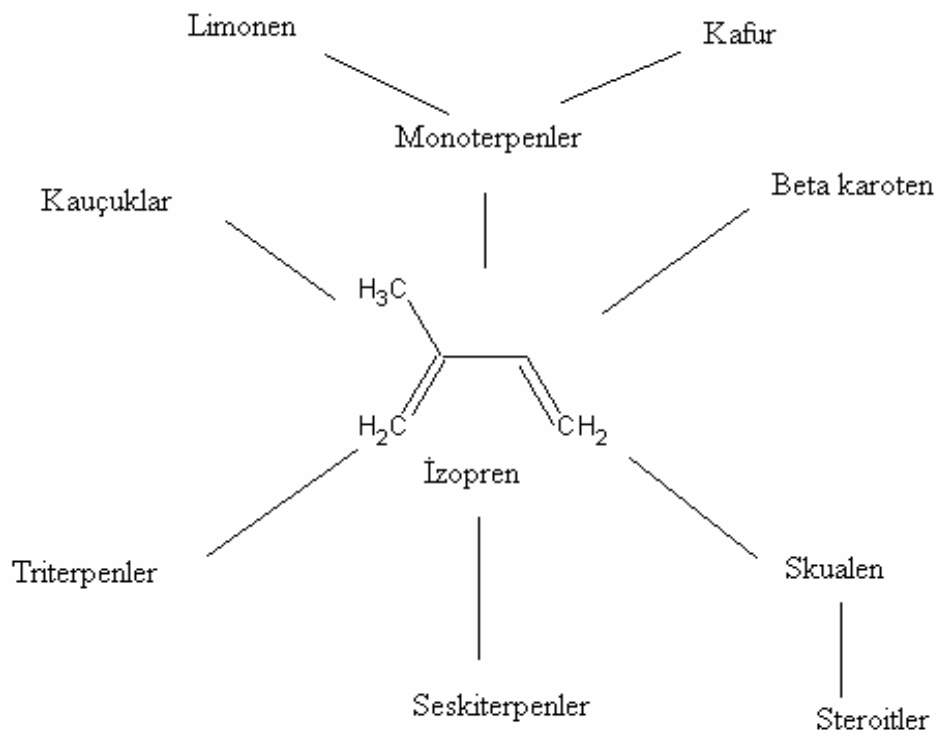
Terpenler ($C_{10}H_{16}$), izopren (C_5H_8) birimlerine bölünebilen doğal ürünler olarak tanımlanmaktadır ve karbon sayısına göre isimlendirilirler. Hemiterpenler (C_5H_8) bir izopren ünitesinden, monoterpenler ($C_{10}H_{16}$) iki izopren ünitesinden, seskiterpenler ($C_{15}H_{24}$) üç izopren ünitesinden, diterpenler ($C_{20}H_{32}$) dört izopren ünitesinden, triterpenler ($C_{30}H_{48}$) altı izopren ünitesinden meydana gelirler. Uçucu yağların bileşiminde daha çok mono ve seskiterpenler yer alırlar (Tyler vd, 1988).

Bitkilerde terpen kökenli maddelerin biyosentezi fotosentez siklusunda glikoz oluşumu ile başlar. Glikoz, asetilkoenzim A' ya dönüşür ve asetilkoenzim A çeşitli biyosentetik basamaklardan sonra mevalonik asiti ve o da izopren çekirdeğini (C_5H_8) verir (Savaş Tetik, 1996).

İzopren tüm terpenik maddelerin biyosentezinde temel maddedir. İki molekül izopren geranilpirofosfat ve izomerleri pirofosfat ve linalil pirofosfatı verir. Monoterpenler bu üç izomerden sentezlenir. Seskiterpenler ise bir molekül izopren katılımıyla oluşan farnesil pirofosfattan (15 C'lu) türetilir. İki geranilpirofosfat molekülü geranilgeranil pirofosfat (GGPP)'ı oluşturur. Bu da diterpen sentezinde temel moleküldür (Ewans, 1989).

Tıbbi açıdan önemli olan bu metabolitler biogenetik olarak gruplandırılmışlardır. Bu grupların bir kısmı iskelet yapılarına göre karakterize edilebilmişlerdir. Fonksiyonel grupların belirlenmesi ile bileşiklerin kimyasal yapıları tam olarak aydınlatılmıştır. Böylece terpenler ve terpen olmayan maddeler kimyasal özelliklerine göre (terpenler alkoller, eterler, ketonlar diye; terpen olmayan maddeler ise alifatik orijinli veya aromatik olarak) sınıflandırılmışlardır (Savaş Tetik, 1996).

Bitkilerin sekonder metabolizma ürünleri, bitkisel drogların ana maddesini oluşturur ve hücrenin metabolizmasında gerçekleşen siklulara bağlıdır. Bitkilerdeki terpen yapılarının oluşumu son yıllarda aydınlatılmaya başlanmış ve 'biogenetik izopren kuralı' oluşturulmuştur. Bu kurala göre düzenlenmiş yapılar ise şekil 2.1.'de belirtilmiştir (Savaş Tetik, 1996).



Şekil 2.1. Biogenetik izopren kuralı

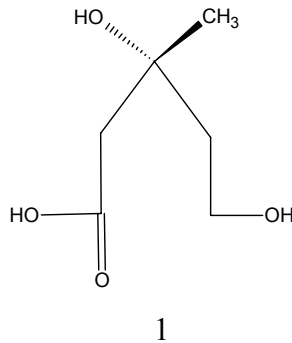
2.4.4.1. Uçucu Yağda Bulunan Maddelerin Kimyasal Yapılarının Aydınlatılması

Uçucu yağların kimyasal bileşiminin aydınlatılabilmesi için önceleri kolon kromatografisi yardımıyla bir ön fraksiyonlama işlemi yapılırdı. Uçucu yağ ve elde edilen fraksiyonlar ince tabaka kromatografisine tatbik edilirdi. İTK ile uçucu yağdaki maddeler şahit maddeler yardımıyla anlaşılma ile beraber, bunların bağlı oranları belirlenemezdi. Gaz kromatografisi yönteminin gelişmesi ile uçucu yağların bileşimini oluşturan maddelerin neler olduğu ve oranlarının ne düzeyde bulunduğu bu yöntemle belirlenmeye başlandı.

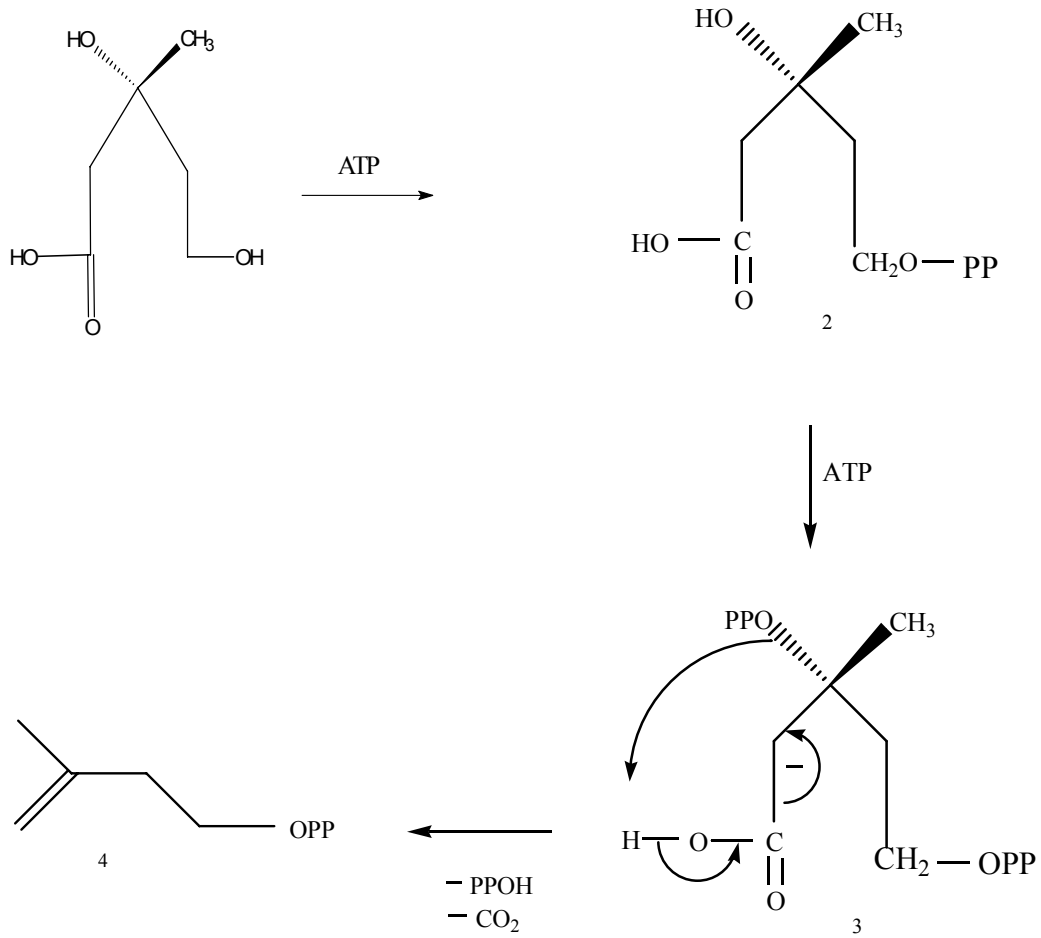
Gaz kromatografisinde maddelerin teşhisleri bilinmeyen piklerin aynı şartlarda saf şahit maddelerle beraber enjeksiyon (GC) esasına dayanır. Şahit madde bulunmadığı zaman ise teşhiste kütle spektroskopisi sonuçlarından ve kovats indeks değerlerinin hesaplanmasından faydalanılır (Yalcın, 1993).

2.4.4.2. Terpenoidlerin Biosentezi

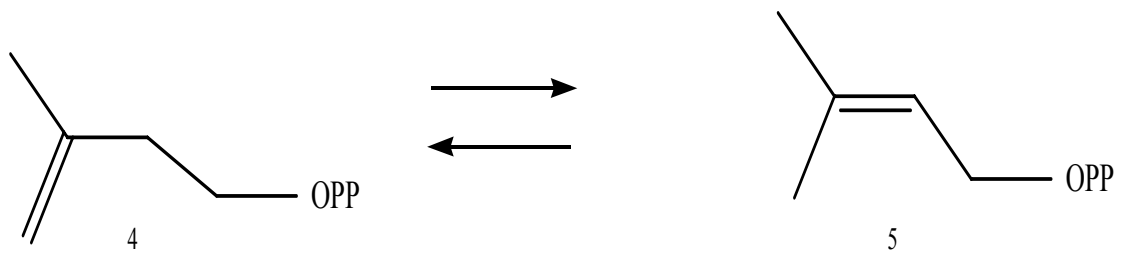
Terpenoidlerin biosentezinde önemli yeri bulunan *mevalonik asit* (3-metil-3,5-dihidroksi pentanoik asit) (1), 3 mol Asetil koenzim A'nın kondenzasyonu ile oluşur. Mevalonik asitin difosfat ve karbondioksit kaybetmesi ile terpenleri oluşturan izopren (2-metil-1,3-bütadien) birimleri meydana gelir.

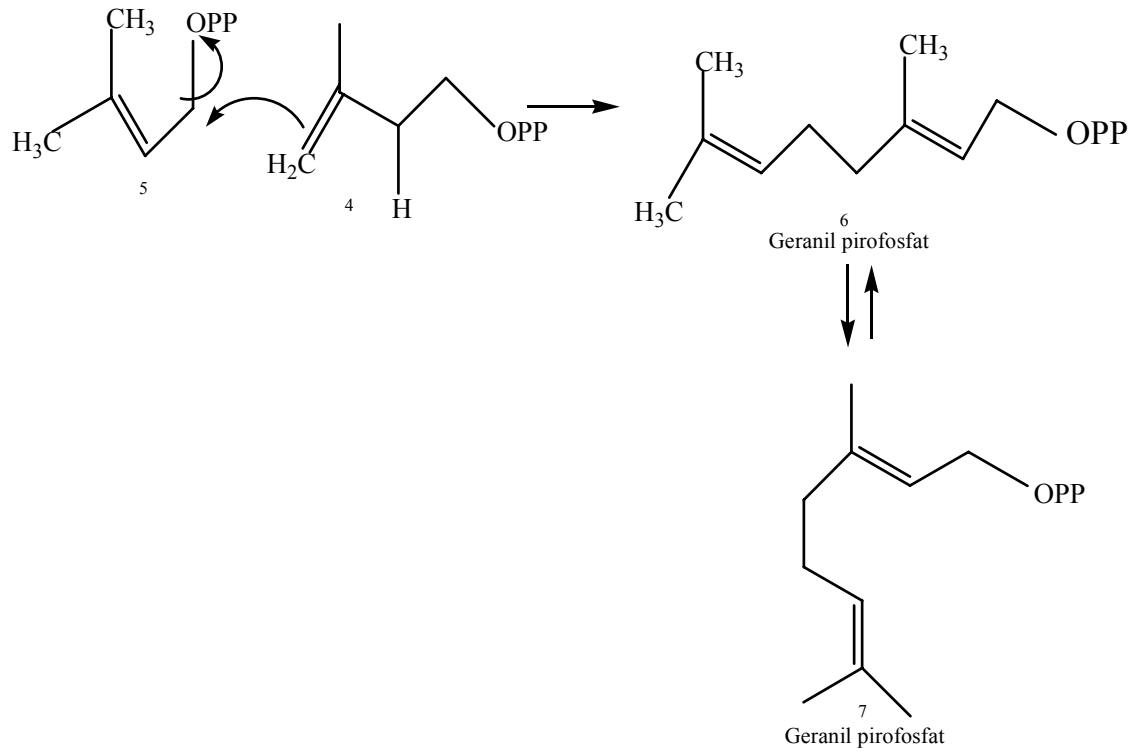


Mevalonik asitin 2 molekül ATP (Adenosin trifosfat) ile fosforlanması sonucu mevalonik asit 5 pirofosfat (2) bileşiği oluşur. Bu bileşikteki tersiyer hidroksil grubu da bir mol ATP ile fosforlanarak daha kolay ayrılabilen bir grup haline gelir. Sonra difosfat ve karbondioksit çıkmasıyla izopentil pirofosfat (4) molekülü oluşur.

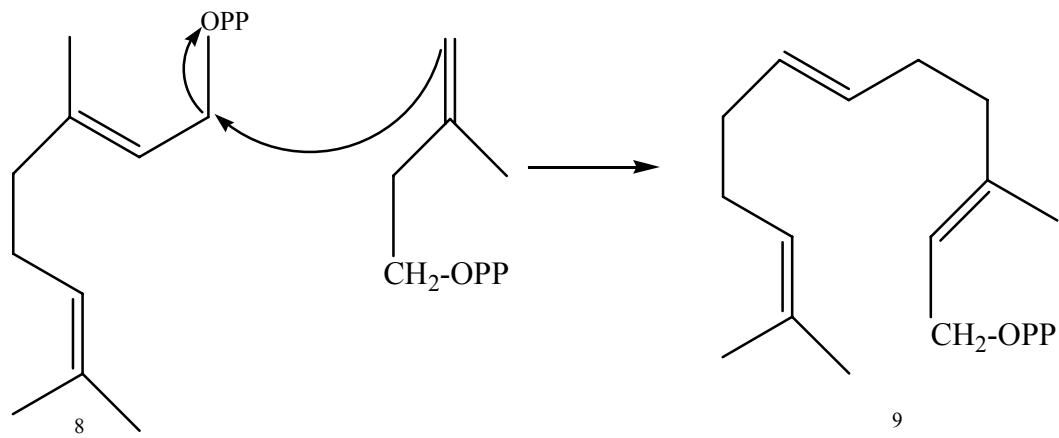


Oluşan izopentil pirofosfatın enzim izomerizasyonu sonucu dimetil allil ester oluşur. Bu iki izomerin birbiriyle olan kondenzasyonu ile geranil pirofosfat (6) oluşur. Bu madde de monoterpenleri meydana getirir.

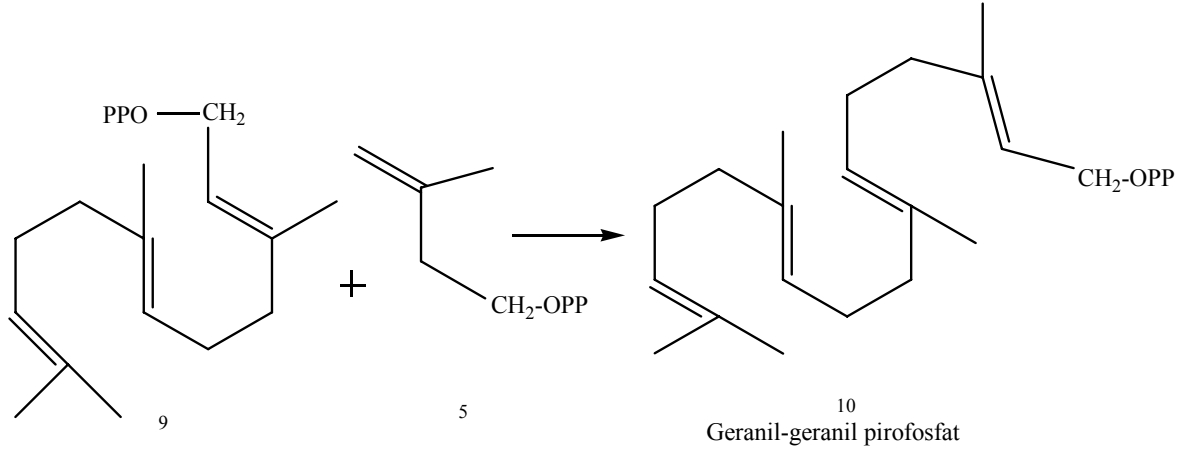




Geranyl pirofosfatın izopentil pirofosfat ile kondenzasyonu farnesil pirofosfatı (9) oluşturur. Oluşan bu madde de seskiterpenlerin geçiş bileşiğidir.



Farnesil pirofosfatın tekrar izopentil pirofosfat ile kondenzasyonu sonucu diterpenlerin ve karotenoidlerin yapıtaşı olan geranyl-geranyl pirofosfat (10) bileşiği oluşur.



İki geranyl-geranyl pirofosfatın kondenzasyonu ile karotenoidler iki farnesil pirofosfatın kondenzasyonu ile de triterpenler oluşur (Gören, 1997).

2.4.4.3. Terpenoid Bileşiklerin Özütlenmesi

Terpenoid türü bileşikler, toplanıp, gölgede kurutulmuş ve öğütülmüş bitki materyalinden farklı polaritedeki organik çözücüler kullanılarak elde edilir. Genel olarak terpenik yapılar için apolar çözücüler kullanılır. Saflaştırmada en çok kullanılan kromatografik yöntemler sütun ve preparatif ince tabaka yöntemleridir. Silikajel ve sephadex ise en çok kullanılan adsorbandır. Terpenoid bileşik izolasyonunda molekül ağırlıklarına göre bir ayırım yapılacaksa genellikle sephadex, polaritelerine göre bir ayırım yapılacak ise silikajel kullanılır.

Uçucu olan ya da uçucu türevleri haline getirilebilen ve miktarı az olan terpenlerin tanınmalarında gaz kromatografisi ve GC-MS yöntemleri de kullanılabilir. Karotenoid bileşikler ve bazı lakton yapısındaki terpenler kolayca bozulduklarından tüketme ve saflaştırma çalışmaları özel şartlarda (soğukta, inert atmosferde, ışıktan korunarak) dikkatlice yapılmalıdır. Yapılan literatür çalışmalarının birçoğunda özütleme işleminin oda şartlarında yapıldığı görülmektedir (Eriş, 1995).

2.4.4.4. Terpenoid Bileşiklerin Sınıflandırılması

Terpenoidler izopren birimlerinin sayısına göre sınıflandırılırlar. Ruzicka tarafından ortaya atılmış olan ‘İzopren Kuralına’ göre bütün terpenik bileşiklerin karbon iskeletleri izopren birimlerinin iki ya da daha fazlasının birleşmesiyle oluşmuştur (Boiteau vd, 1969).

Terpenler fiziksel özelliklerine göre iki gruba ayrılabilirler:

Uçucu terpenler: Su buharı ile sürüklenebilen küçük molekülü monoterpenler ve bazı seskiterpenler.

Uçucu olmayan terpenler: Büyük molekülü seskiterpenler, diterpenler, triterpenler ve politerpenler.

<u>İzopren sayısı</u>	<u>Karbon sayısı</u>	<u>Sınıfı</u>
1	5 C	Hemiterpenler
2	10 C	Monoterpenler
3	15 C	Seskiterpenler
4	20 C	Diterpenler
5	25 C	Sesterpenler
6	30 C	Triterpenler
8	40 C	Tetraterpenler (Karotenoidler)
n	(5 C) _n	Politerpenler

2.4.4.4.1. Monoterpenler

İki izopren ünitesinin bağlanmasından oluşan on karbonlu bileşiklerdir. Monoterpenlerde otuzsekiz farklı iskelet tipine rastlanmıştır. Bunların çoğu düzenli tiptedir, yani iki izopren molekülü ‘baş-kuyruk’ bağı ile bağlıdır. Birçok monoterpenin doğada tek bir izomeri bulunur. Fakat aynı bitkide iki izomerin bulunması haline sıkça rastlanır. Monoterpenlerin en yaygın kullanılanları α -pinen ve β -pinen’dir. Çam ağaçlarında bulunurlar ve plastik sanayinin hammaddesi, parfümeri sanayinin ise başlangıç maddesi olarak kullanılırlar. Bunun yanı sıra monoterpenler

antispazmotik, antibakteriyel, antifungal ve hatta antikanser özellikleri nedeni ile halk ilaçlarında kullanılırlar (Manitto, 1981). Monoterpenler yapılarına göre üç grupta incelenirler;

Asiklik monoterpenler: Düz zincir halindedir ve 3 çift bağ taşırlar. Optikçe aktiflikleri yapılarında taşıdıkları asimetrik karbon atomundan ileri gelmektedir. Sital, geraniol örnek olarak gösterilebilir.

Monosiklik monoterpenler: Bir halka ve iki çift bağ taşırlar. Terpinen ve menton örnek olarak sayılabilir.

Bisiklik monoterpenler: İki halka ve bir çift bağ taşırlar. Kamfen ve sabinen örnek olarak gösterilebilir.

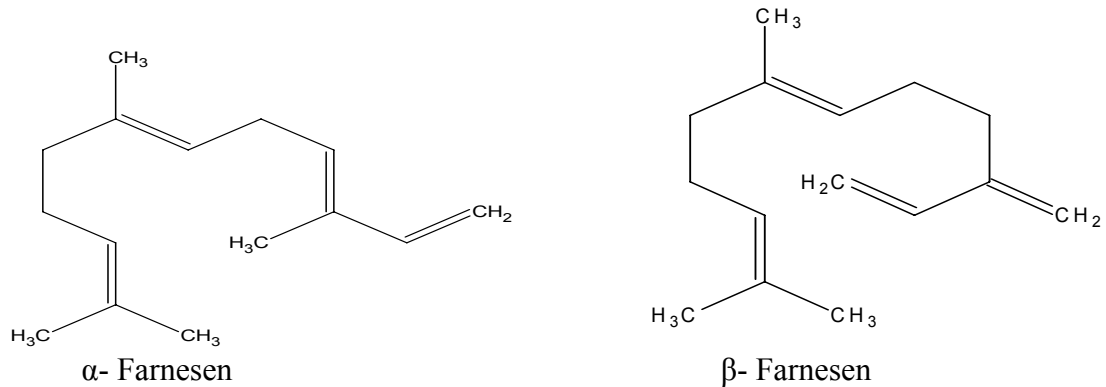
2.4.4.4.2. Seskiterpenler

Seskiterpenler, birçok farklı organizmada rastlanan büyük bir madde grubudur. Bu bileşiklerin çoğunun yapısının aydınlatılması, yeni kromatografik ve spektroskopik metodlarla son 25 yılda olmuştur. Seskiterpenlerin farnesil pirofosfat'ın trans ve cis izomerlerinden türediği bilinmektedir (Roberts, 1971).

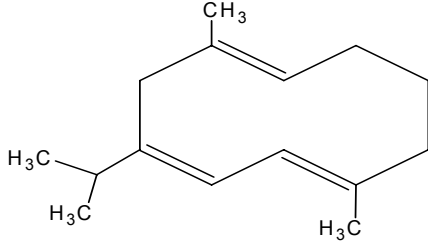
Seskiterpenler fizyolojik etkileri yönünden incelendiğinde, taşıdıkları bileşiklerden ileri gelen fitotoksik ve antibiyotik özellikleri olduğu görülmüştür. Örnek olarak bitkilerde hormonların uyarıcı veya inhibe edici dengelerini korumalarına yardımcı oldukları söylenebilir (Savaş Tetik, 1996).

Seskiterpenler iskelet yapılarına göre 6 sınıfa ayrılırlar (Roberts, 1971; Devon ve Scott, 1972; Beal, 1991).

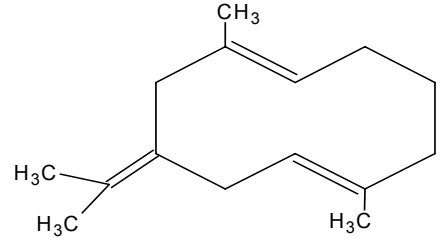
Asiklik seskiterpenler: Bu gruba örnek olarak papatya uçucu yağında bulunan β -farnesen ile elma ve armut gibi meyvelerde bulunan α -farnesen verilebilir.



Monosiklik seskiterpenler: Bu gruba örnek olarak *Eunicea mammosa* da bulunan germakren A, *Citrus junos* kabuk yağında bulunan germakren B ve *Kadsura japonica* kuru meyvelerinde bulunan germakren C verilebilir.

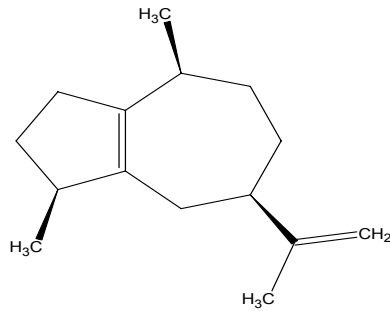
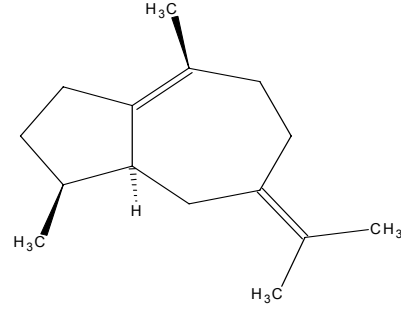


Germakren C



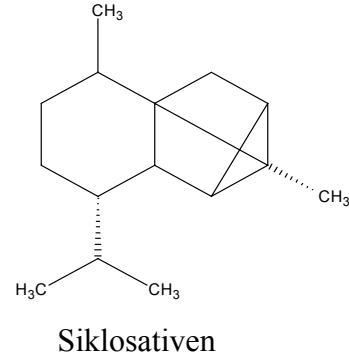
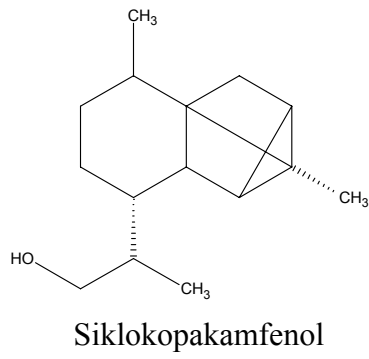
Germakren B

Bisiklik seskiterpenler: *Pogostemon patchouli*'nin paçuli yağında bulunan α -guayen, β -bulnesen ve bulnesol bu grubun başlıca örnekleridir.

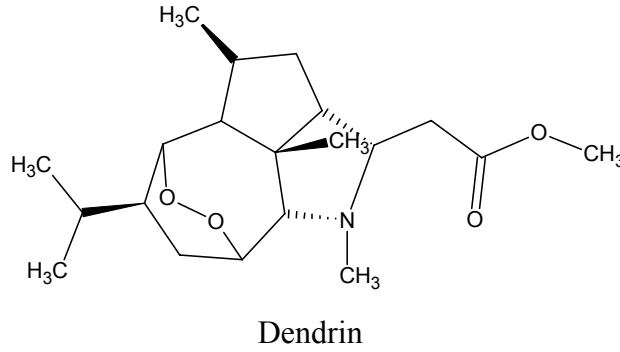
 α - Guayen β - Bulnesen

Trisiklik seskiterpenler: Geranium bourbon uçucu yağında bulunan β -burbonen ve *Eupatorium serotinum* da bulunan α -kubeben bu grubun iki örneğidir.

Tetrasiklik seskiterpenler: *Vetiveria zizanooides* uçucu yağında bulunan siklokokamfenol ile *Helminthosporium sativum* yağında bulunan siklosativen ve sativen başlıca örneklerdendir.



Azotlu heterosiklik seskiterpenler: Bu gruba örnek olarak *Dendrobium nobile* (Orchidaceae)'de bulunan dendrin ve dendrobin verilebilir.

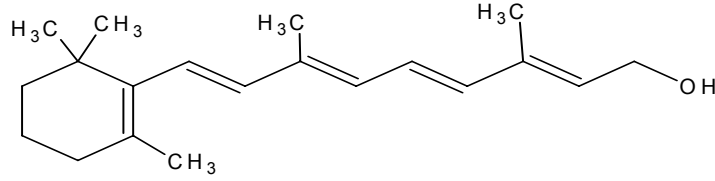


2.4.4.4.3. Diterpenler

Diterpenler, bitkiler âleminde yaygın olarak bulunan, 20 C'lu dört izopren molekülünden meydana gelen, çeşitli farmakolojik etkilere sahip olan bileşiklerdir. Diterpenler kimyasal yapılarına göre şu şekilde gruplandırılabilir:

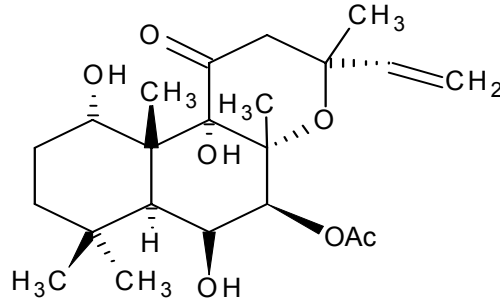
Asiklik diterpenler: Doğada az rastlanan diterpenler olup genellikle deniz ürünlerinden elde edilmektedir. Yeşil algler linear yapıdaki asiklik diterpenler için bir kaynak oluşturmaktadır (Hanson, 1984). Osimen, geraniol, farnesol türevleri ve oksepan diterpenler bunlara ait örneklerdir.

Monosiklik diterpenler: Doğada en çok bulunan ve en önemli monosiklik diterpen A₁ vitamini (Retinol) dir.

Vitamin A₁ (Retinol)

Bisiklik diterpenler: Labdanlar, klerodan ve neoklerodanlar olmak üzere iki gruba ayrılır. Labdanlara özellikle Compositae ve Lamiaceae familyalarındaki bitkilerde yaygın olarak rastlanmaktadır. Bunlardan forskolin *Coleus forskohlii* bitkisinden izole edilen ve antihipertansif etkisi saptanmış labdan yapısında önemli bir bisiklik diterpenidir (Hanson, 1986).

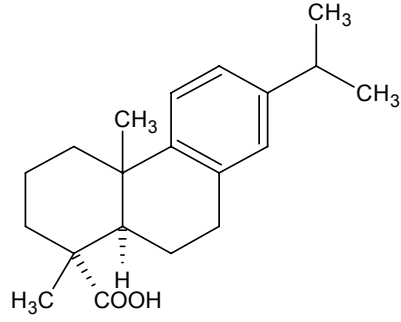
Klerodanlar ve neoklerodanlar başlıca *Teucrium* türleri olmak üzere, *Ajuga* ve *Scutellaria* türlerinden de elde edilen ve insekt antifeedant etki gösteren bisiklik diterpenlerdir (Simmonds vd, 1989).



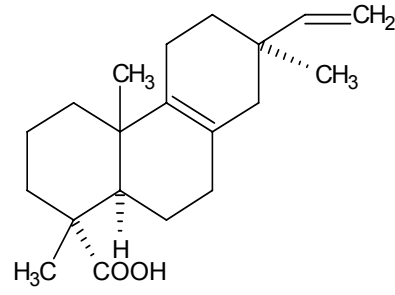
Forskolin

Trisiklik diterpenler: Başlıcasını abietan ve pimarane diterpenler oluşturur. Fosil reçineleri üzerinde yapılan bir çalışmada büyük miktarda abietan yapısındaki dehidroabietik asiti içerdiği görülmüştür. Böylece bu yapıları içeren bileşiklerde antibakteriyal aktivite çalışmaları artmış ve bu aktiviteye sahip çok sayıda bileşik izole edilmiştir. Özellikle *Salvia* türleri oksijenli abietanların ve onların rearanje ürünlerini içeren zengin bir kaynak teşkil etmektedirler (Hanson, 1990).

Pimarane yapısında trisiklik diterpen olan pimarik asit bileşiğine birçok bitkide rastlanmıştır. Pinaceae reçineleri de pimarane ve abietan yapısında diterpenler bakımından zengindir (Hanson, 1987).

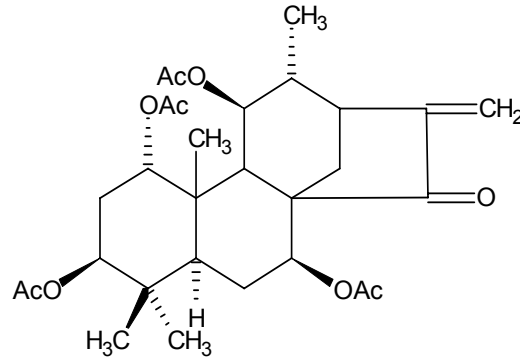


Dehidroabietik asit



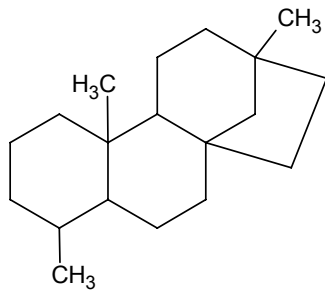
Pimarik asit

Tetrasiklik diterpenler: Bu gruba pek çok değişik diterpen dâhildir. Çin halk tıbbında çok geniş bir kullanımı olan *Rabdosia* (Lamiaceae) cinsinden çok sayıda kauren yapısında bileşik izole edilmiştir. Bunlara bulyanın'ı örnek verebiliriz (Hanson, 1984a).

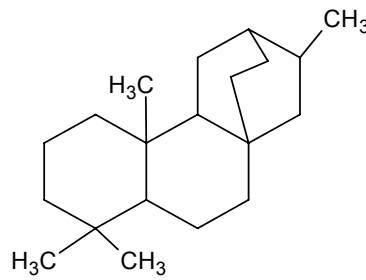


Bulyanin

Şimdiye kadar bitkilerden az sayıda beyeren, atiseren ve trakiloban yapısında tetrasiklik diterpen elde edilmiştir. Trakilobanlar başlıca *Helianthus* türlerinden izole edilmiş olup antifeedant etkileri saptanmıştır (Hanson, 1982).



Bayeren

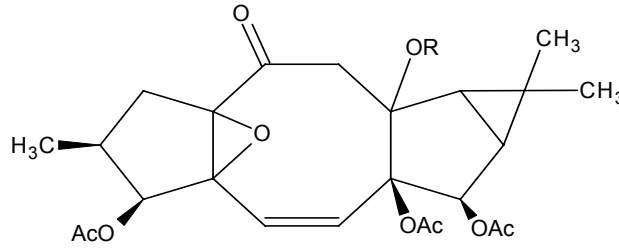


Atiseren

Gibberellinler bitkilerde yaygın olarak bulunan büyümeyi stimüle eden önemli tetrasiklik diterpenlerdir ve bitkiye koruyucu özellik verirler. *Kalmia angustifolia* bitkisinden elde edilen grayanotoksin yapısındaki kalmanol bileşiği kardiyak özellik göstermesi nedeniyle ilgi çekmiştir (Hanson, 1984).

Makrosiklik diterpenler: Makrosiklik diterpenler sembran, jatrofan, dafnan, ingenan, Takson, fuzikokan, latiran olarak yedi sınıfa ayrılmışlardır. Tütün yaprak ve çiçeklerinden çok sayıda sembran yapısında makrosiklik diterpen elde edilmiştir.

Euphorbia türlerinden jatrofan ve ingenan yapısında bileşikler izole edilmiştir. Bu cins önemli biyolojik aktiviteler gösteren makrosiklik diterpenler yönünden zengin bir kaynak oluşturmaktadır. Örneğin *E. kamerunica* bitkisinden elde edilen ingenan yapısındaki ingol esterlerinin sitotoksik etkileri saptanmıştır (Hanson, 1988).

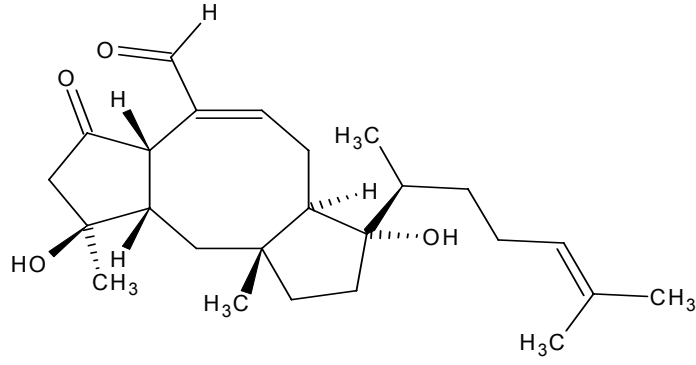


İngol esteri

Taksonlar önemli biyolojik aktiviteler gösteren makrosiklik diterpenlerdir, özellikle *Taxus* türlerinden elde edilen makrosiklik diterpenlerin bir kısmı alkaloid yapısında olup kuvvetli antitümör etki göstermiştir. Bunlardan taxol Amerika'da kanser tedavisinde klinikte kullanılmakta olup başarılı sonuçlar vermektedir ve bu nedenle yarı sentez yoluyla sentezlenmektedir (Samaranayeke vd, 1993).

2.4.4.4.4. Sesterpenler

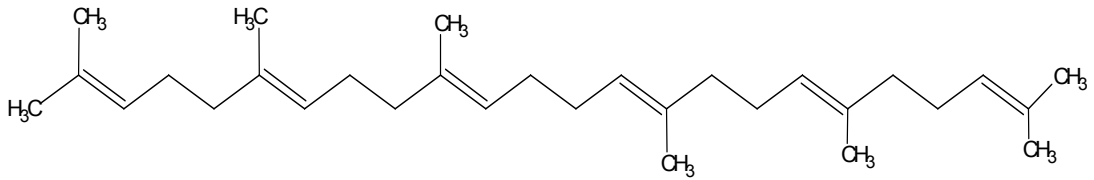
C₂₅ yapısına sahip diterpenlerdir. Bu grubun en önemli üyesi Zizamin B ve ophiobolan'dır.



Zizanin B

2.4.4.4.5. Triterpenler

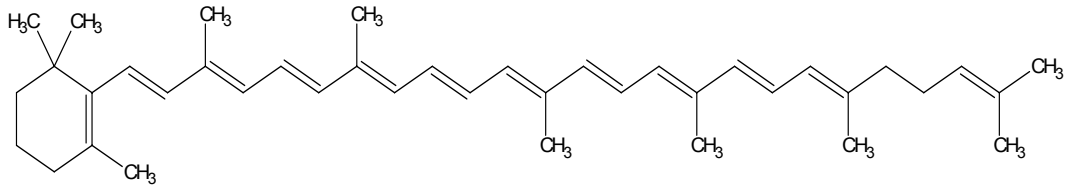
C_{30} yapısındaki diterpenlerdir. Squalen bu grubun en önemli üyesidir.



Skualen

2.4.4.4.6. Tetraterpenler

C_{40} yapısındaki terpenlerdir. Karotenoidler en önemli tetraterpenlerdir. Asiklik, mono- ve bisiklik tetraterpenler de mevcuttur.

 γ - Karoten

2.5. Antioksidant Maddeler ve Oksidasyon

Oksidasyon yani yükseltgenme, bir atom ya da molekülün bir alıcıya elektron vermesi prosesidir. Yükseltgenme potansiyeli karşısındakine göre yüksek olan madde yükseltgenirken diğeri indirgenir. Vücudumuzdaki ve besinlerdeki lipidler, proteinler, karbonhidratlar, nükleik asitler oksidasyona uğrayabilmekte ve canlı organizma için zararlı olabilecek oksidasyon ürünleri oluşabilmektedir (Papas, 1996). Bu durum yaygın olarak “Oksidatif Stres” şeklinde ifade edilmektedir.

Oksidatif stresin baş sorumluları reaktif oksijen ve azot türleridir (Aruoma ve Cuppett, 1997). Hücrenin normal solunumu sırasında yan ürün olarak oluşan bu reaktif oksijen ve azot türleri radikalik ve radikalik olmayan türleri içermektedir. Radikalik oksijen türlerine, süperoksit anyon (O_2^-), hidroksil (OH), peroksit (OOH) ve alkoksi (OR) radikalleri; azot türlerine, azot oksit (ON) radikalleri örnek verilebilir. Radikalik olmayan oksijen türlerine ise, hidrojen peroksit (H_2O_2), ozon (O_3) ve singlet oksijen ($^1\Delta_g \text{ } ^1\text{O}_2$); azot türlerine ise, nitroz asit (HNO_2), nitrozil katyonu (NO^+) ve nitroksi anyonu (NO^-) örnek olarak verilebilirler (Aruoma ve Cuppett, 1997). Bu serbest radikallerin yanı sıra tiyol radikalleri (SR) ve karbon merkezli radikallerde mevcuttur (Candan, 2001).

Gıdalarda ki bitkisel ve hayvansal yağların oksidatif yıkımı, sekonder potansiyel toksik bileşiklerin oluşumuyla besin kalitesini ve güvenilirliğini düşürerek tat ve koku bozunumundan sorumludur. Antioksidantların ilavesi besinlerin lezzetini, rengini korumak ve vitaminlerin yıkımını engellemek için gereklidir. Gıdaların korunmasında kullanılan çoğu yaygın sentetik antioksidanlar bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), propil gallat (PG) ve ter-bütill hidrokinon (TBHQ)'dur. Gıdalarda antioksidan olarak tokoferoller de kullanılır. Raporların BHT ve BHA'nın toksik olduğunu göstermesi ve tüketicinin gıda katkı maddelerinin güvenilirliği hakkında bilinçliliğinin artması nedeniyle; düşük etkisi, yüksek maliyeti olmasına rağmen tokoferol gibi alternatif, doğal ve güvenilir daha fazla gıda antioksidanlarının tanımlanması gerekmiştir (Sherwin, 1990; Wanasundara ve Shahidi, 1998).

2.5.1. Doğal Antioksidant Kaynaklar

Sebze ve meyvelerin bazıları yüksek antioksidant aktiviteye sahip bileşikler içerirler. Vitamin C, vitamin E ve karotenoidlerden başka antioksidantların çoğu gıda bileşiği olarak bulunur. (Wang vd 1996) ve (Kalt vd 1999) meyvelerde bulunan güçlü antioksidant bileşikler hakkında önemli çalışmalar yayınlamıştır. Önemli aktiviteye sahip antioksidantlar çilek (Abuja vd, 1998) kiraz (Wang vd, 1999), turunçgiller (Saleh vd, 1998) ve kivi meyvelerinde (Dawes ve Keene, 1999) kuru erik (Donovan vd, 1998) ve zeytinde (Romani vd, 1999) bulunmuştur. Aynı zamanda zeytinyağı (Blekas vd, 1998) ve meyve sularında (Wen vd, 1999) da yüksek antioksidant aktivite belirlenmiştir.

Pek çok çalışmada kakao taneleri (Sanbongi vd, 1998), patates (Friedman, 1997), domates (Abushita vd, 1997) ve ıspanak (Gil vd, 1999) gibi çeşitli sebzelerin (Furuta vd, 1997) antioksidant potansiyeli analiz edilmiştir.

Şaraplar çeşitli polifenolik bileşikler içerir ve bunların çoğu antosiyaninlerdir (Heinonen vd, 1998; Fogliano vd, 1999). Viskinin (McPhail vd, 1999) ve sake (Kitagaki ve Tsugawa, 1999) nin de antioksidant aktivitesi olduğu rapor edilmiştir.

Asya ülkelerinde içecek olarak bolca tüketilen çayın anti-hipertansiyon (Henry ve Stephens-Larson, 1984), antioksidatif (Ho vd, 1992), anti-atherosklerotik (Hertog vd, 1993; Luo vd, 1997), antikarsinojenetik (Shi vd, 1994; Wang vd, 1994; Katiyar vd, 1992) etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Yeşil çay yaprakları değişik oranlarda (-)-epikatekin, (-)-epikatekin gallat, (-)-epigallokatekin ve (-)-epigallokatekin gallat içerir (Amarowicz ve Shahidi, 1996; Ho vd, 1994, 1997). Katekinler metal iyonlarını bağlayıcı ve oksijen radikalini tutuklayan etkili antioksidant olarak tanınırlar (Husain vd, 1987; Chen vd, 1990).

Bitkilerdeki antioksidatif etkiden sorumlu baş faktör onlardaki flavonoidlerdir (Hertog vd, 1993, 1994 ve 1995; Knekt vd, 1996). Flavonoidler iki fenil halkasının propan zinciri ile birleşmesinden oluşan difenil propan (C₆-C₃-C₆) yapısındaki fenolik bileşiklerdir.

Kaempferol, quercetin, luteolin, myricetin kuvvetli antioksidantlardır (Bors vd, 1987, Hanasaki vd, 1994). Doğal antioksidantların birçoğu özellikle de flavonoidler çok çeşitli biyolojik etkiler sergilerler. Meyve ve sebze tüketimiyle kanser ve kalp-

damar hastalıkları arasındaki ters ilişki onlarda bolca bulunan flavonoidlere dayandırılmaktadır (Hertog vd, 1993, 1995; Knekt vd, 1996).

2.5.2. Fenolik Bileşiklerin Antioksidant Aktivitelerinin Karşılaştırılması

Fenoller hidroksil grupları nedeniyle radikal giderme yeteneğine sahip oldukları için önemli bitki bileşenleridir (Hatano vd, 1989). Fenolik bileşiklerin antioksidant aktiviteyle ilişkilendirildiği ve lipid peroksidasyonunda önemli bir rol oynadığı rapor edilmiştir (Yen vd, 1993). Fenolik maddelerin insan sağlığı üzerindeki etkilerine baktığımızda, meyve ve sebzelerde zengince bulunan polifenolik bileşiklerin günlük bir gramın üzerinde alındığında mutagenesis ve carcinogenesis üzerine inhibitör etki gösterdiği rapor edilmiştir (Tanaka vd, 1998).

Bazı araştırmacılar fenolik maddelerin antioksidant aktivitelerini tahmin etmek için teorik bir metot olarak yapı-aktivite ilişkilerini incelemişlerdir (Das ve Pereira, 1990; Ogata vd, 1997; Saint-Cricq vd, 1999; Zhang, 1999). Polimerik polifenoller basit monomerik fenoliklerden daha etkili antioksidant iken, basit fenoller aracılığıyla peroksit radikallerinin giderilmesinde hidrolize edilebilen taninler daha düşük antioksidant aktiviteye sahiptirler (Hagerman vd, 1998). Flavonollerin polimerizasyon derecesi yükseldikçe süperoksit giderim aktiviteleri de artmaktadır (Yamaguchi vd, 1999). Genel bir eğilim olarak fenoksil radikallerinin kararlılığının arttırılması istenilen bir şeydir, ancak lipidler için moleküllerin lipofilik yapıları ve antioksidantların benzerliği belirleyici olmalıdır (Von Gadow vd, 1997). Aynı zamanda antioksidant etki hem benzen halkasındaki metoksi ve hidroksil gruplarının sayısına, pozisyonuna; hem de çift bağlardaki elektron delokalizasyonuna bağlıdır (Milic vd, 1998). Farklı sebzelerden elde edilen flavonların şeker grupları ihtiva etmesi, flavonların antioksidant aktivitesini önemli derecede etkilemektedir (Plumb vd, 1999).

2.5.3. Antioksidant Aktivite Belirleme Metodları

Lipid oksidasyonu boyunca antioksidantlar metal iyonu bağlayıcı, radikal giderici ve peroksit bozucu olarak çeşitli şekillerde hareket ederler ve sinerjiye neden

olmalarından dolayı sıklıkla birden fazla mekanizma içerirler. Antioksidantların gıda sistemlerinde etkili olarak kullanılması için potansiyel sağlık faydaları kadar hücre içi antioksidasyon mekanizması da bilinmelidir (Aruoma, 1997, 1998 ve 1999). *In vitro* prosedürlerden *in vivo* durumu tahmin etmeye kalkışmadan önce biyogeçerlilik, absorpsiyon, metabolizma ve farmakokinetiklerin tamamı iyice düşünülüp dikkate alınmalıdır. De la Torre Boronat ve L6pez Tamames (1997) antioksidantları işlevlerine göre 3 sınıfa ayırdı:

- 1- Radikal olmayan oksijen türleri (1O_2 ve 3O_2), indirgen maddeler (askorbik asit) ve karotenler gibi antioksidantlar,
- 2- Antiradikaller ve birincil antioksidantlar,
- 3- Metal şelatlayıcılar.

Buna ilaveten zincir başlama hızını yavaşlatmaları nedeniyle primer ve sekonder antioksidantlar diye de sınıflandırma yapılabilir, ancak bazı bileşikler vardır ki hem primer hem de sekonder aktiviteye sahiptir. Sıklıkla en çok ölçülen ürünler birincil oksidasyon için konjuge dien hidroperoksitler iken, ikincil oksidasyon için ölçülenler uçucu yağlardır.

Bu yüzden antioksidant aktivite farklı mekanizmalar içeren farklı testlerle değerlendirilmelidir. İnsan vücudunda oksidatif yıkımın seviyesini ölçmek için sıklıkla en çok kullanılan metotlar:

- 1- Toplam oksidatif DNA yıkımı,
- 2- Antioksidant enzimlerin seviyeleri, düşük moleküler ağırlıklı antioksidantlar (katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidazlar, ürik asit, glutatyon, flovonoidler, katekinler, antosiyaninler) ve vitaminler (E, C ve β -karoten),
- 3- Lipidlerin oksidatif yıkımı
- 4- Protein yıkımı (Aruoma, 1997).

Kimyasal metotların çoğu farklı serbest radikalleri süpürme yeteneğine bağlıdır, ancak aynı zamanda uv-absorpsiyonu ve şelatlama yeteneği de yağ sistemlerinde antioksidant aktivitenin kaynağıdır (Chen ve Ahn, 1998). Serbest radikallerin gıdalarda doymamış yağların otooksidasyonuna neden olduğu iyi bilinir (Kaur ve Perkins, 1991). Süperoksit radikal (O_2^-), hidroksil ($^{\cdot}OH$), nitrik oksit ($^{\cdot}NO$), alkil peroksil radikaller, $ABTS^+$ (2,2'-azobis 3-etil benzothiozoline-6-sülfonat), DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikali gibi farklı gidericilerle yapılan radikal giderim

aktivite testleri geliştirilmiş ve gıda antioksidant çalışmaları ile ilgili reaktif oksijen türlerini belirleme metotları Aruoma ve arkadaşları tarafından yeniden incelenmiştir (Aruoma vd, 1997). Diğer yandan antioksidantların serbest radikal zincirini durduğuna ve fenolik hidroksil gruplarından hidrojen vererek kararlı bir son ürün oluşturarak ileri lipid oksidasyonunun başlamasını ve ilerlemesini engellediğine inanılır (Sherwin 1978).

Lipid oksidasyonuna karşı koruyucu hareketin ölçümü için oksidasyon maddeleri olarak saf triaçil gliseroller, bitkisel yağlar (ayçiçek, soya, zeytin, palmiye), balık yağları veya domuz yağı sıklıkla kullanıldı. Doymamış yağ asitleri oksidatif bozunmaya karşı oldukça duyarlıdırlar ve aynı zamanda doğal antioksidant testlerinde kullanılmaktadır (Nieto vd, 1993; Wanasundara ve Shahidi, 1998; Yi vd, 1991). *In vitro* düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyon inhibisyonunun damar sertliği rahatsızlıklarını destekleyen LDL oksidasyonuna benzemesi nedeniyle, polifenolik bileşiklerin oral tatbikatından sonra insan veya tavşan kan plazmasındaki bu tür bileşiklerin antioksidant kapasitelerini belirlemek için yaygın olarak çalışılmıştır (Carbonneau vd, 1998, Koga vd, 1999; Meyer vd, 1998a, 1998b, Vinson vd, 1995, 1998, 1999; Visioli vd, 1999).

Oksidasyon belirlemelerinde katalizör olarak metal katyonları kullanılabilir (Chen ve Ahn, 1998, Ganthavorn ve Hughes, 1997) ve aynı zamanda hemoglobin gibi metal kompleksli organik moleküllerde kullanılabilir (Kuo vd, 1999). Demir ve bakır iyonları indükleyici olarak farklı sistemlerde yaygın olarak kullanılır (Chambers vd, 1996, Müller vd, 1999, Ponginebbi vd, 1999). Antioksidant aktivite reaktif türlerin üretilmesini sağlayan metalik katalizöre bağlıdır (Lapidot vd, 1999) ve bu metalik katalizörler varsayılan antioksidantın prooksidant olarak davranıp davranamayacağını belirler (Roeding-Penman ve Gordon, 1998). Fe^{3+} gibi yaygın metal iyonları antioksidantlar tarafından, antioksidant bir maddeyi prooksidant gibi davranmaya iten Fe^{2+} iyonlarına indirgenebilir. Benzer etki diğer geçiş metalleri için de söylenebilir. Bu yüzden dolaylı antioksidant aktivite ölçümü gibi metal iyonları (özellikle Fe^{2+} , Cu^{2+}) üzerine şelatlama etkisinin belirlenmesi prooksidant etkiyi önleme yeteneğinin bir ölçümü olarak kullanılmıştır (Hudson ve Lewis 1983; Okada ve Okada, 1998).

Aynı zamanda antioksidant aktivite; ekstraksiyon çözücüsünün polaritesi ve türüne, izolasyon tekniklerine ve aktif bileşiklerin saflığına bağlıdır (Meyer vd, 1998a). Lipidler için antioksidant aktivite belirleme faktörleri moleküllerin lipofilik özelliklerine (Brand-Williams vd, 1995; von Gadov vd, 1997); fenolik bileşiklerin antioksidant aktivitesi ise fenolik asitlere bağlıdır (Pekkarinen vd, 1999). Antioksidant aktivite için antioksidantın diğer bileşiklerle etkileşimi önemli bir rol oynadığından, bir bileşiğin antioksidant potansiyeli antioksidant test sistemine, aynı test sistemi için çözücü polaritelerine göre farklılıklar gösterir (Pekkarinen vd, 1999). Bir bileşiğin antioksidant aktivitesi belirlenirken, bileşiğin bir metotta güçlü bir antioksidant, başka bir metotta ise prooksidant olduğu gözlenmiştir (Von Gadov vd, 1997). ‘Polar paradoks’ olarak bilinen bir olguya göre emülsiyonlarda lipofilik antioksidantlar daha iyi aktivite gösterirken, bulk yağlarında ise hidrofilik antioksidantlar lipofilik antioksidantlardan daha etkin aktivite göstermektedir. Hidrofilik antioksidantlar bulk yağ sisteminde hava-yağ ara yüzeyinde konsantre olarak yağ ile hava arasında bir bariyer oluşturarak yağın oksidasyonunu önlemektedirler. Emülsiyon sistemlerinde hidrofilik antioksidantlar su fazında konsantre olmayı tercih edecekleri için yağ damlacıklarının oksidasyonunu etkili şekilde önleyememektedirler. Lipofilik antioksidantlar ise yağ damlacıkları içerisinde çözünebildikleri için yağ-su emülsiyon sistemlerinde yağların oksidasyonunu daha etkili bir şekilde önlerler. (Porter vd, 1989; Frankel vd, 1994).

In vitro test sistemlerinde antioksidant olarak davranan maddeler metabolite edildikten sonra bu bileşiklerin metabolizma tarafından absorplanıp absorplanamayacağı absorplansa bile hala aktivitelerini koruyup koruyamayacağı kanıtlanması gereken bir durumdur. Bu bileşiklerin inhibisyon aktivitelerini belli enzimlere bağlanarak sağladığı önerilmiştir (Saint Cricq vd, 1999). *In vitro* çalışmalar sonucunda belirlenen bir antioksidanın *in vivo* şartlarda da aynı biyolojik etkiye sahip olduğu desteklenmelidir. *In vitro* lipid oksidasyon çalışmaları için hayvan hücrelerinin mükemmel bir biyolojik model olduğu önerilmiştir (Balasinska ve Troszynska, 1998).

2.6. Çalışmanın Amacı

Yapılan literatür taramalarında *Salvia* türleri halk arasında adaçayı, elma çayı, boz şalba ve elma çalbası olarak bilinir. “elma yağı” olarak bilinen *Salvia triloba* ve *Salvia officinalis* uçucu yağları halk arasında, karın ağrısının ve bağırsak şikâyetlerinin giderilmesinde kullanılmaktadır. Ayrıca bu bitkilerin infüzyonları soğuk algınlığında ve öksürükte; göğüs yumuşatıcı, öksürük kesici ve ter kesici olarak kullanılmaktadır. Ayrıca *Salvia* türleri üzerinde; başta terpenoid türü bileşiklerin izolasyonu, uçucu yağ ve bileşenlerinin karakterizasyonu ve son yıllarda oldukça popüler hale gelen antioksidant kapasite ile antimikrobiyal aktivite çalışmaları yapıldığı görülmüştür (Ulubelen, 1998; Ulubelen, 2001; Tepe, 2003). Canlıların sistemlerinde antioksidant aktiviteye sahip bileşiklerin bulunması yaşam için önemli temel bir ihtiyaçtır. Antimutajenik, antikarsinojenik, antiaging (yaşlanmayı geciktirici) gibi birçok biyolojik fonksiyon bu antioksidantlardan kaynaklanır (Cook ve Samman, 1996). Antioksidantlar doğrudan metabolizmada etkin olabildiği gibi beslenme yoluyla da alınabilirler. Maliyet nedeniyle doğal kaynaklı antioksidantlar yerine sentetik antioksidantlar 20. yüzyılın başlarından beri kullanılmaktadır. Ancak sentetik antioksidantların toksik olduğu ve kansere yol açabileceğini ortaya koyan çalışmalar sonucunda bazı ülkelerde kullanılmalarına sınırlama ya da yasaklama getirilmiştir (Haigh, 1986; Van Esch, 1986). Sentetik antioksidantlar hakkındaki bu şüpheler daha ekonomik olan doğal antioksidantlara olan ihtiyacı arttırmış ve bu alandaki çalışmalar bitki kaynaklı antioksidantlar üzerinde yoğunlaşmıştır.

Çalışmada Güneybatı Anadolu Bölgesinde yayılım gösteren ve yapılan literatür taramalarında üzerinde yeterli çalışma olmayan *Salvia pinnata* ve *Salvia bracteata* seçildi. Bu bitkilerin toprak üstü kısımlarından uçucu yağ eldesi ve sıralı ekstraksiyonla çeşitli polaritede bitki özütleri elde edilmesi amaçlanmıştır. Uçucu yağların GC ve GC/MS ile bileşenlerinin karakterizasyonu ve antioksidant aktivitelerin belirlenmesi hedeflenmiştir. Özütlerin (hekzan, etil asetat ve metanol) de DPPH serbest radikal giderim aktivitesin belirlenmesi, β -karoten-linoleik asit yöntemiyle toplam antioksidant kapasitesinin saptanması ve bu aktivite çalışmalarını

destekleyen toplam fenolik madde miktarı ve toplam flavonoid madde miktarının *in-vitro* şartlarda belirlenmesi amaçlanmıştır.

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyaller

3.1.1. Çözücüler ve kimyasallar

β -Karoten, linoleik asit, quercetin, pirokatekol, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), bütillenmiş hidroksi anisol (BHA) ve α - tokoferol Sigma Kimyasaldan (St. Louis, MO); Tween-20, hekzan, kloroform, etil asetat, etil alkol, alüminyum nitrat, sodyum karbonat, potasyum asetat ve diğer tüm kimyasallar ve çözücüler E. Merck (Darmstadt, Germany) den temin edildi. Kullanılan kimyasallar ve tüm çözücüler analitik saflıktadır.

3.1.2. Bitkisel Materyal

Salvia pinnata ve *Salvia bracteata* P.H. Davis'in kareleme sistemine göre C2 karesine endemiktir. *Salvia bracteata* Muğla'dan Denizli'ye giderken 63. km'de Kale ilçesinin Çamlarca köyünden 900-1000 m. yükseklikte, yol kenarlarından 26 Mayıs 2007 tarihinde toplandı. *Salvia pinnata* Tavas-Denizli yol güzergâhından 800-900m. Yükseklikte, yol kenarlarından ve nadasa bırakılmış arazilerden 26 Mayıs 2007 tarihinde toplandı. Her iki bitki Pamukkale Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi sayın Dr. Olcay Dinç Düşen tarafından botanik tanımlama ve adlandırılması yapıldı. Bitkinin toprak üstü kısımları gölgede serilerek kurutulduktan sonra blender ile parçalanarak öğütüldü ve analize hazır hale getirildi.

3.2. Yöntemler

3.2.1. Özütleme Yöntemleri

1. **Uçucu yağ** : Kurutulup öğütülerek analize hazır hale getirilen 527 gram *Salvia pinnata* ve 450 gram *Salvia bracteata* bitkileri Clevenger tipi aparat kullanılarak

yaklaşık üç saat su ile kaynatıldı. Elde edilen uçucu yağ susuz sodyum sülfat ile kurutulup süzüldü ve analiz edilinceye kadar + 4 °C de soğutucuda saklandı.

2. Hekzan, etil asetat ve metanol özütleri: Kurutulup analize hazır hale getirilen *Salvia pinnata* bitkisinden 320g. ve *Salvia bracteata* bitkisinden 280g. alınıp, soxhlet aparatına yerleştirildi ve artan polaritedeki çözücülerle sırası ile ekstraksiyon işlemi yapıldı. Elde edilen özütler vakum altında rotary evaporatörde (Heidolph Laborota 4010, Germany) buharlaştırıldı (Tepe, 2003).

3.2.2. Uçucu Yağın Kimyasal Analizi

3.2.2.1. Yoğunluk Tayini

Yoğunluk tayini için 1 mL'lik hassas ayarlı kap kullanıldı. Kap önce boş, sonra destile su ve daha sonrada yağ numunesi ile doldurularak tartıldı ve yoğunluk aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$d = \frac{c-a}{b-a}$$

Burada

a: Boş kabın tartımı (g)

b: Su ile dolu kabın tartımı (g)

c: Yağ ile dolu kabın tartımı (g)

3.2.2.2. Kırılma İndisi

Elde edilen uçucu yağların kırılma indisleri Abbe Refraktometrisi'nden doğrudan 20°C de okundu.

3.2.2.3. Optik Çevirme

Uçucu yağın optik çevirme açısı polarimetre ile yapıldı. Bu amaçla 0.2 mL uçucu yağın 25 mL'lik bir balonda CH_2Cl_2 (diklormetan) ile çözeltisi hazırlandı. 2dm'lik polarimetre tüpünde sodyum lambası altında α değeri okundu ve yağın çevirme açısı aşağıdaki formülü göre hesaplandı.

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha \cdot 100}{l \cdot C \cdot d}$$

Burada α : cihazın gösterdiği çevirme açısı

l : Polarimetre Tüpünün Uzunluğu (dm)

C : Konsantrasyon(g/100mL)

d : Yoğunluk (g/mL)

3.2.2.4. Gaz Kromatografisi (GC) Analizi

Uçucu yağ içinde bulunan bileşenler GC-17A marka gaz kromatografisi kullanılarak analiz edildi. Uçucu yağ bileşenlerinin Gaz Kromatografisinde alıkonulma zamanlarına göre yüzdeleri hesaplandı ve standart maddeler kullanılarak pik çakıştırma yöntemine göre bileşenler karakterize edildi.

Gaz Kromatografisi Analiz Şartları

Kolon : DB-1 kapiler kolon (0.25id x 30 m)

Dedektör : FID

Taşıyıcı Gaz : He

Yakıcı Gazlar : Yüksek saflıkta (%99.999) kuru hava ve hidrojen

Enjeksiyon sıcaklığı: 250°C

Kolon sıcaklığı : Fırın sıcaklığı 60°C de 5 dakika bekletildi. Daha sonra 230°C ye 4°C/dk hızla çıkarıldı ve 230°C'de 15 dakika bekletildi.

Dedektör sıcaklığı : 270°C

Split oranı : 1:20

Enjeksiyon miktarı : 0.2µL

3.2.2.5. Gaz Kromatografisi / Kütle Spektrometri (GC/MS) Analizi

Uçucu yağ bileşenlerinin karakterizasyonu için Varian 2100 GC-MS cihazı kullanıldı. Bileşenlerin aydınlatılmasında Nist 2002 kütüphane verileri ve “Eight Peak Index of Mass Spectra”, “Monoterpenes” ve “Identification of Essential Oils by Ion Trap Mass Spectroscopy” adlı spektrofotometre atlasları kullanıldı. Ayrıca bileşenlerin alıkonulma süreleri göz önüne alınarak ve Kovats indeks değerleri hesaplanarak karakterizasyon desteklendi.

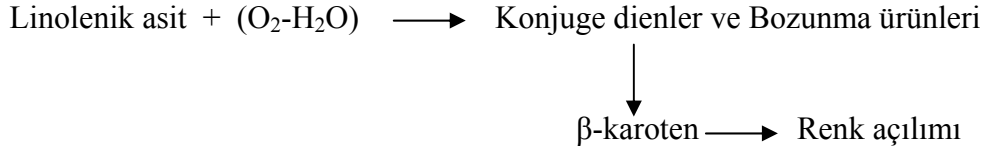
GC-MS Analiz Şartları

Kolon	: DB-1 kapiler kolon (30 m x 0.25mm, 0.25µm)
Taşıyıcı Gaz	: He
Enjeksiyon sıcaklığı	: 250°C
Kolon sıcaklığı	: Fırın sıcaklığı 60°C de 3 dakika bekletildi. 220°C’ ye 3°C/dk hızla çıkarıldı ve 220°C’ de 14dakika bekletildi.
Split oranı	: 1:20
İyon kaynağı sıcaklığı	: 150 °C
Elektron enerjisi	: 70 eV
Kütle aralığı	: 28-450 m/z
Scan aralığı	: 0.01
Enjeksiyon miktarı	: 0.2µL

3.2.3. Antioksidant Aktivite Analiz Yöntemleri

3.2.3.1. Toplam Antioksidant Aktivitenin Belirlenmesi

Antioksidant aktivite belirleme yöntemlerinden biri olan bu sistem linoleik asitin inkübasyonu sırasında oluşan peroksit ürünlerinin β-karotenin karakteristik sarı rengine tepkime vererek gidermesi ve bu renk giderimin spektroskopik olarak takip edilmesi esasına bağlıdır.



Sistemde antioksidantların bulunması ya da sisteme antioksidant içerikli özütlerin ilave edilmesi, linoleik asidin oksidasyonu sonucu linolenik asitin parçalanmasından oluşan peroksit ürünlerinin bu antioksidantlarla nötralize edilmesini sağlar. Bunun neticesi olarak β -karotenin karakteristik sarı rengi korunmuş olur, dolayısıyla örneklerin daha yüksek absorbanası daha yüksek antioksidant aktiviteyi gösterir.

Toplam antioksidant aktivite belirleme Dapkevicius yöntemiyle yapılır (Dapkevicius vd, 1998). β -karoten çözeltisi, 0.2 mg β -karotenin 1 mL kloroformda çözülmesiyle hazırlanır. Bu çözeltiliye 20 μ g linoleik asit ve 200 mg Tween 20 ilave edilir. Kloroform rotary evaporatörde buharlaştırıldıktan sonra 50 mL saf oksijen geçirilmiş destile su ile karıştırılır. 2000 ppm konsantrasyonunda ki uçucu yağ ve özütlerin değişen konsantrasyondaki, 500 μ L çözeltilerinin bulunduğu test tüplerine bu emülsiyonunun 4 mililitresi ilave edilir. Emülsiyon test tüplerine ilave edilmez spektrofotometre (Shimadzu UV-1601, Japan) kullanılarak başlangıç absorbanları 490 nm'de ölçülür. Tüpler 50°C sıcaklıkta ve karanlıkta inkübasyona bırakılır 120 dakika sonunda inkübasyon işlemi bitirilir ve son absorbanları 490 nm'de ölçülür. β -karoten renk açılım oranı (R), 1 eşitliğine göre hesaplanır:

$$R = \ln (a/b)/t \quad (1)$$

Burada; \ln = doğal logaritma, a = başlangıç absorbanası, b = 360 dakika inkübasyondan sonraki absorbanası

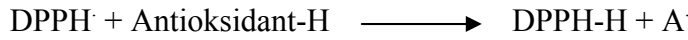
Antioksidant aktivite (AA) ise 2 eşitliğine göre hesaplanır:

$$AA = [(R_{\text{kontrol}} - R_{\text{örnek}}) / R_{\text{kontrol}}] \times 100 \quad (2)$$

(Dapkevicius vd, 1998; Cheung vd, 2003).

3.2.3.2. Serbest Radikal Giderim Aktivitenin Belirlenmesi

Yöntem, DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikalinin alkolde hazırlanan çözeltilerinin bir hidrojen verici antioksidant madde varlığında radikal olmayan DPPH-H'a dönüşümünün spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır. DPPH radikalının 517 nm'deki soğurma pikinin şiddetindeki azalmayla orantılı olacak şekilde antioksidant aktivitenin varlığı nitel ve nicel olarak belirlenir. Tepkime mekanizması aşağıdaki şekilde gösterilebilir.



Belirli bir inkübasyon süresinden sonra kalan DPPH radikali derişimi spektrofotometrik olarak ölçülür (Cuendet vd, 1997; Kirby ve Schmidt, 1997). DPPH radikalının rengindeki açılma antioksidant maddenin radikal temizleme aktivitesi olarak gösterilir. Yöntem hızlıdır, 30 dakikalık analiz süresi ve insan gücü açısından kolay olması nedeniyle daha çok tercih edilir. (Smith vd, 1987; Burits vd, 2001).

Serbest radikal giderim aktivitesi yöntemi Smith yöntemiyle belirlenir. (Smith vd, 1987; Burits vd, 2001). 3.2 mL etanol içerisine uçucu yağ ve özütlerin 0.4 mL (0.2-0.8 mg)'si ilave edildikten sonra 1 mL 1mM DPPH çözeltisi ile karıştırılır ve oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyondan sonra 517 nm'de absorbanları ölçülür. Örneklerin absorban değerleri boş kontrole karşı (0.8 mL çözücü) değerlendirilir. Serbest radikal giderim aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanır:

$$\text{İnhibisyon (\%)} = 100 - [(A_I / A_0) \times 100]$$

Burada; A_0 kontrolün absorbanı ve A_I örneğin absorbanıdır (Duh ve Yen, 1997). Elde edilen bu absorban değerlerinden % inhibisyon değerleri hesaplanır (Smith vd, 1987; Burits vd, 2001).

3.2.3.3. Toplam Fenolik Bileşik Miktarının Belirlenmesi

Toplam fenolik bileşik miktarları Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak pirokatekol eşdeğer olarak belirlenir (Singleton vd, 1999). 1 mg özüt içeren örnek çözeltileri destile su ile 46 mL'ye tamamlanır. Bu karışıma 1 mL Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR) ve 3 dk sonra %2 lik Na_2CO_3 çözeltisinden 3 mL ilave edilir. Karışım 2 saat süresince oda sıcaklığında çalkalanır ve örneklerin absorbansları 760 nm'de okutulur. Özütlerin toplam fenolik bileşik miktarları standart pirokatekol grafiğinden elde edilen aşağıdaki eşitlikler kullanılarak belirlenir:

$$A = 0.00246 \text{ pirokatekol } (\mu\text{g}) + 0.00325 \quad (R^2: 0.9997)$$

3.2.3.4. Toplam Flavanoid Madde Miktarının Belirlenmesi

Bitki özütlerinin toplam flavanoid miktarları mikrogram quercetin ekivalent olarak alüminyum nitrat metodu ile belirlenir (Park ve ark. 1997). Ekstraktların toplam flavanoid miktarları standart quercetin grafiğinden elde edilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlenir:

$$A = 0.002108 \text{ quercetin } (\mu\text{g}) - 0.01089 \quad (R^2 : 0.9998)$$

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Özüt Verimleri

Salvia pinnata ve *Salvia bracteata* bitkilerinin, hidrodestilasyon ve sıralı ekstraksiyon ile elde edilmiş hekzan, etil asetat ve metanol özüt verimleri Tablo 4.1.'de verilmektedir.

Tablo 4.1. *Salvia pinnata* ve *Salvia bracteata* özüt verimleri

Bitki Örneği	Özüt Türü	Verim (%)
<i>Salvia pinnata</i>	Uçucu yağ	0,16
	Hekzan	1,97
	Etil asetat	1,65
	Metanol	2,02
<i>Salvia bracteata</i>	Uçucu yağ	0,06
	Hekzan	1,01
	Etil asetat	1,17
	Metanol	1,83

4.2. Uçucu Yağın Kimyasal Bileşenleri

4.2.1. Uçucu Yağların Fizikokimyasal Özellikleri

Amerikan farmakopisine göre Clevenger aparatıyla bitkilerden elde edilen uçucu yağlar üzerinde yapılan yoğunluk, kırılma indisi ve optik çevirme açısı değerleri Tablo 4.2.'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Uçucu Yağların Fizikokimyasal Özellikleri

Fiziko Kimyasal Özellikler	<i>Salvia pinnata</i>	<i>Salvia bracteata</i>
d_{20} (yoğunluk)	0,9586	0,9866
$[\alpha]_D^{20}$ (çevirme açısı)	+37,89	+37,19
n_{20}^0 (kırılma indisi)	1,4792	1,4749

4.2.2. Uçucu Yağının Kimyasal Bileşenleri

Salvia pinnata ve *Salvia bracteata* bitkilerinin hidrodestilasyon metodu ile uçucu yağları elde edildi. Uçucu yağ bileşenleri, kütle spektrumlarının, NIST-2002 kütüphane ve literatür verilerinin ve orijinal standart örneklerin kütle spektrumlarının karşılaştırılmasıyla belirlendi. Sonuçlar Tablo 4.3.'de verilmektedir. Elde edilen uçucu yağların GC kromatogramları Şekil 4.1. ve Şekil 4.2 ve GC/MS kromatogramları Şekil 4.3. ve Şekil 4.4'de verilmiştir.

Kovats indeks değerlerinin belirlenmesinde, standart n-dekan ile n-undekan alifatik hidrokarbon bileşikleri kullanıldı.

Tablo 4.3. *Salvia pinnata* ve *Salvia bracteata* bitkilerinin uçucu yağ bileşen verimleri

Pik No	Bileşik Adı	Molekül Ağırlığı (MA)	Kovats İndeksi (RI)	<i>S. pinnata</i> uçucu yağı (% miktarı)	<i>S. bracteata</i> uçucu yağı (% miktarı)	Teşhis Yöntemi
1	<i>cis</i> -3-Hekzen-1-ol	100	100	0.18	eser	a,b, d*
2	<i>trans</i> -2-Hekzen-1-ol	100	121	0.08	-	a, b, d
3	3,4-Dimetil pentanol	116	201	eser	-	a, b, d
4	Trisiklen	136	895	0,50	eser	a, b, d
5	α -Tujen	136	901	0,15	1.00	a, b

6	α -Pinen	136	914	6.45	10.82	a, b, c
7	Kamfen	136	925	13.86	2.17	a, b, c
8	<i>o</i> -Ksilen	106	931	-	eser	a, b, d
9	<i>trans</i> -2-etil-2-hekzen-1-ol	128	951	0,09	-	a, b, d
10	β -Fellandren	136	954	-	2,93	a, b, c
11	β -Pinen	136	960	5,79	24,49	a, b, c
12	2-Pentilfuran	138	964	-	1.60	a, b, d
13	β -Mirsen	136	977	0,13	4.11	a, b, c
14	3-Oktanol	130	986	0.26	-	a, b, d
15	<i>trans</i> -2-Karen-4-ol	136	998	0.10	-	a, b, c
16	<i>p</i> -Simen	134	1007	0.78	2.77	a, b, d
17	Ökalyptol (1,8-Sineol)	154	115	1.79	4.90	a, b, c
18	D-Limonen	136	1018	0.42	0.40	a, b, c
19	<i>cis</i> - β -Osimen	136	1026	-	1.55	a, b
20	2-metil-Benzaldehit	120	1032	0.18	-	a, b, d
21	<i>trans</i> - β -Osimen	136	1037	-	0.93	a, b, d
22	γ -Terpinen	136	1047	0.09	0.18	a, b, c
23	<i>cis-p</i> -Menth-2-en-1-ol	136	1051	-	1.80	a, b
24	<i>cis</i> -Linalol oksit	170	1062	0.14	-	a, b
25	<i>trans</i> -Linalol oksit	170	1069	0.10	-	a, b
26	Terpinolen	152	1074	0.16	-	a, b, c
27	<i>cis</i> -Sabinen hidrat	154	1076	eser	0.20	a, b
28	(E)-2-Desen-1-ol	156	1078	eser	-	a, b, d
29	Linalol	154	1082	-	1.43	a, b, c
30	α -Kamfolenal	152	1094	0.10	eser	a, b, d
31	4-İzopropil-1-metil-2-siklohekzen-1-ol	154	1098	0.29	1.32	a, b, d
32	6-Kamfenol	152	1102	eser	-	a, b
33	Kamfor	152	1106	8.97	6,77	a, b, c
34	<i>trans</i> -Pinokarveol	152	1110	0.12	eser	a, b
35	<i>cis</i> - β -Terpineol	154	1112	-	eser	a, b

36	<i>cis</i> -Verbenol	152	1114	eser	-	a, b
37	Pinokarvon	152	1122	eser	-	a, b
38	Verbenon	154	1129	-	0,76	a, b, d
39	Borneol	154	1132	20.24	2.94	a, b, c
40	Terpinen-4-ol	154	1142	1,50	0.37	a, b, c
41	Mirtenal	150	1145	0.11	0.73	a, b, c
42	α -Terpineol	154	1150	0.19	eser	a, b, c
43	Mirtenol	152	1154	0.08	-	a, b, c
44	<i>cis-p</i> -Menth-1-en-3-ol	154	1159	-	1.11	a, b, d
45	<i>trans-p</i> -Menth-1-en-3-ol	154	1162	-	eser	a, b, d
46	<i>trans</i> -Karveol	152	1168	eser	-	a, b
47	γ -Elemen	204	1181	-	eser	a, b, c
48	izobornil format	188	1186	7,02	eser	a, b, d
49	Piperiton	152	1192	-	0,29	a, b
50	<i>p</i> -Mentha-1,8-dien-7-al	150	1201	0.12	-	a, b, d
51	Undekanol	172	1208	eser	-	a, b, d
52	Bornilasetat	196	1211	-	0.56	a, b, c
53	Isobornil asetat	196	1216	26.24	eser	a, b, c
54	<i>p</i> -Mentha-1,8-dien-7-ol	152	1221	0.13	-	a, b, d
55	Dihidro- β -Ionon	194	1225	-	0.19	a, b, d
56	Timol	150	1228	eser	-	a, b, c
57	Eugenol	164	1241	0.25	-	a, b, c
58	Izobornil propiyonat	210	1248	0.70	-	a, b
59	Ylangen	204	1242	-	eser	a, b
60	α -Kubeben	204	1258	eser	-	a, b
61	α -Kopaen	204	1261	eser	eser	a, b
62	β -Bourbonen	204	1263	eser	eser	a, b, d
63	α -Bourbonen	204	1264	0.43		a, b, c
64	δ -Elemen	204	1265	-	eser	a, b, c
65	β -Elemen	204	1267	eser	eser	a, b
66	α -Gurjunen	204	1271	eser	eser	a, b

67	β -Karyofilen	204	1277	0,33	5.52	a, b, d
68	-Kadinen	204	1280	0.26	-	a, b, d
69	Thujopsen	204	1282	-	eser	a, b, c
70	β -Gurjunen	204	1284	-	1.80	a, b, c
71	Aromadendren	204	1286	eser	-	a, b
72	Di-epi- α -Sedren	204	1287	-	eser	a, b, d
73	<i>allo</i> -Aromadendren	204	1288	eser	-	a, b
74	γ -Murolen	204	1290	-	0.37	a, b, d
75	α -Karyofilen (α -Humulen)	204	1293	eser	0.18	a, b, c
76	<i>cis</i> - β -Farnesen	204	1295	-	1.08	a, b, c
77	γ -Gurjunen	204	1296	-	0.36	a, b
78	Germakren D	204	1299	0.22	-	a, b, c
79	α -Longipinen	204	1301	-	0.20	a, b
80	β -Ionen	192	1303	-	eser	a, b
81	-Murolen	204	1306	0.22	-	a, b, d
82	α -Kurkumen	202	1307	-	0.41	a, b, d
83	β -Selinen	204	1308	0.09	-	a, b
84	α -Selinen	204	1309	-	2.00	a, b
85	(Z,E)- α -Farnesen	204	1311	0.08	1.41	a, b, c
86	α -Murolen (α -Amorphen)	204	1312	0,15	-	a, b, c
87	γ -Kadinen	204	1313	0,20	3,17	a, b, c
88	<i>trans</i> -Kalamenen	202	1314	0.12	0.22	a, b
89	δ -Kadinen	204	1316	eser	-	a, b, c
90	β -Seskufellandren	204	1317	-	0.67	a, b
91	<i>trans, trans</i> -Farnesal	220	1319	eser	-	a, b
92	9-Metoksi Kalamenen	232	1321	-	eser	a, b, d
93	α -Kalakoren	200	1322	eser	-	a, b
94	Kadala-1(10),3,8-trien	204	1324	-	eser	a, b, d
95	Elemol	222	1326	-	eser	a, b, c
96	3-Hekzen-1-ol benzoat	204	1328	eser	-	a, b, d

97	γ -Elemen	204	1330	-	eser	a, b, c
98	Spathulenol	220	1334	0.09	0.28	a, b, c
99	Karyofilen oksit	220	1335	0.36	4.93	a, b, c
100	Aristolene epoksit	220	1337	eser	-	a, b
101	Kubenol	222	1340	eser	eser	a, b
102	τ -Kadinol	222	1342	-	0.23	a, b, d
103	δ -Kadinol	222	1344	eser	0.27	a, b, d
104	α -Eudesmol	222	1346	eser	-	a, b
105	α -Kadinol	222	1348	eser	eser	a, b
106	Kadalen	198	1349	eser	eser	a, b
107	Alloaromadendren oksit-(1)	220	1350	-	eser	a, b, d
108	Leden oksit-(II)	220	1352	eser	-	a, b
109	8-Sedren-13-ol	220	1355	eser	-	a, b, d
110	Aromadendren oksit-(2)	220	1357	-	eser	a, b, d
111	8-hidroksi-endo-sikloizolongifolen	220	1358	eser	-	a, b, d
112	α -Bisabolol	222	1402	-	0.51	a, b
113	(E)-3-Eikosen	280	1417	eser	-	a, b
114	Benzil Benzoat	212	1496	eser	-	a, b, d
115	Kaleren epoksit	220	1526	-	eser	a, b
116	Aristolene epoksit	220	1562	-	eser	a, b, d
117	Siklerol	308	1747	eser	-	a, b, d
118	3-etil-5-(2-etilbutil)-Oktadekan	366	1814	eser	-	a, b, d
119	All- <i>trans</i> -Squalen	410	1835	-	eser	a, b, d
TOPLAM				99.86	99,93	

* Teşhis Yöntemi :

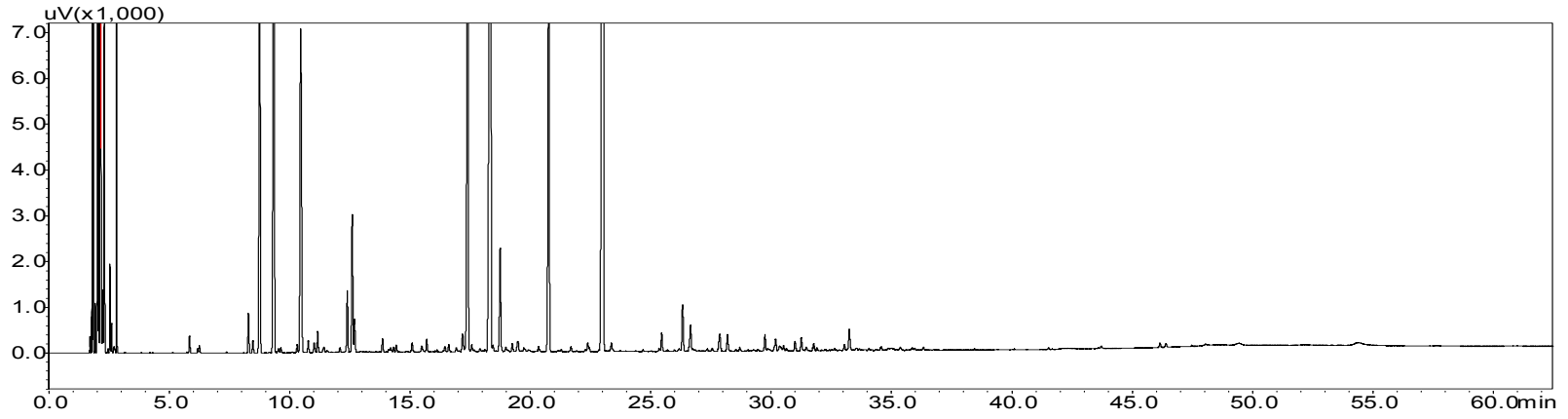
a ; Gaz kromatografisi (GC)'de referans maddelerle karşılaştırma yöntemi (Co-GC)

b ; Gaz kromatografisi-Kütle spektroskopisinde kütüphane verileri kullanarak (GC/MS)

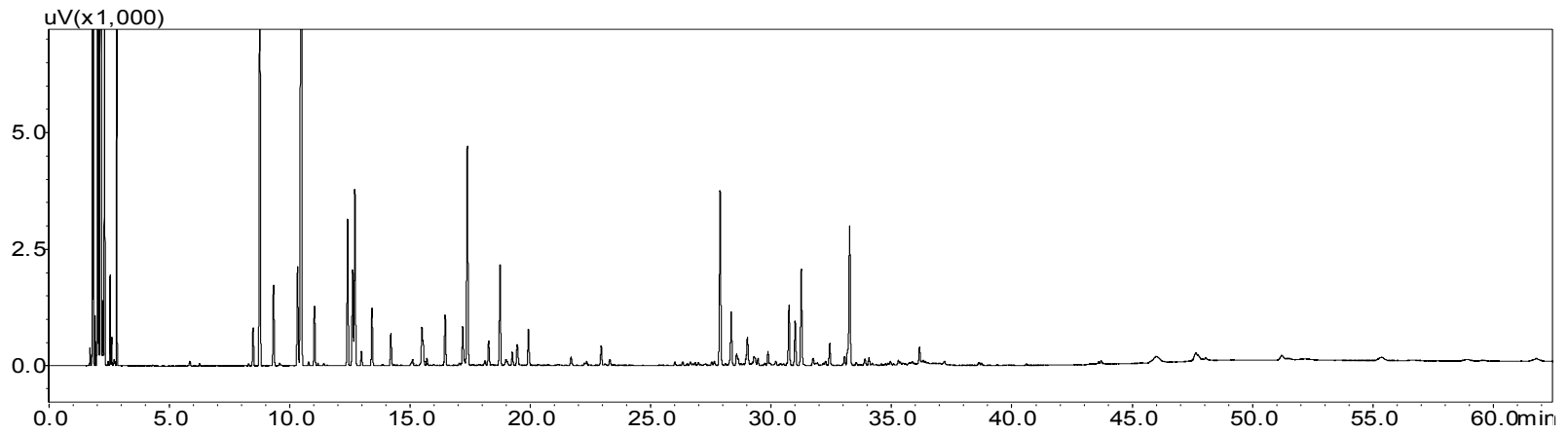
c ; Standart maddeler

d ; Literatür bilgileri kullanarak

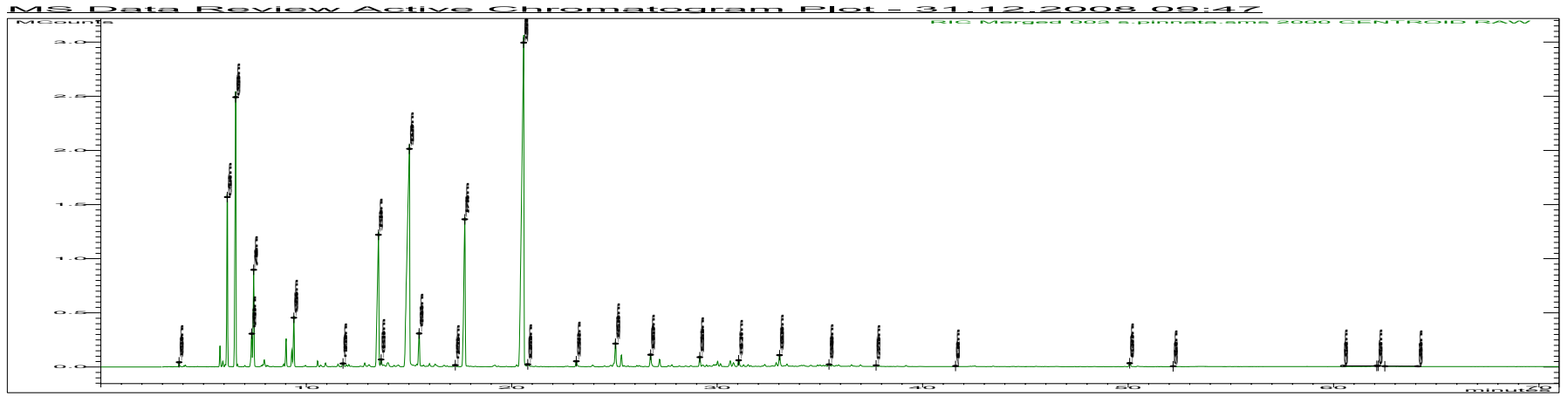
Terpenoid Bileşik Sınıfları (%)	<i>Salvia pinnata</i>	<i>Salvia bracteata</i>
MTHK (Monoterpen Hidrokarbonlar)	28.33	51.35
OTMT (Oksijenli Monoterpen Hidrokarbonlar)	68.19	23.37
STHK (Seskiterpen Hidrokarbonlar)	2.10	17.39
OTST (Oksijen Taşıyan Seskiterpenler)	0.45	6.22
DT (Diterpenler)	eser	–
Diğerleri	0.79	1.60
Teşhis edilemeyenler	0.14	0.07
TOPLAM	99.86	99.93



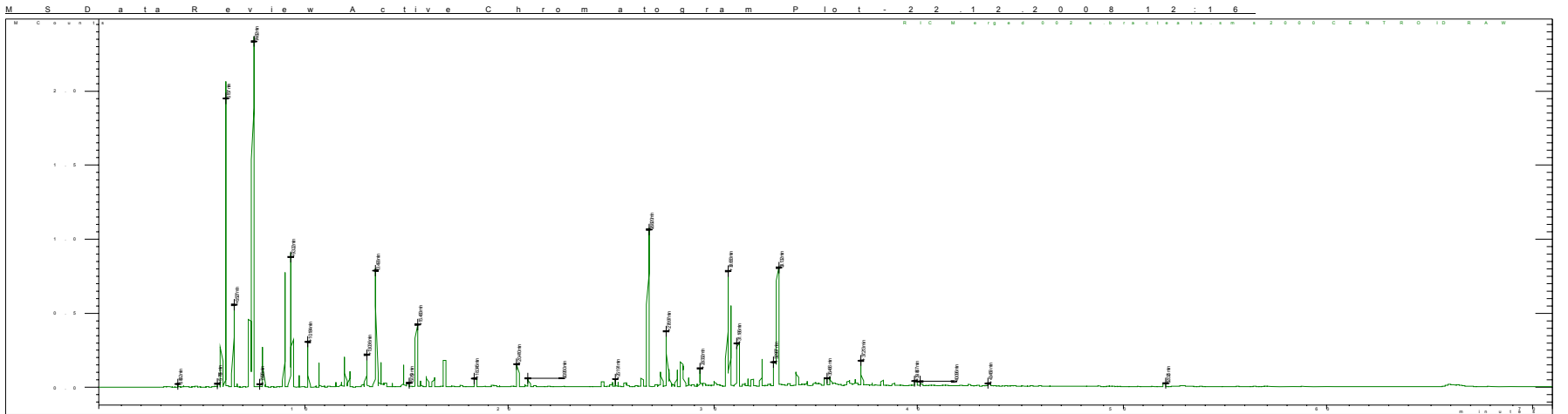
Şekil 4.1. *Salvia pinna* bitkisinin uçucu yağının GC kromotogramı



Şekil 4.2. *Salvia bracteata* bitkisinin uçucu yağının GC kromotogramı

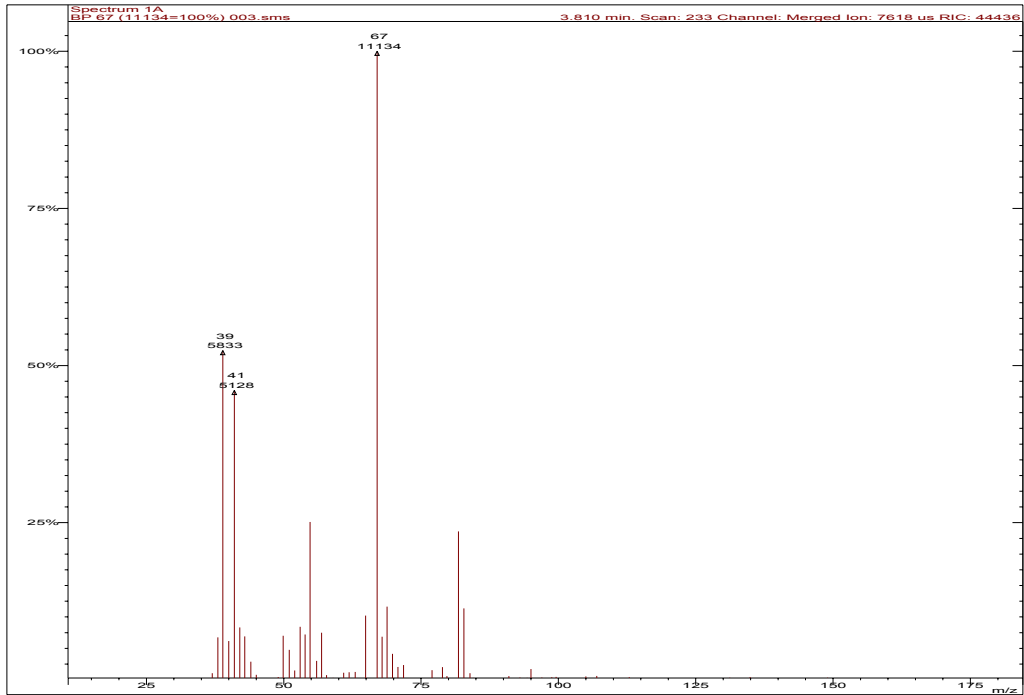


Şekil 4.3. *Salvia pinnata* bitkisinin uçucu yağının GC/MS kromotogramı

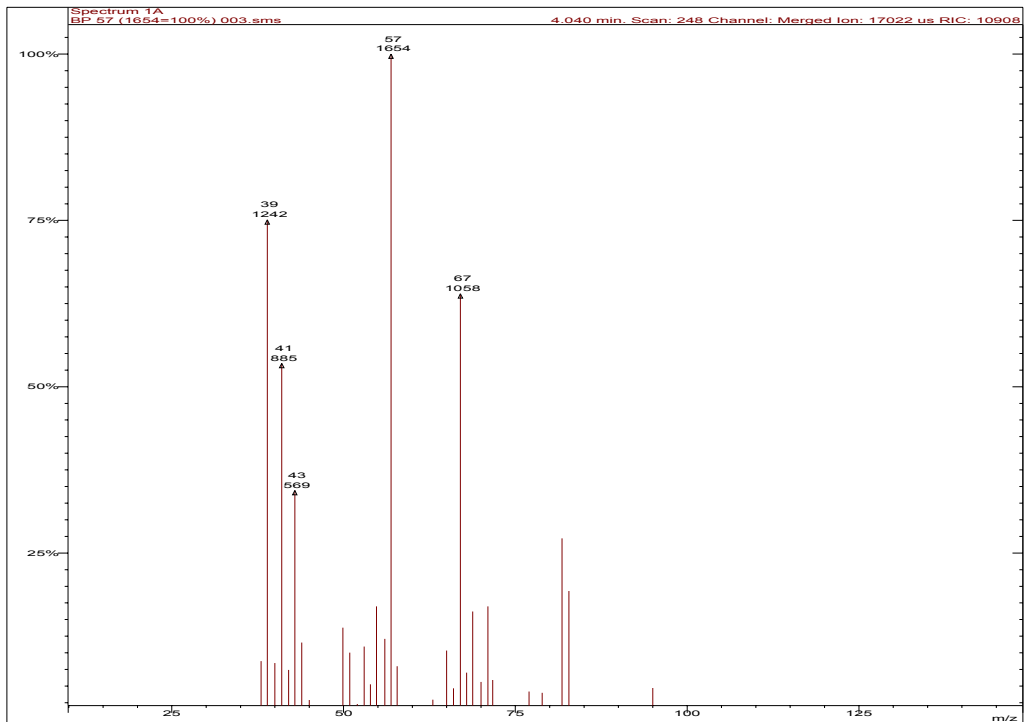


Şekil 4.4. *Salvia bracteata* bitkisinin uçucu yağının GC/MS kromotogramı

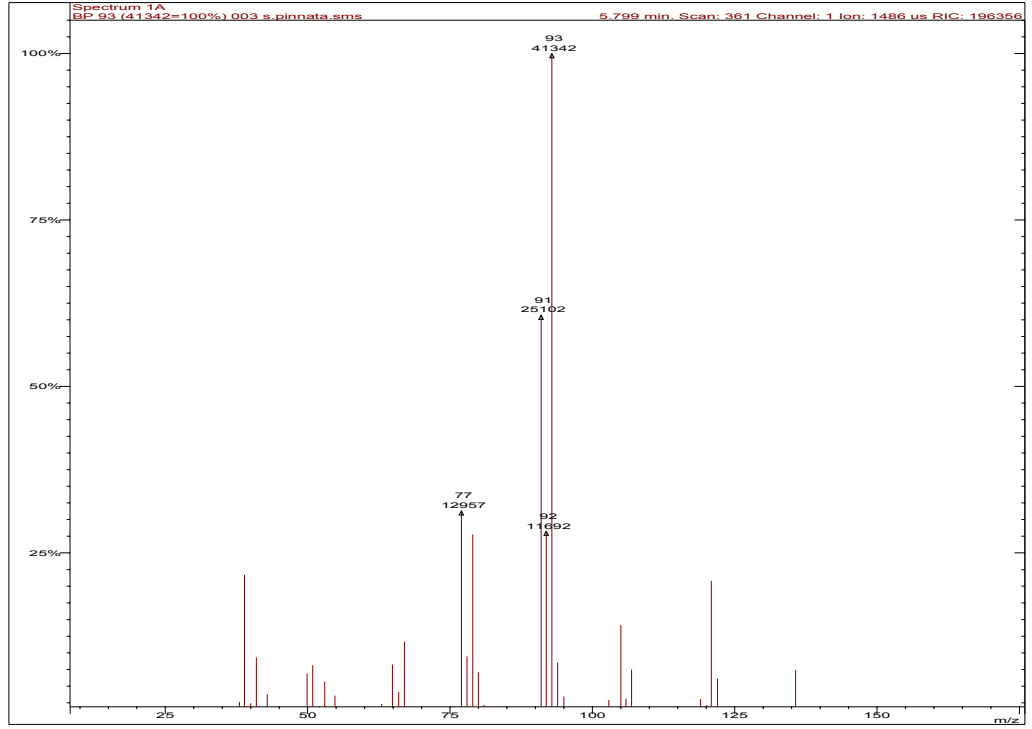
Spectrum 1A Plot - 04.07.2008 11:32

Şekil 4.5. *cis*-3-Hekzen-1-ol'ün kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 04.07.2008 11:38

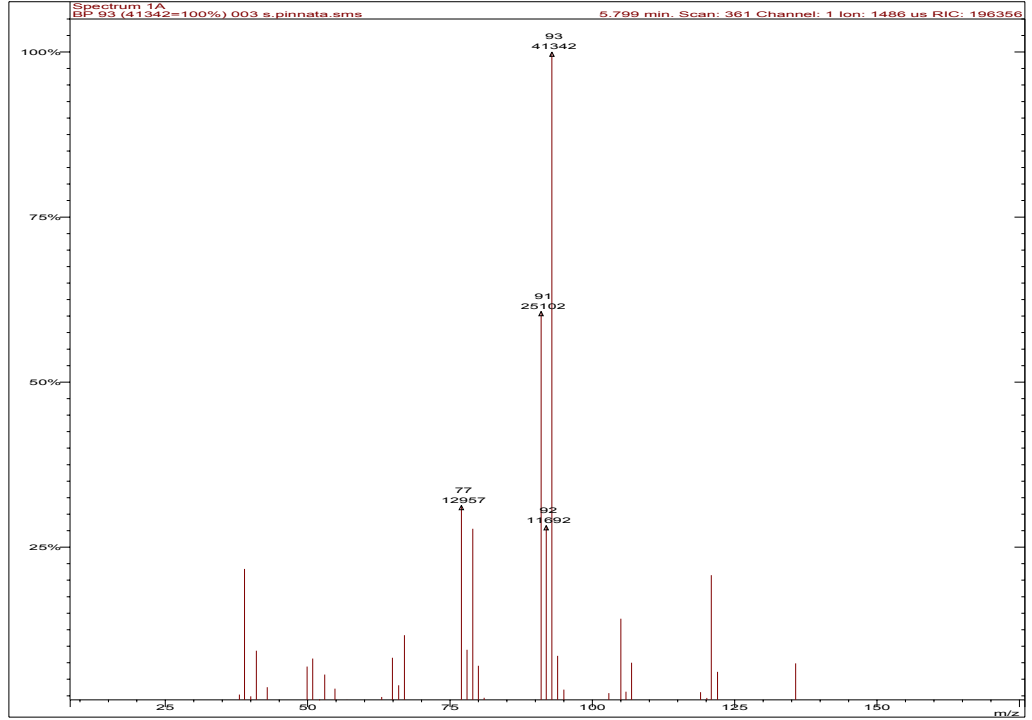
Şekil 4.6. *trans*-2-Hekzen-1-ol'ün kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 09:37



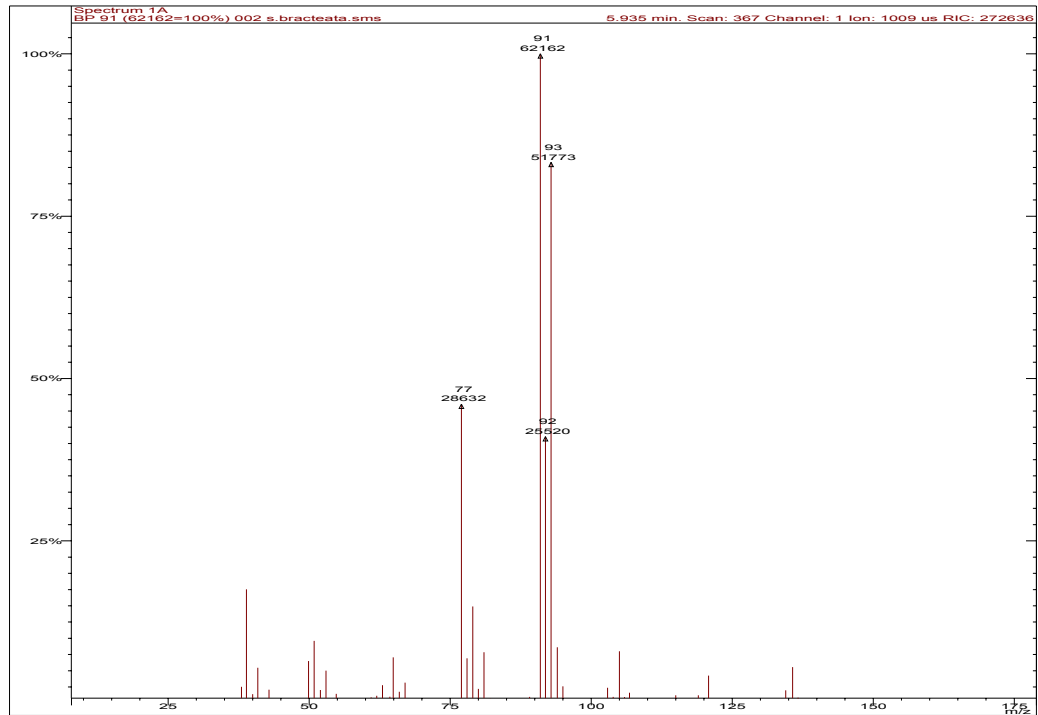
Şekil 4.7. 3,4-Dimetil pentanol'ün kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 09:37

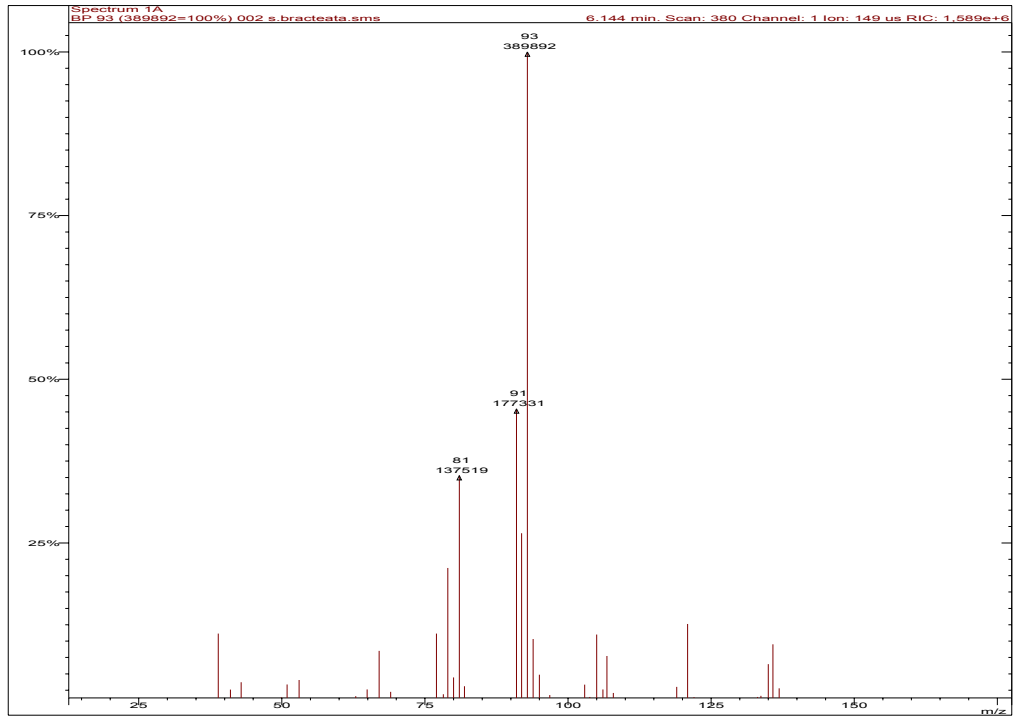


Şekil 4.8. Trisiklen'in kütle spektrumu

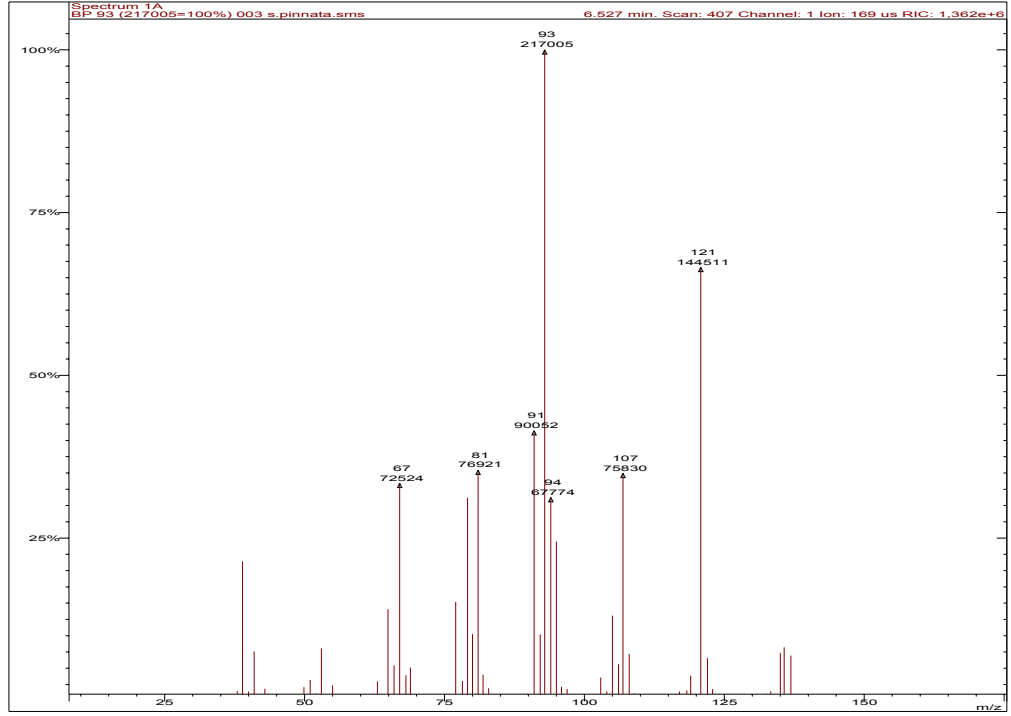
Spectrum 1A Plot - 09.08.2008 10:03

Şekil 4.9. α -Tujen'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 09.08.2008 10:05

Şekil 4.10. α -Pinen'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 09:44



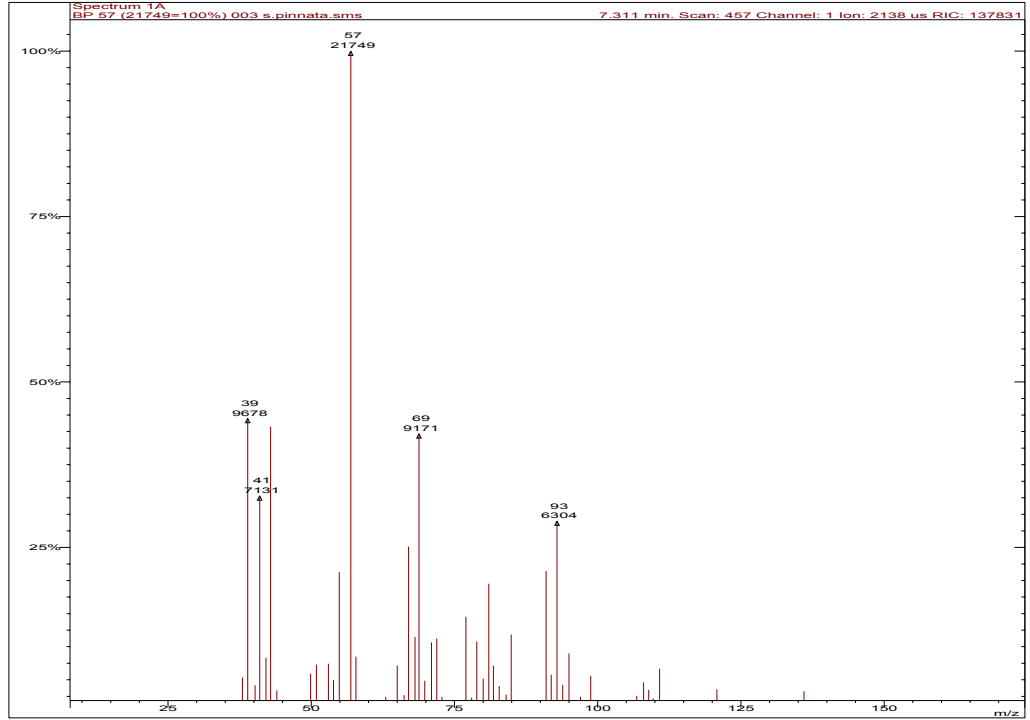
Şekil 4.11. Kamfen'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 09.08.2008 10:08

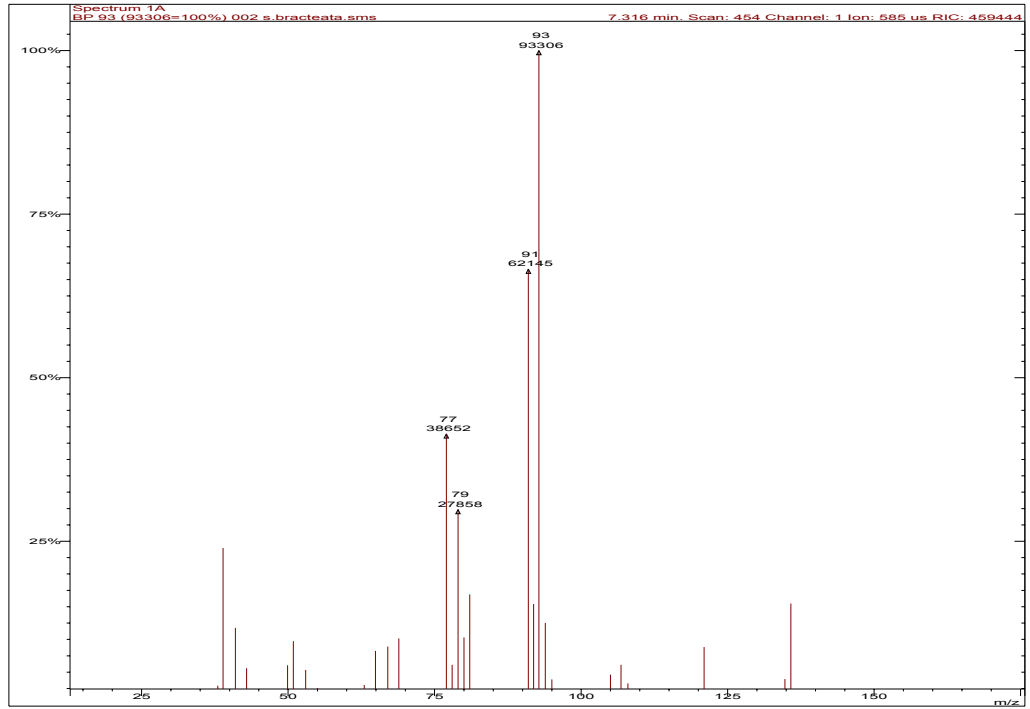


Şekil 4.12. o-Ksilen'in kütle spektrumu

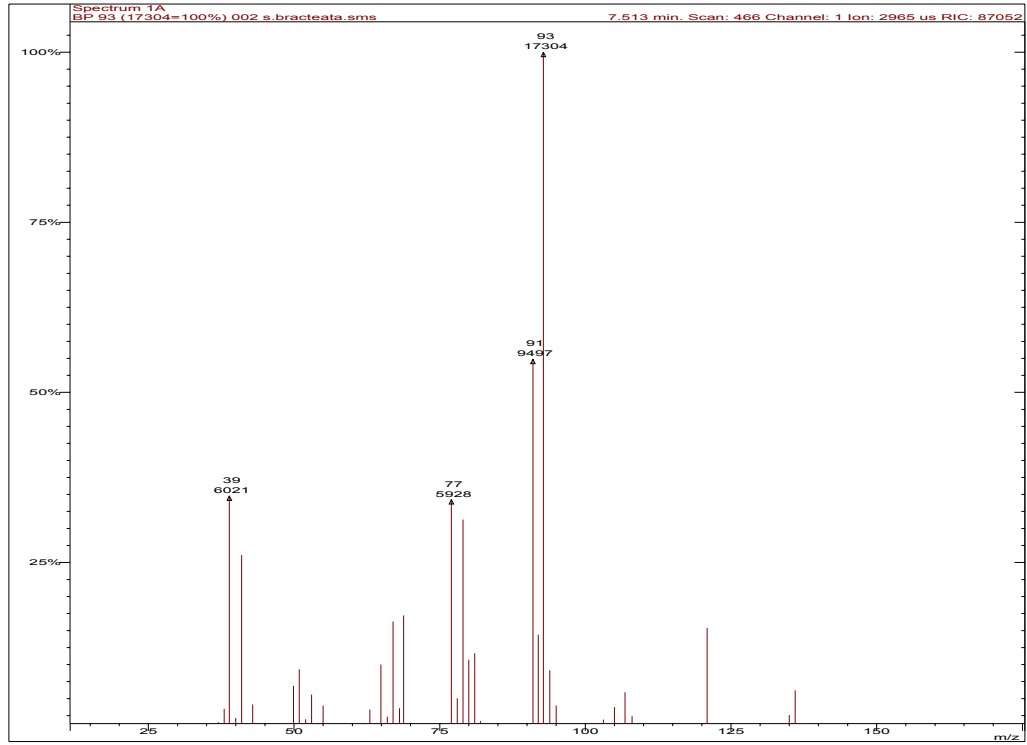
Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 09:45

Şekil 4.13. *trans*-2-etil-2-hekzen-1-ol'ün kütle spektrumu

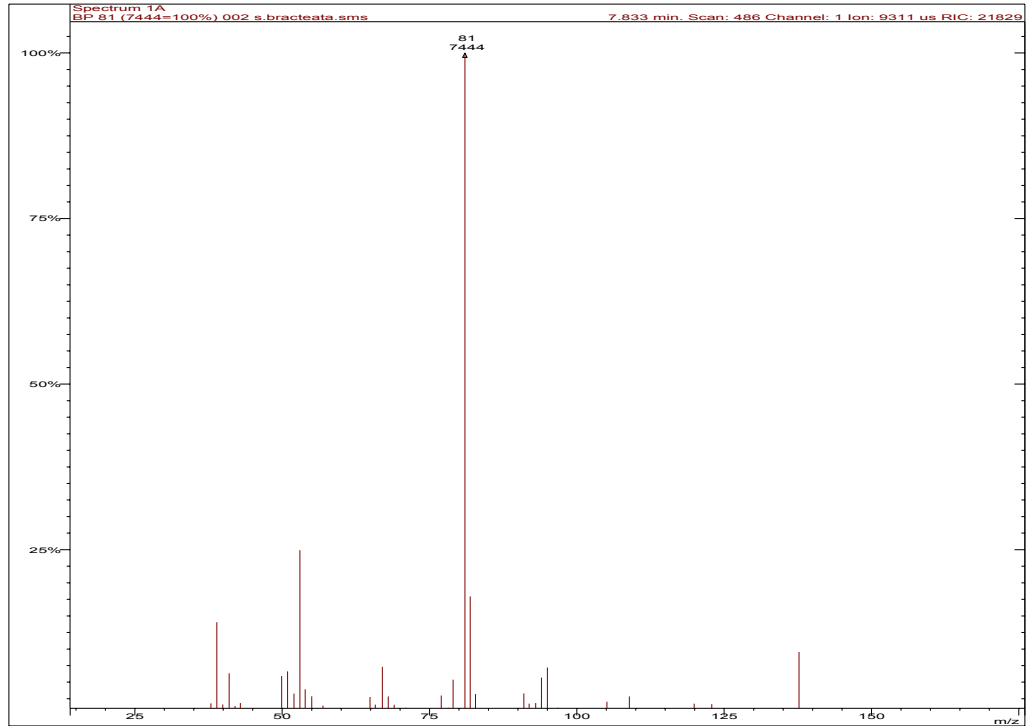
Spectrum 1A Plot - 09.08.2008 10:09

Şekil 4.14. β -Fellandren'un kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 09.08.2008 10:10

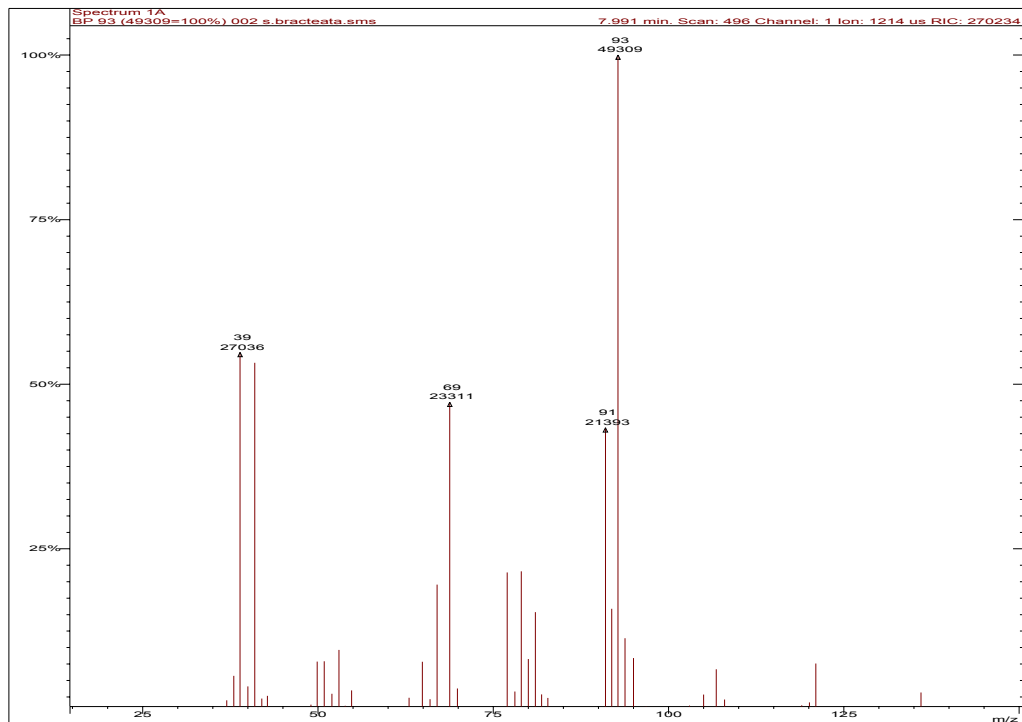
Şekil 4.15. β -Pinen'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 09.08.2008 10:11

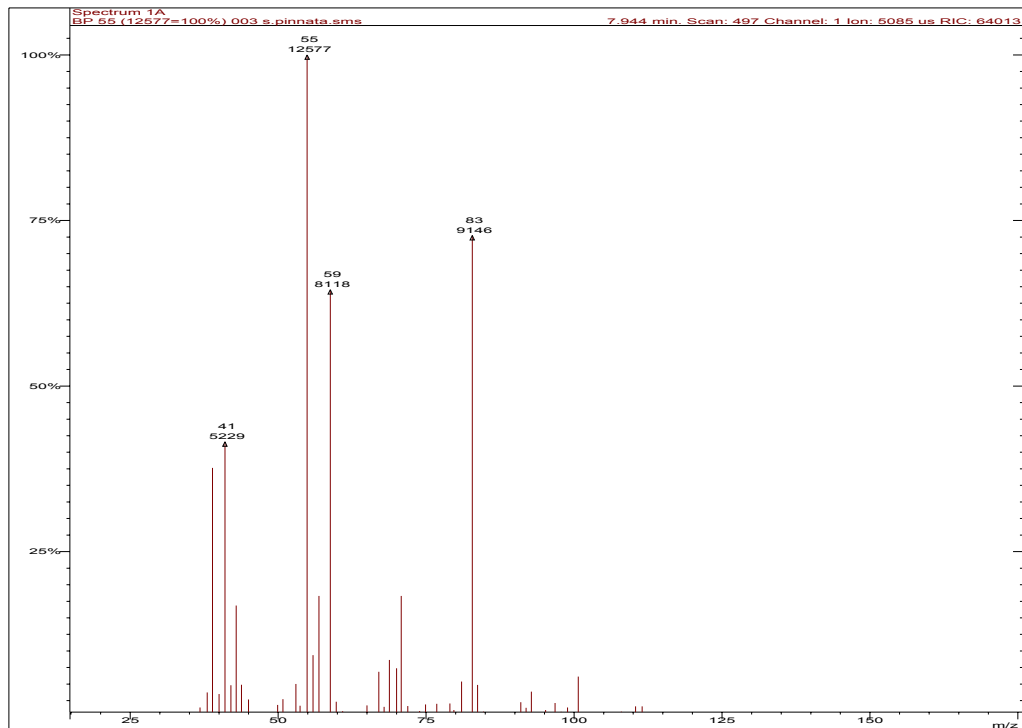


Şekil 4.16. 2-Pentilfuran'ın kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 09.08.2008 10:12

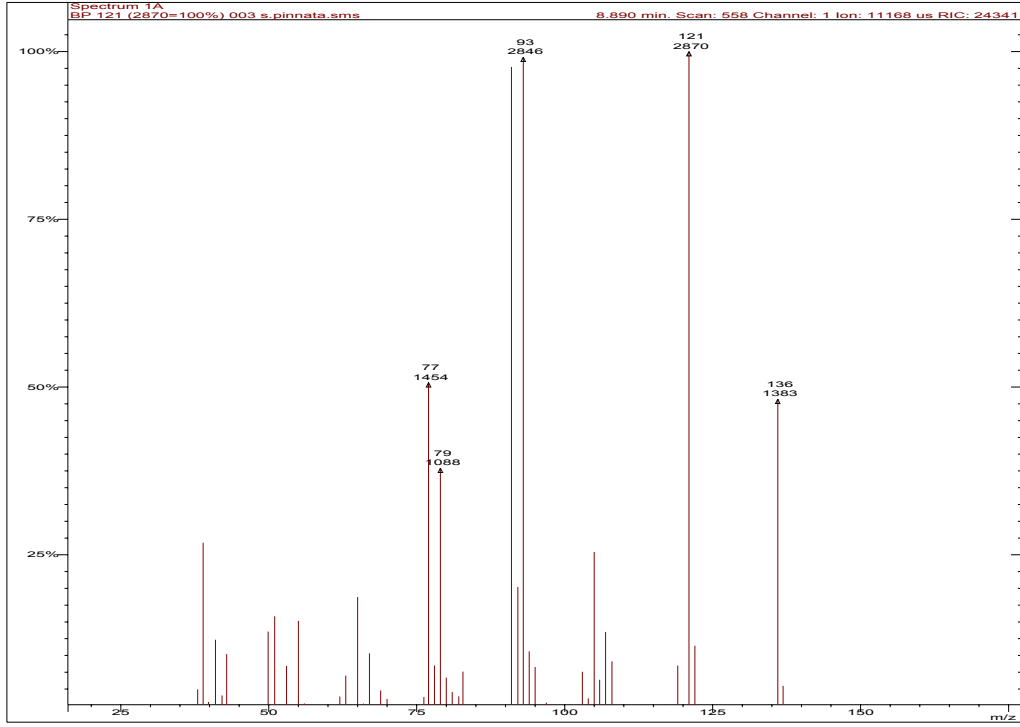
Şekil 4.17. β -Mircen'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 09:49

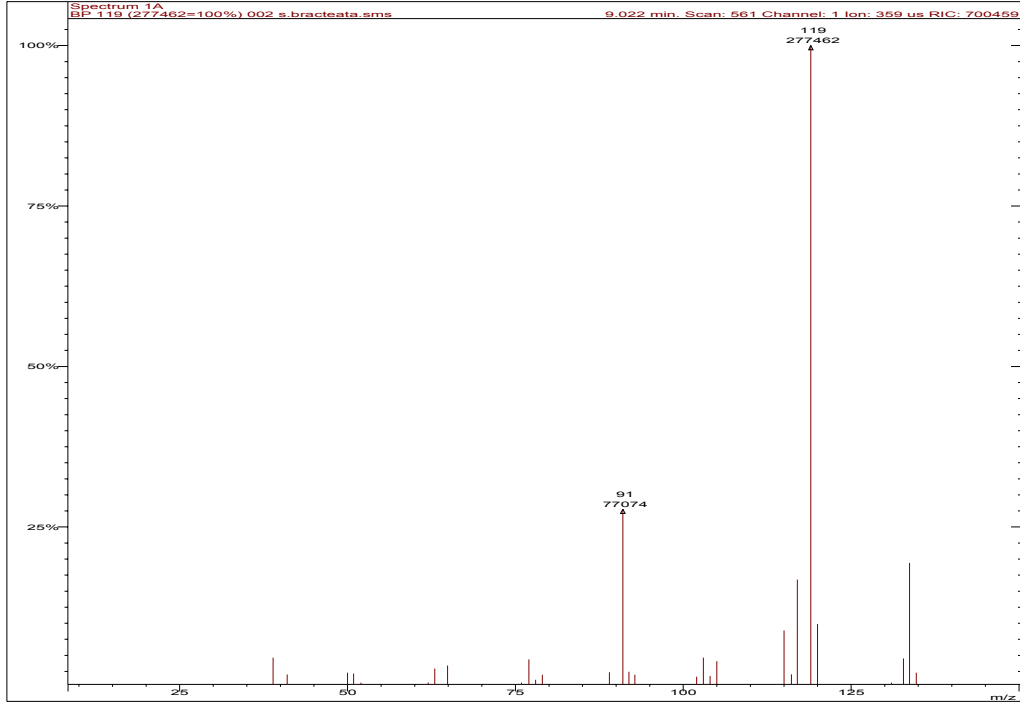


Şekil 4.18. 3-Oktanol'ün kütle spektrumu

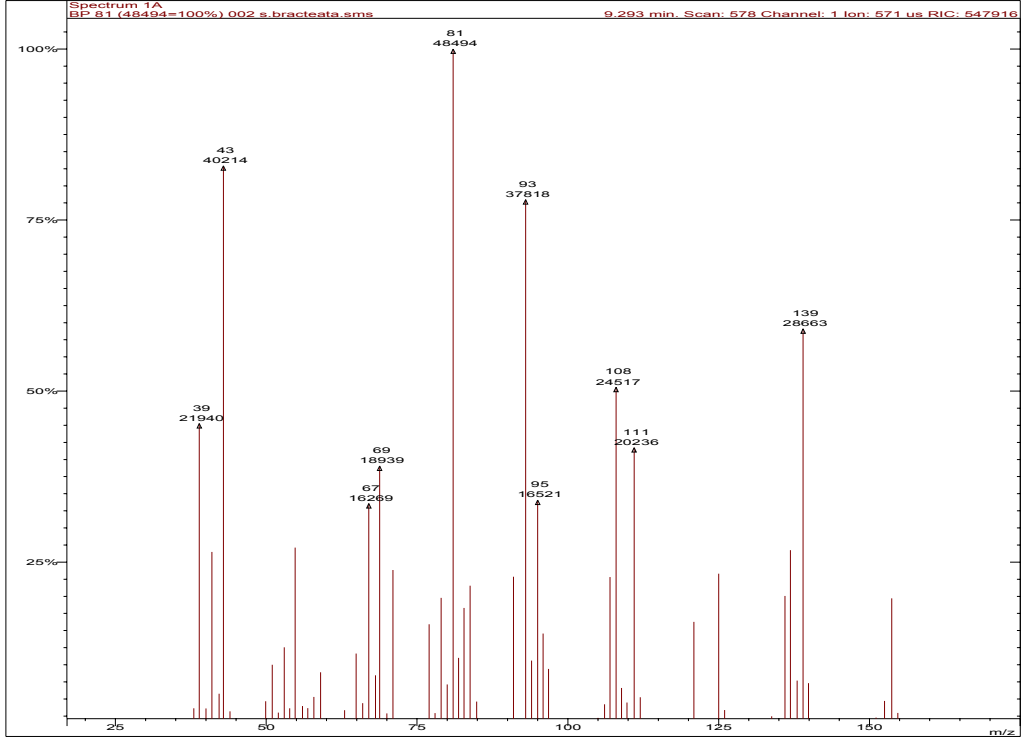
Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 09:51

Şekil 4.19. *trans*-2-Karen-4-ol'ün kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 09.08.2008 10:14

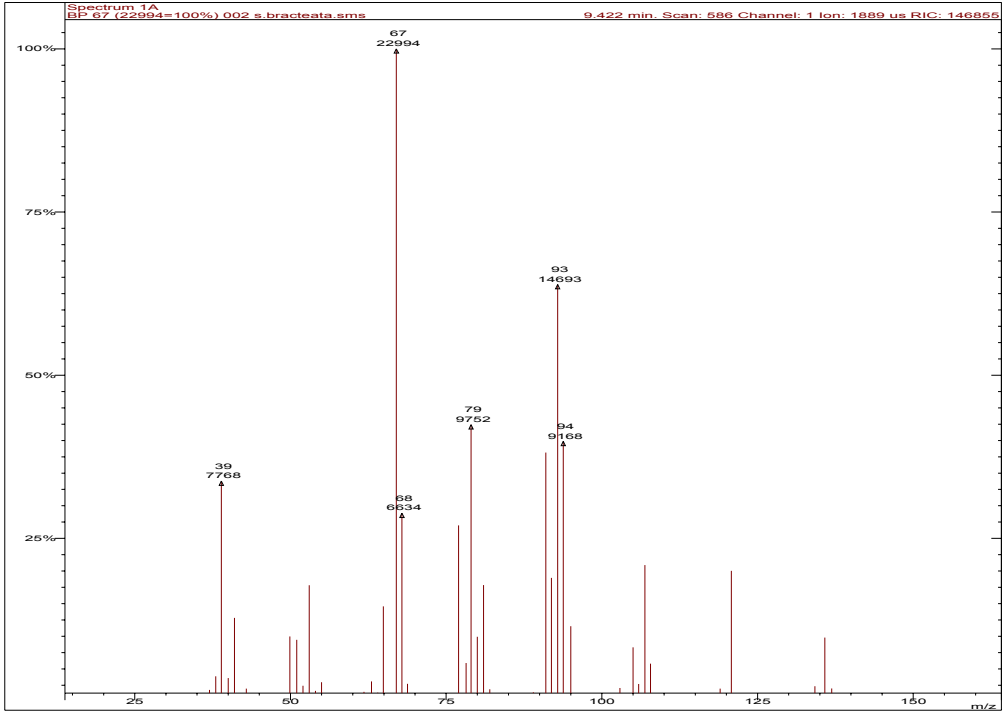
Şekil 4.20. *p*-Simen'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 09.08.2008 10:15



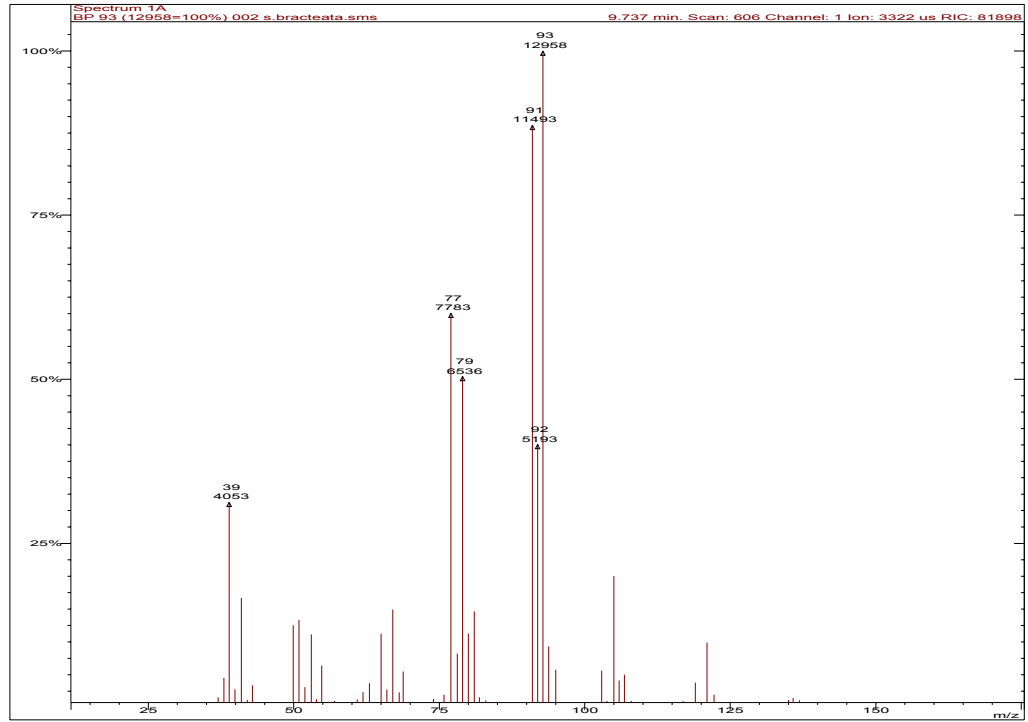
Şekil 4.21. Ökalyptol (1,8-Sineol)'ün kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 09.08.2008 10:17

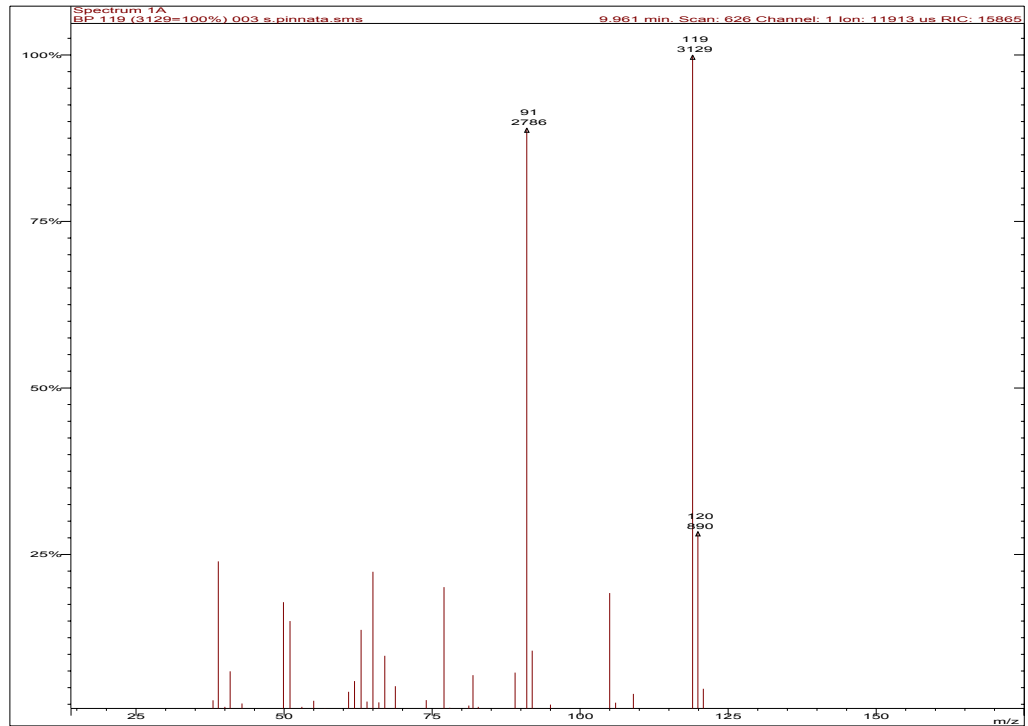


Şekil 4.22. D-Limonen'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 09.08.2008 10:18

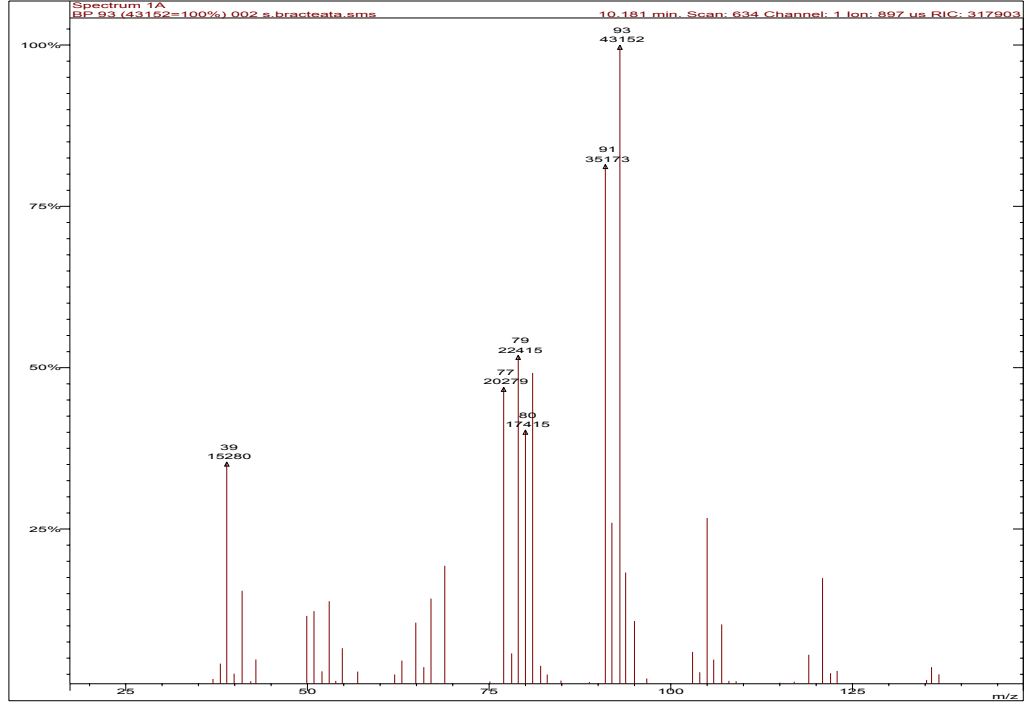
Şekil 4.23. *cis*- β -Osimen'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 10:22

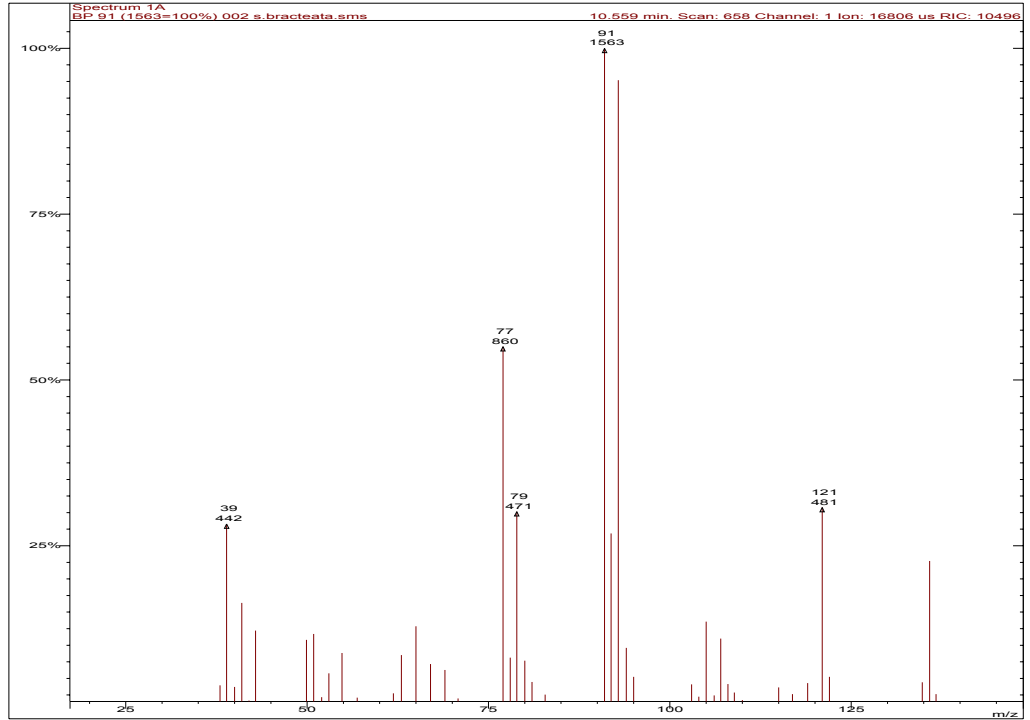


Şekil 4.24. 2-metil-Benzaldehit'in kütle spektrumu

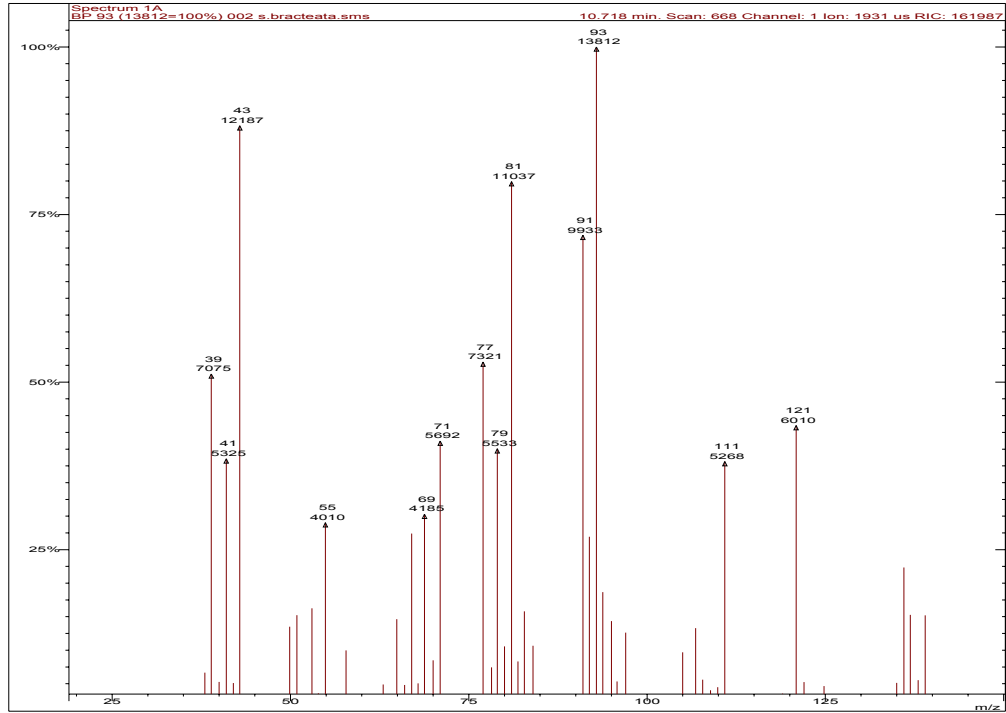
Spectrum 1A Plot - 09.08.2008 10:19

Şekil 4.25. *trans*- β -Osimen'in kütle spektrumu

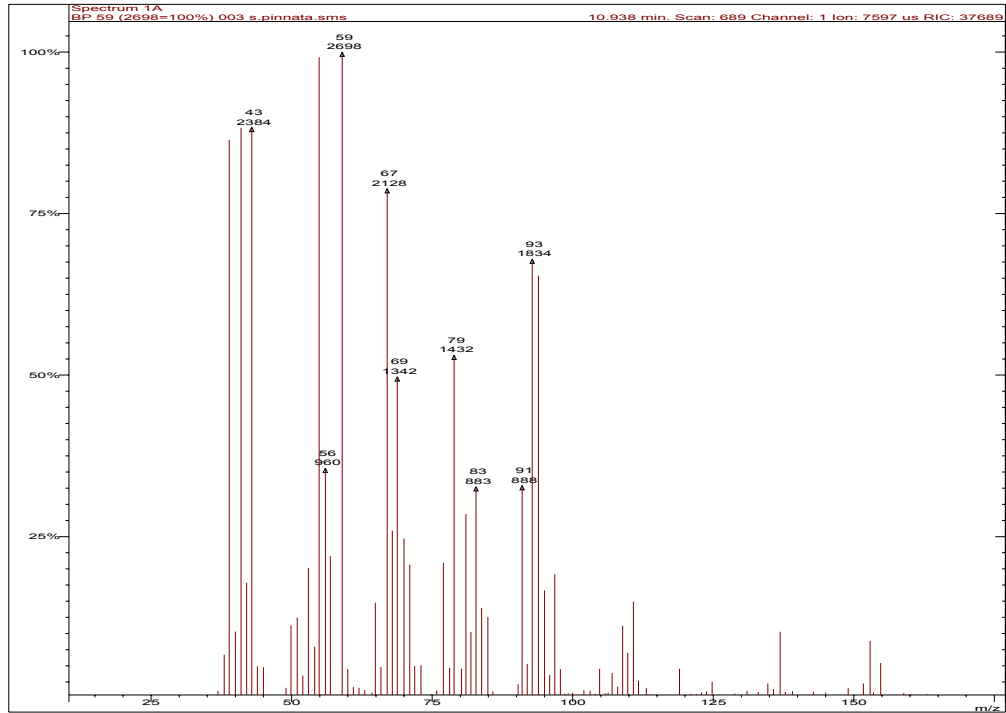
Spectrum 1A Plot - 09.08.2008 10:29

Şekil 4.26. γ -Terpinen'in kütle spektrumu

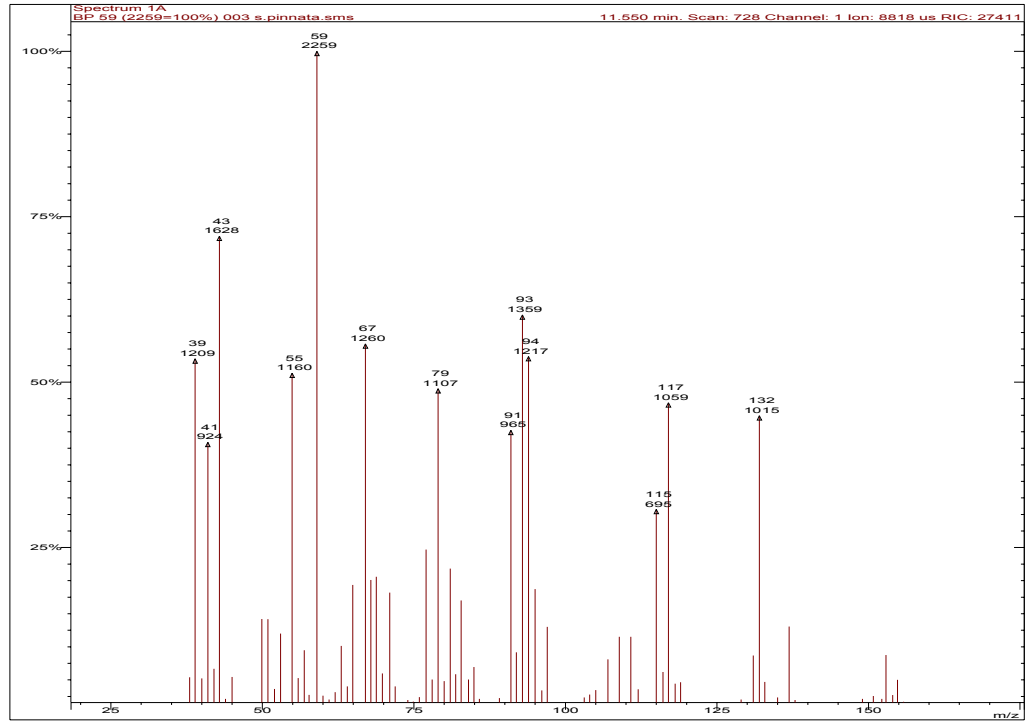
Spectrum 1A Plot - 09.08.2008 10:30

Şekil 4.27. *cis-p*-Menth-2-en-1-ol'ün kütle spektrumu

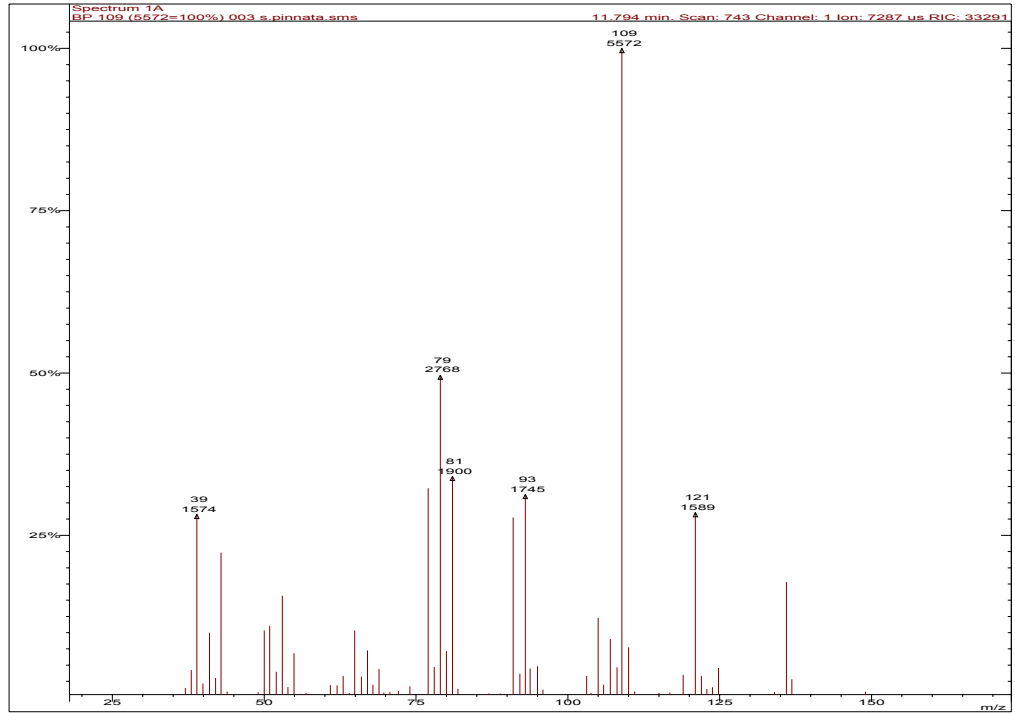
Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 10:27

Şekil 4.28. *cis*-Linalol oksit'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 10:29

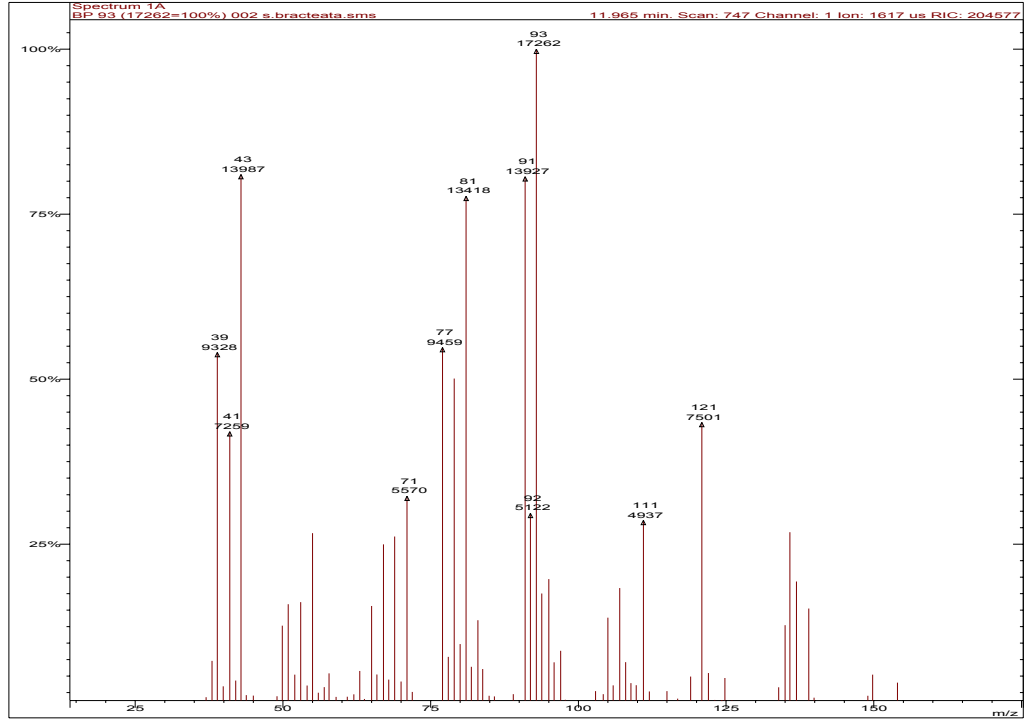
Şekil 4.29. *trans*-Linalol oksit'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 10:31

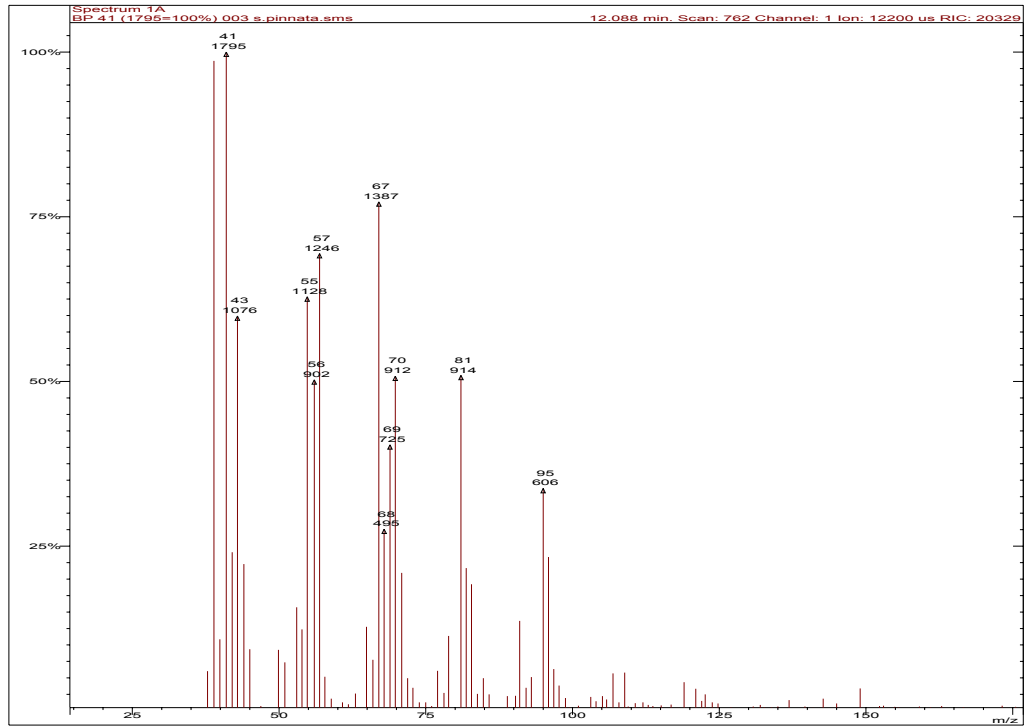


Şekil 4.30. Terpinolen'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 09.08.2008 10:31

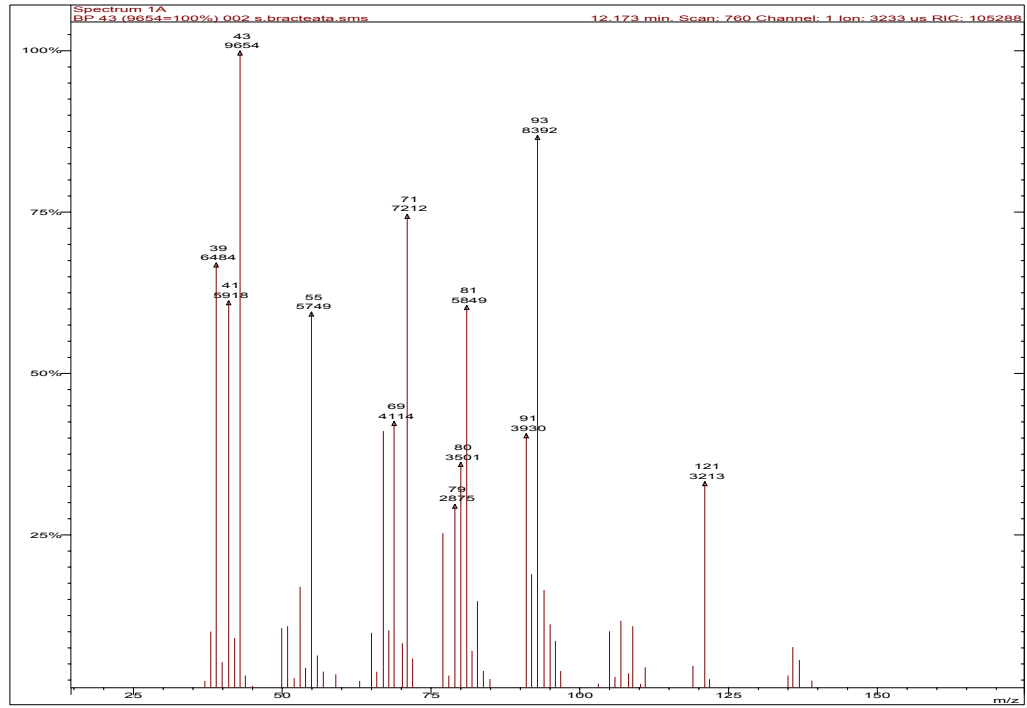
Şekil 4.31. *cis*-Sabinen hidrat'ın kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 10:35



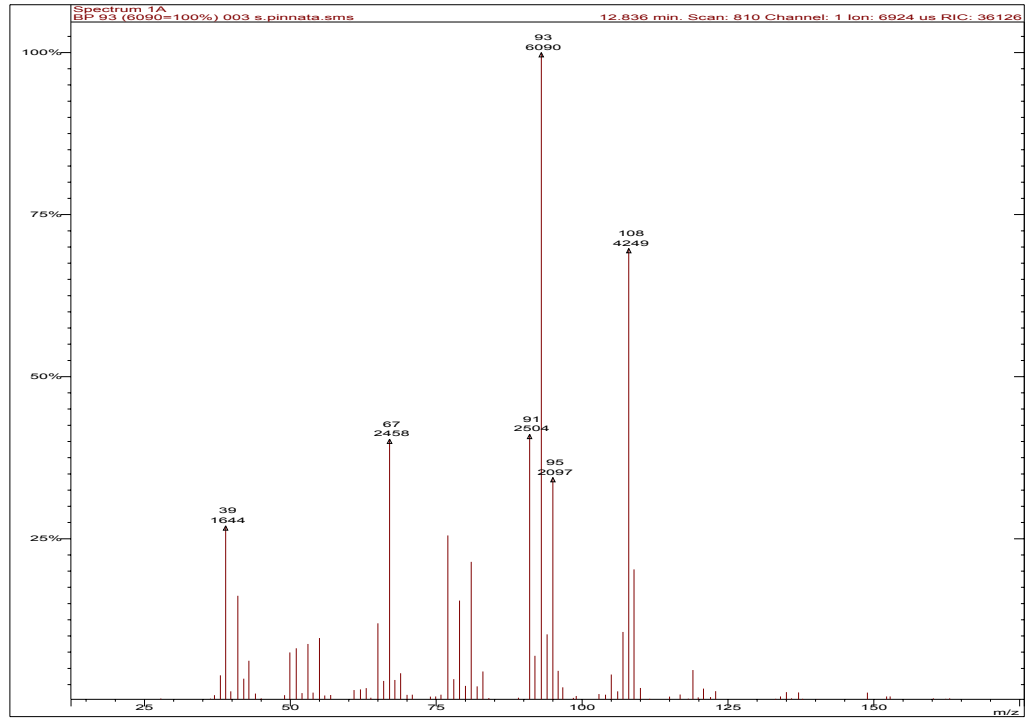
Şekil 4.32. (E)-2-Desen-1-ol'ün kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 09.08.2008 10:33

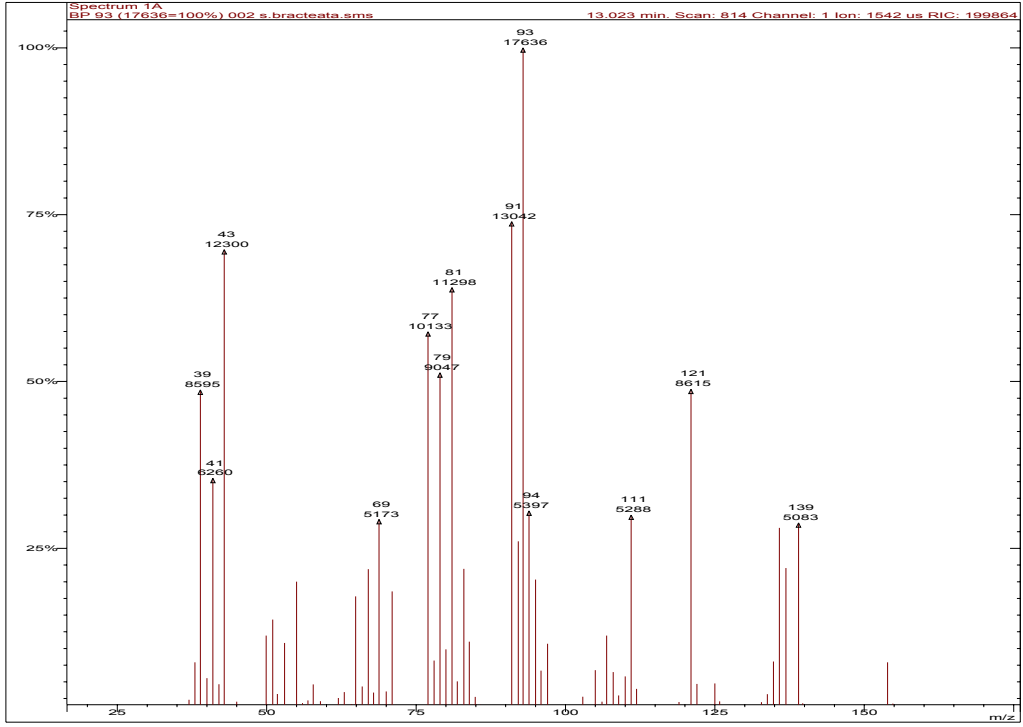


Şekil 4.33. Linalol'ün kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 10:37

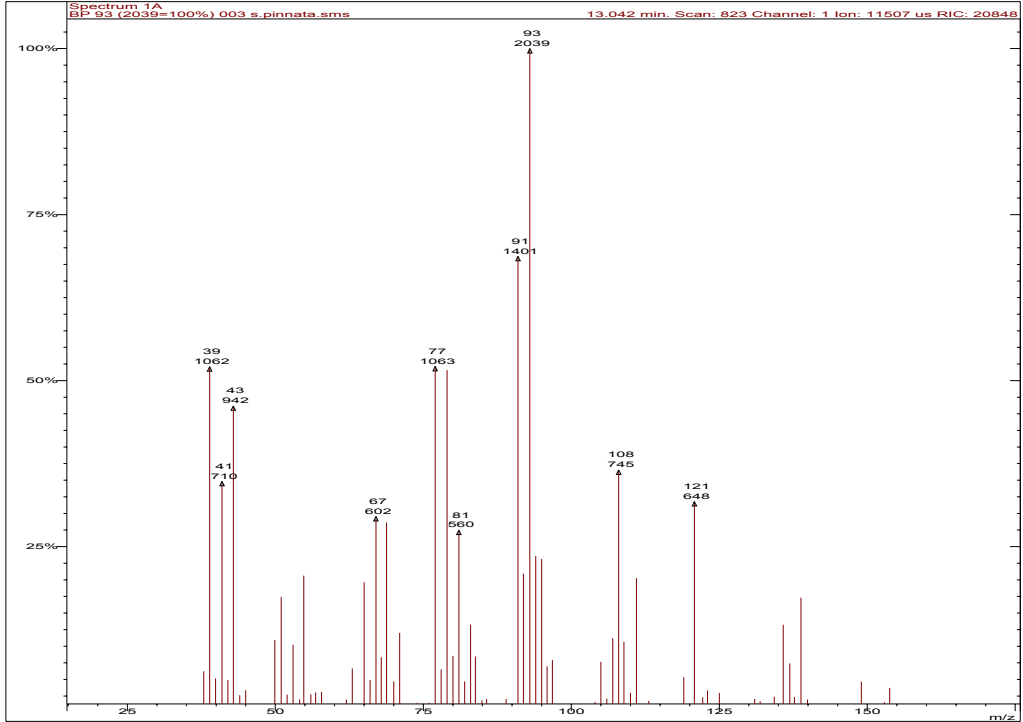
Şekil 4.34. α -Kamfolenal'ın kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 09.08.2008 10:36



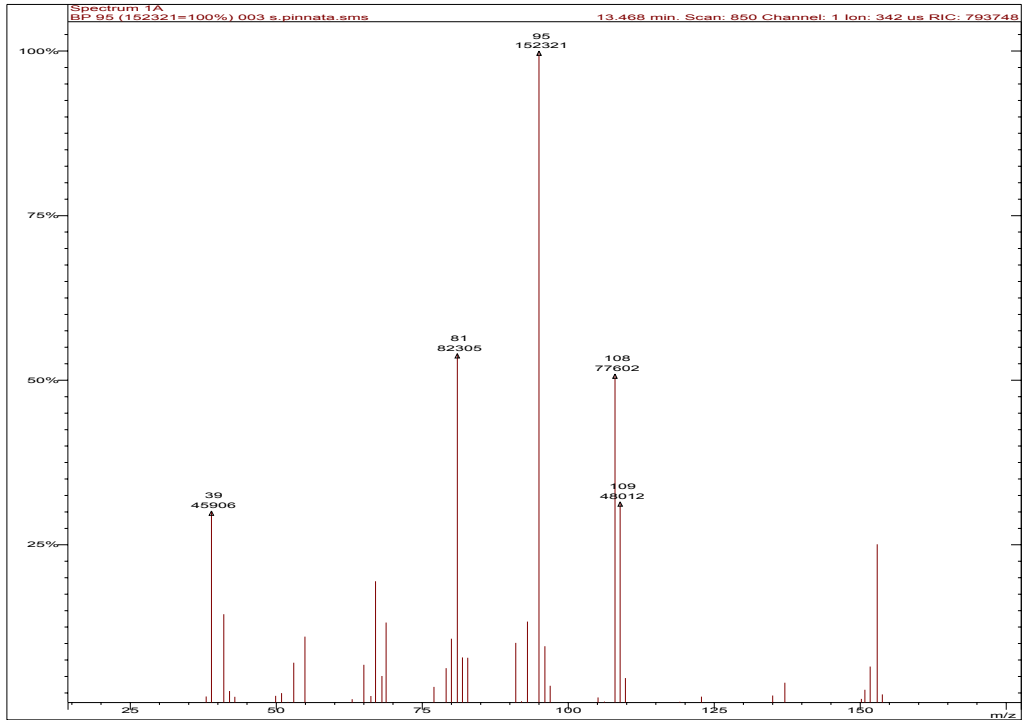
Şekil 4.35. 4-İzopropil-1-metil-2-sikloheksen-1-ol'ün kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 10:38



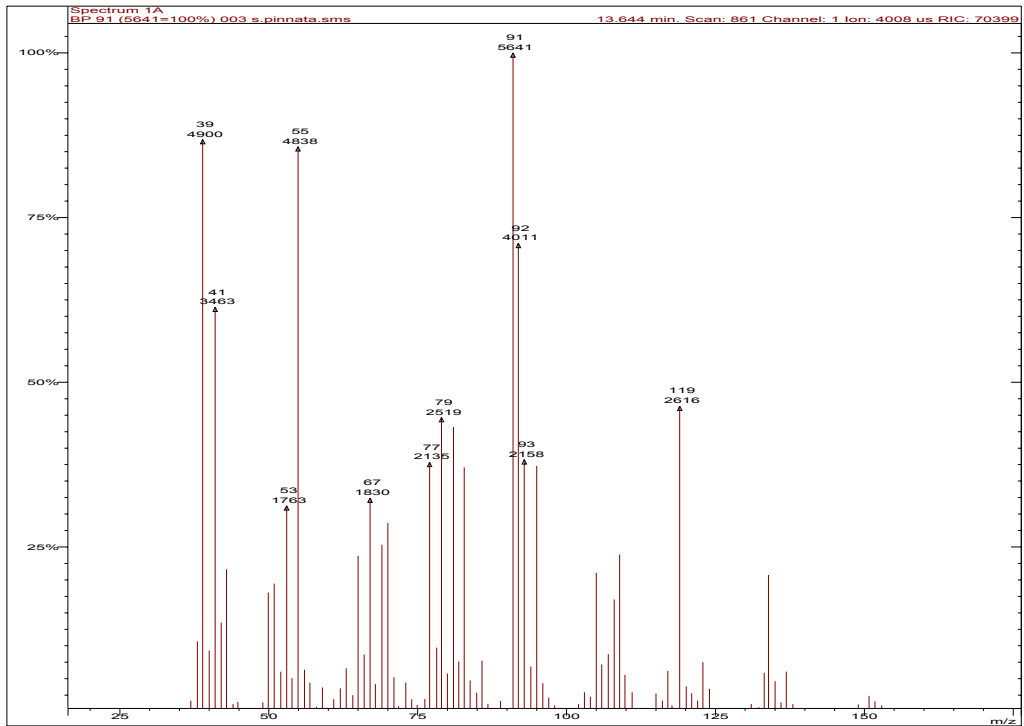
Şekil 4.36. 6-Kamfenol'ün kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 10:40

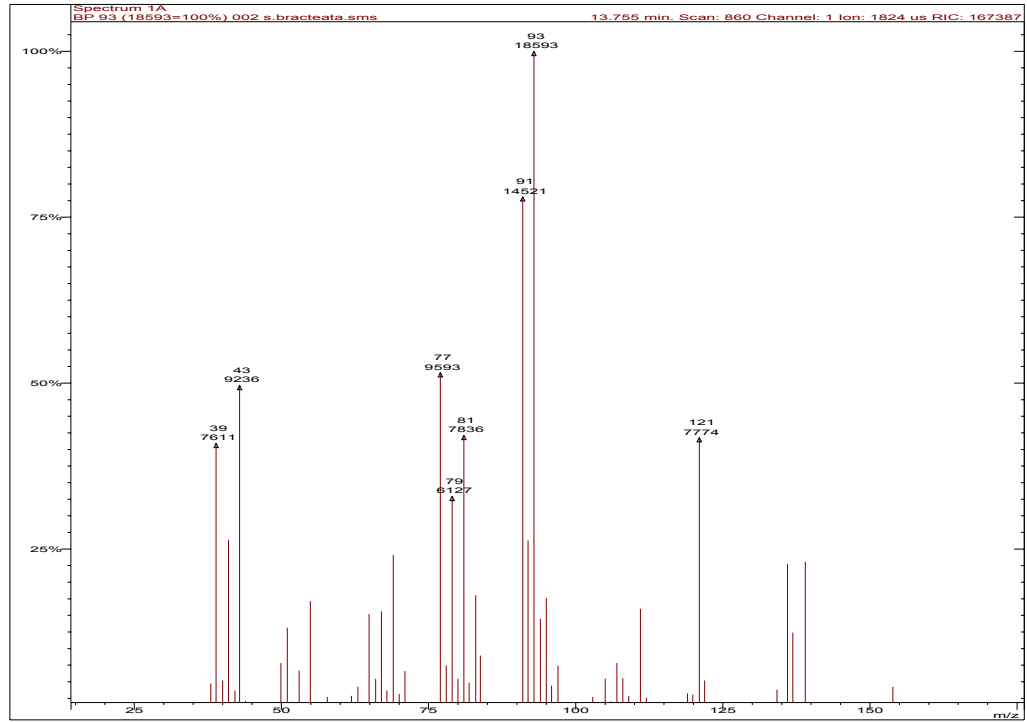


Şekil 4.37. Kamfor'un kütle spektrumu

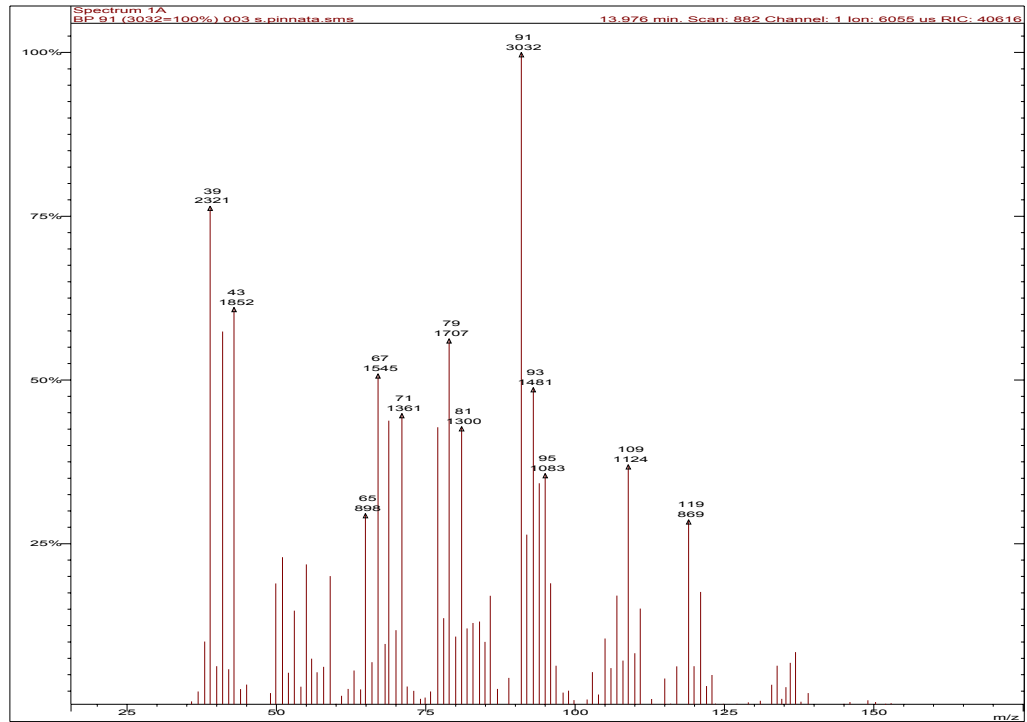
Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 10:42

Şekil 4.38. *trans*-Pinocarveol'un kütle spektrumu

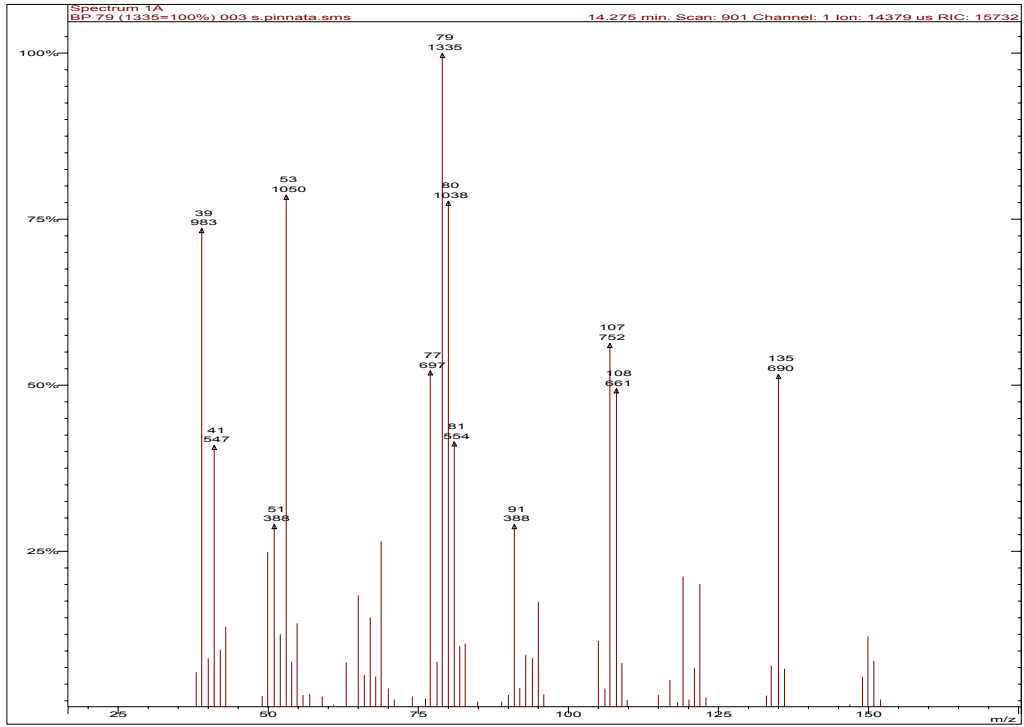
Spectrum 1A Plot - 09.08.2008 10:40

Şekil 4.39. *cis*- β -Terpineol'ün kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 11:02

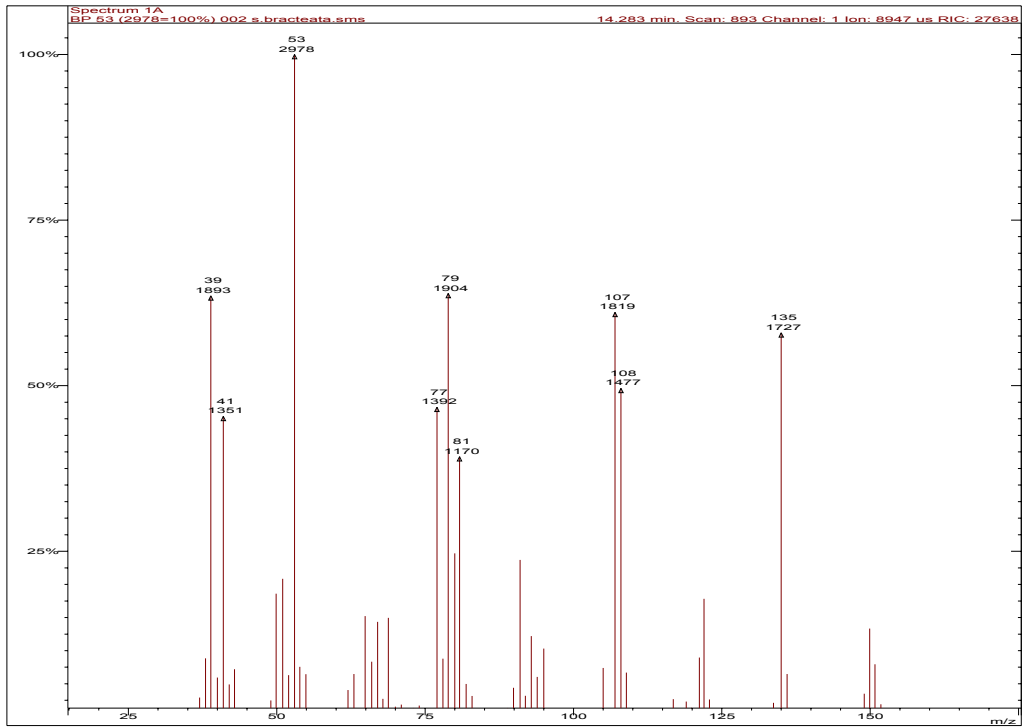
Şekil 4.40. *cis*-Verbenol'ün kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 11:07



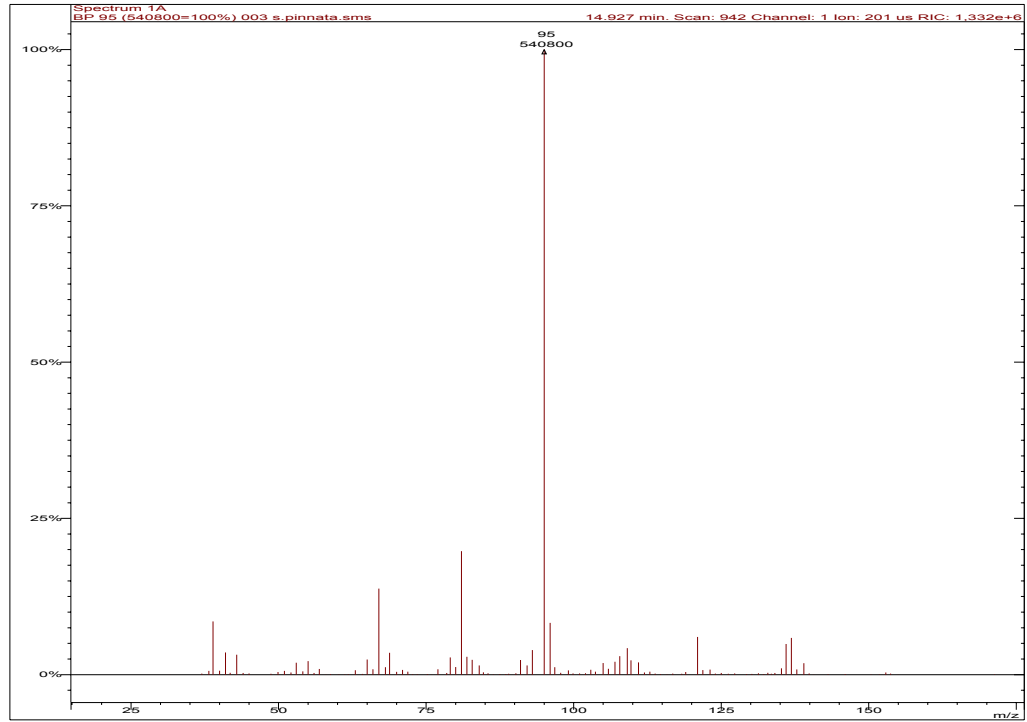
Şekil 4.41. Pinokarvon'un kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 09.08.2008 10:41



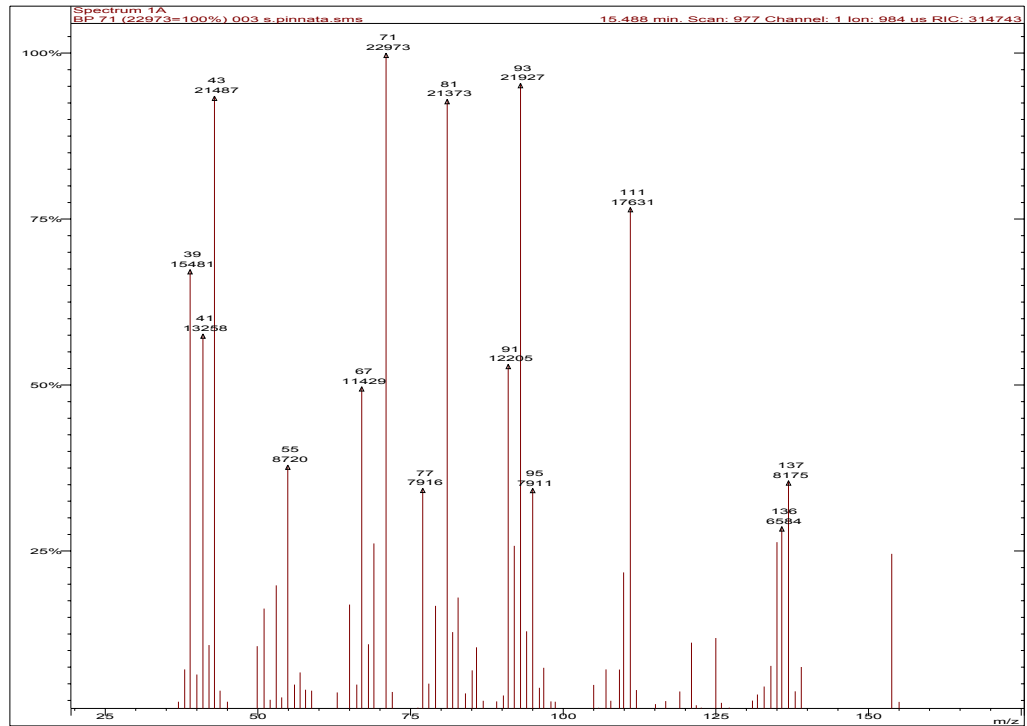
Şekil 4.42. Verbenon'un kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 11:10



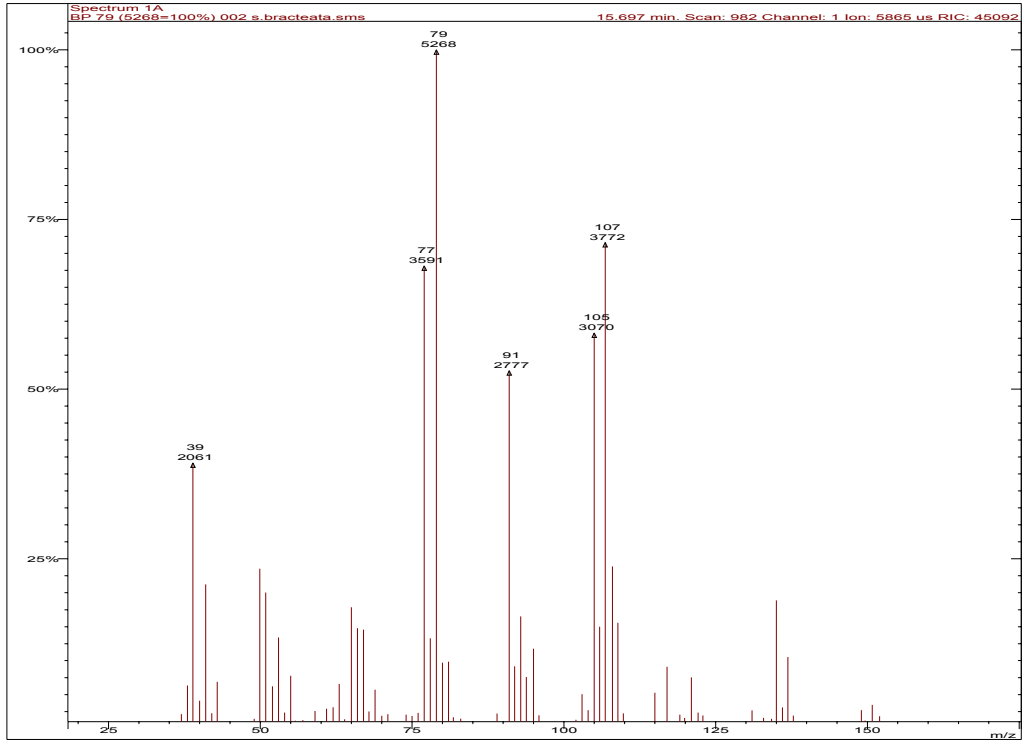
Şekil 4.43. Borneol'ün kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 11:12



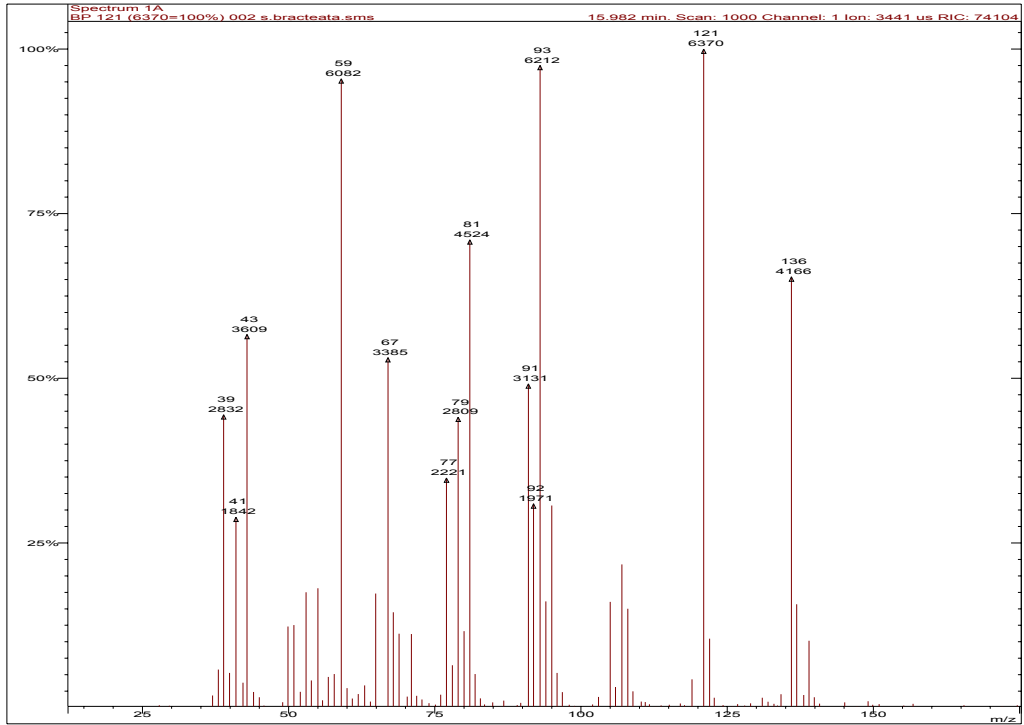
Şekil 4.44. Terpinen-4-ol'ün kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 18.09.2008 14:18

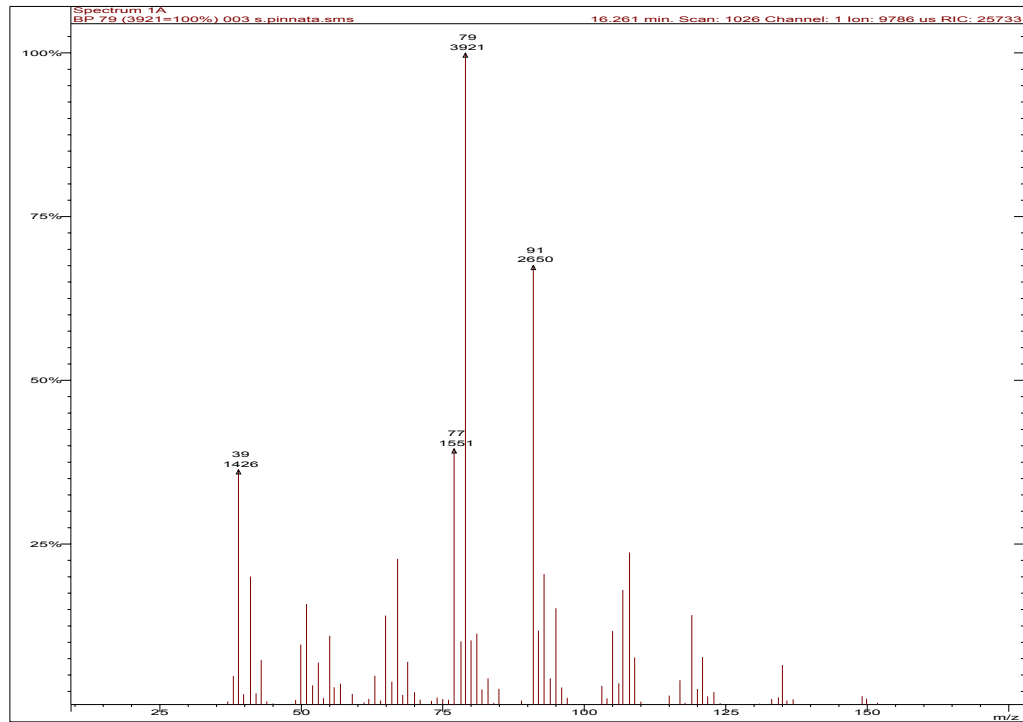


Şekil 4.45. Mirtental'ın kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 18.09.2008 14:22

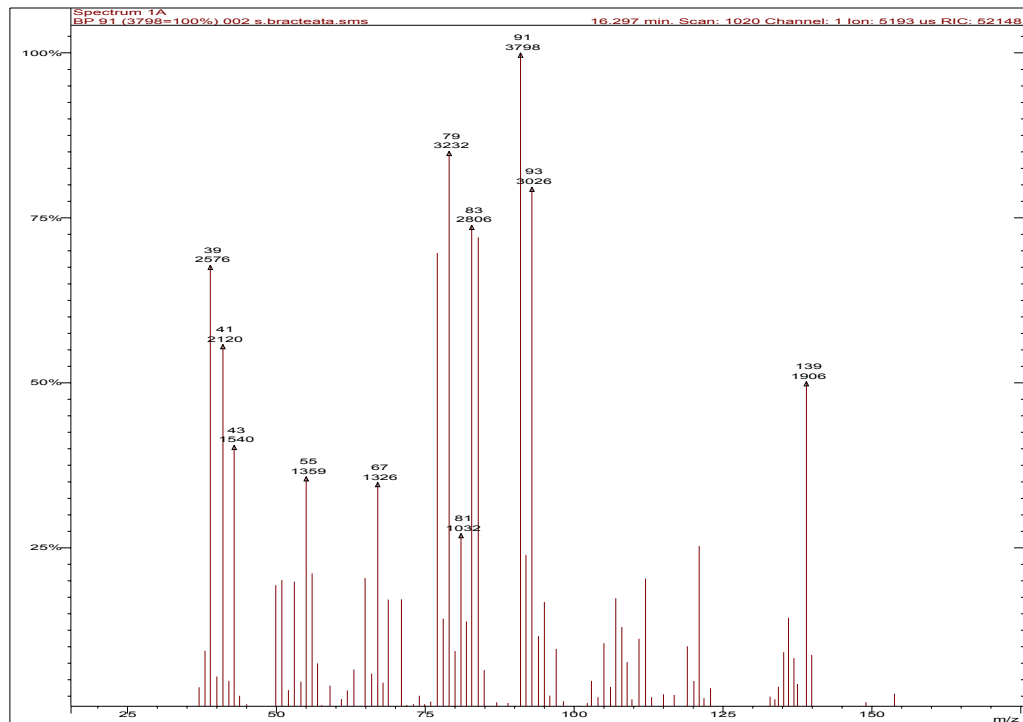
Şekil 4.46. α -Terpineol'ün kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 11:16

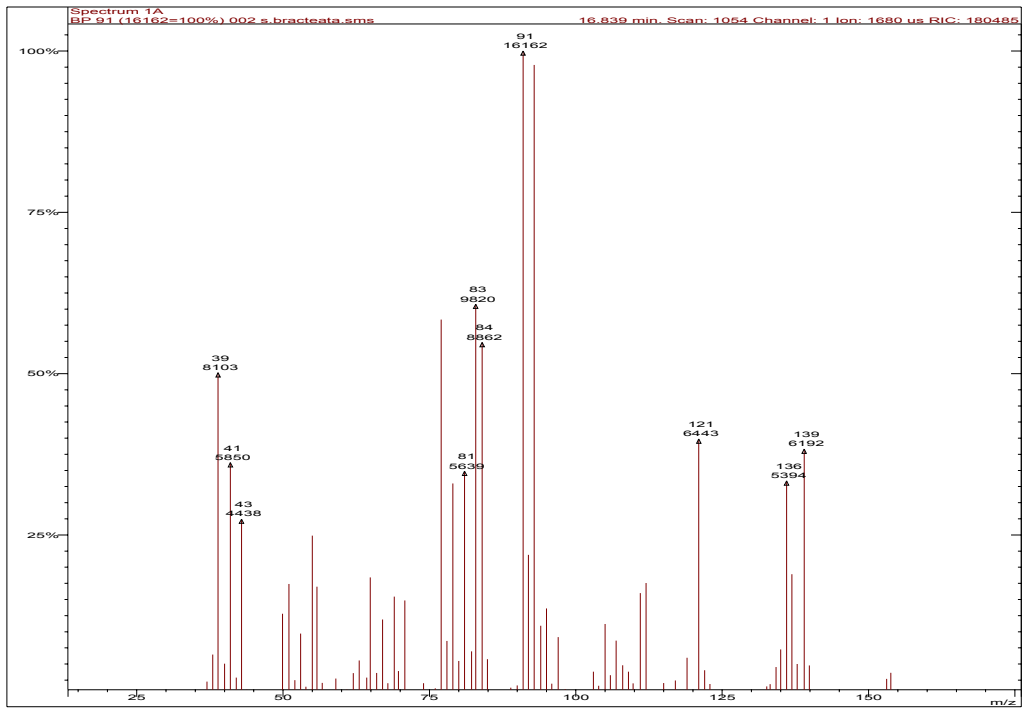


Şekil 4.47. Mirtenol'ün kütle spektrumu

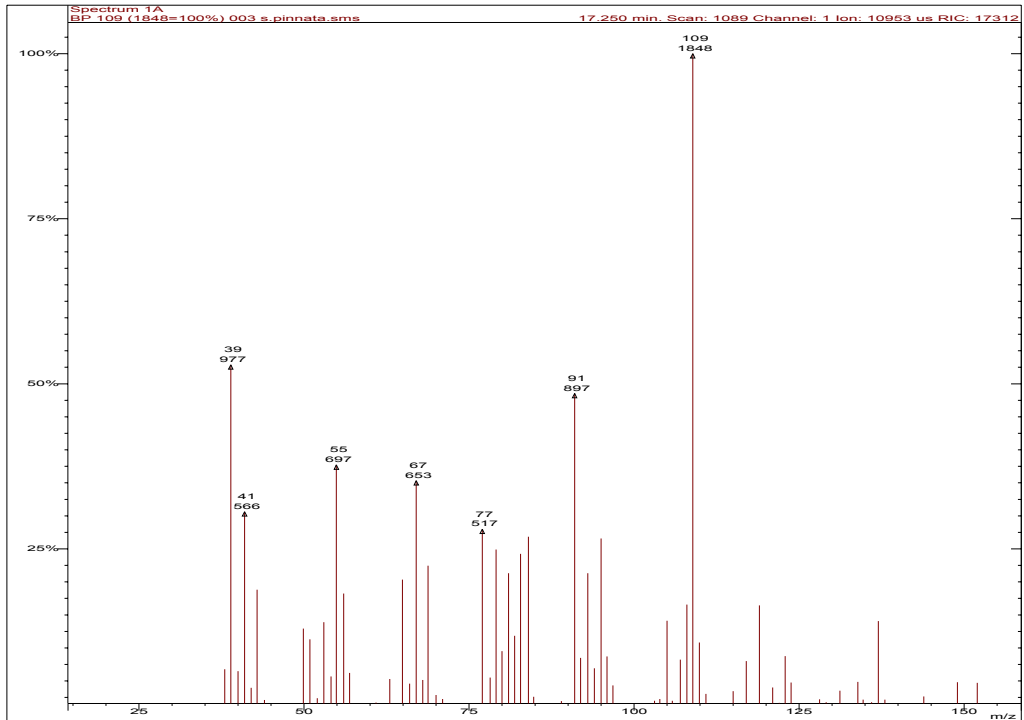
Spectrum 1A Plot - 18.09.2008 14:26

Şekil 4.48. *cis-p*-Menth-1-en-3-ol'ün kütle spektrumu

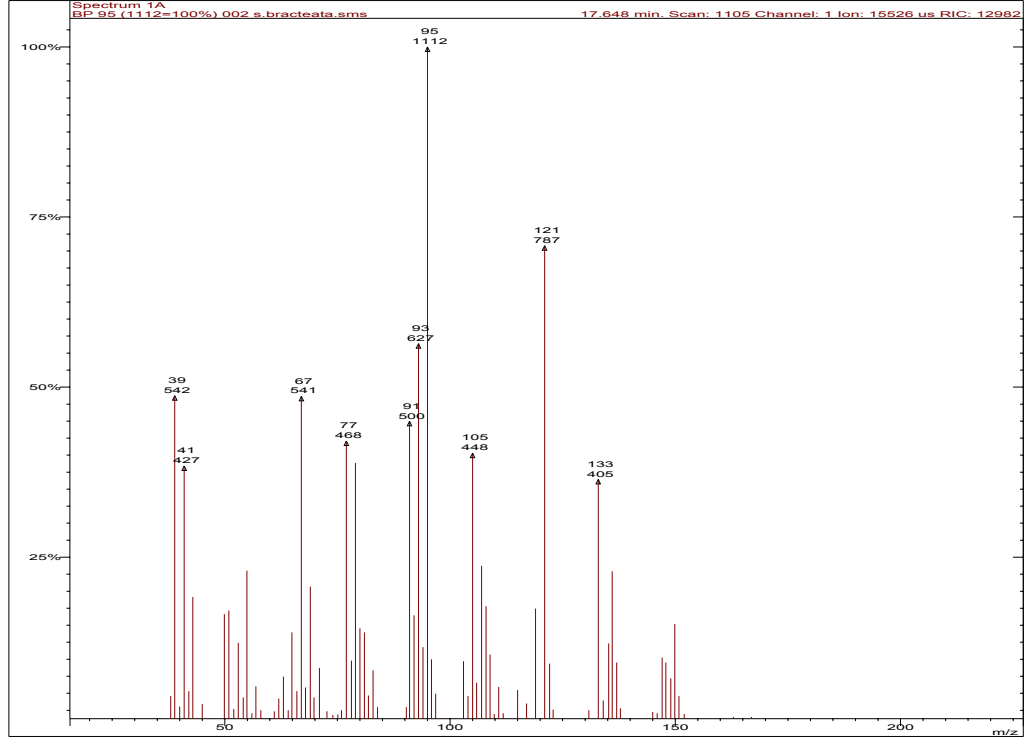
Spectrum 1A Plot - 18.09.2008 14:29

Şekil 4.49. *trans-p*-Menth-1-en-3-ol'ün kütle spektrumu

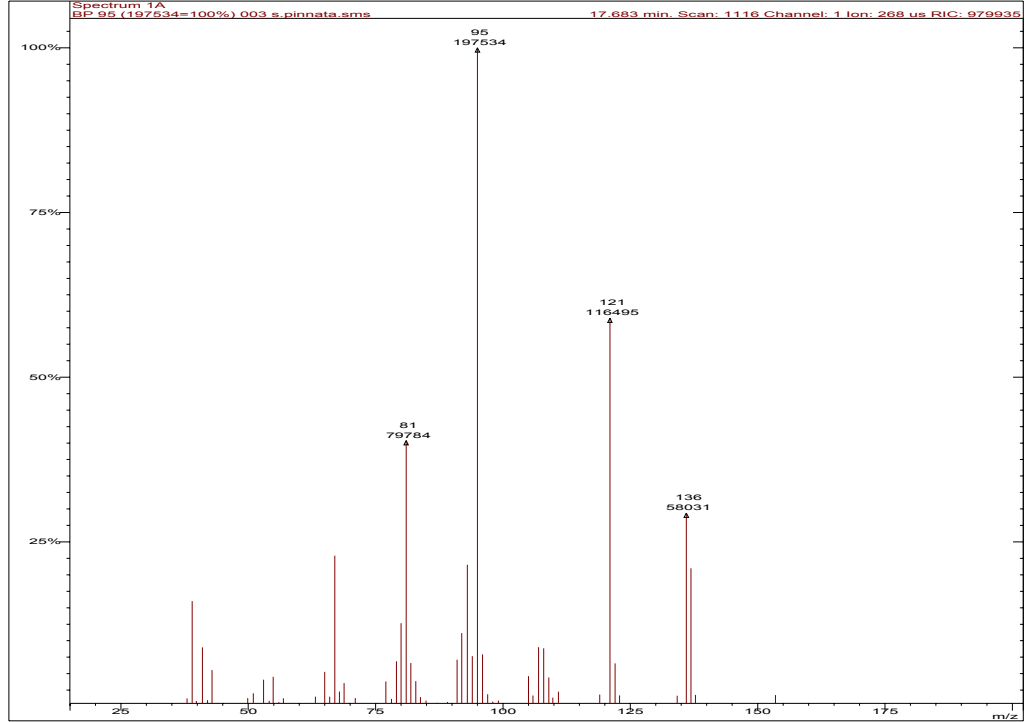
Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 11:20

Şekil 4.50. *trans*-Karveol'un kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 18.09.2008 14:31

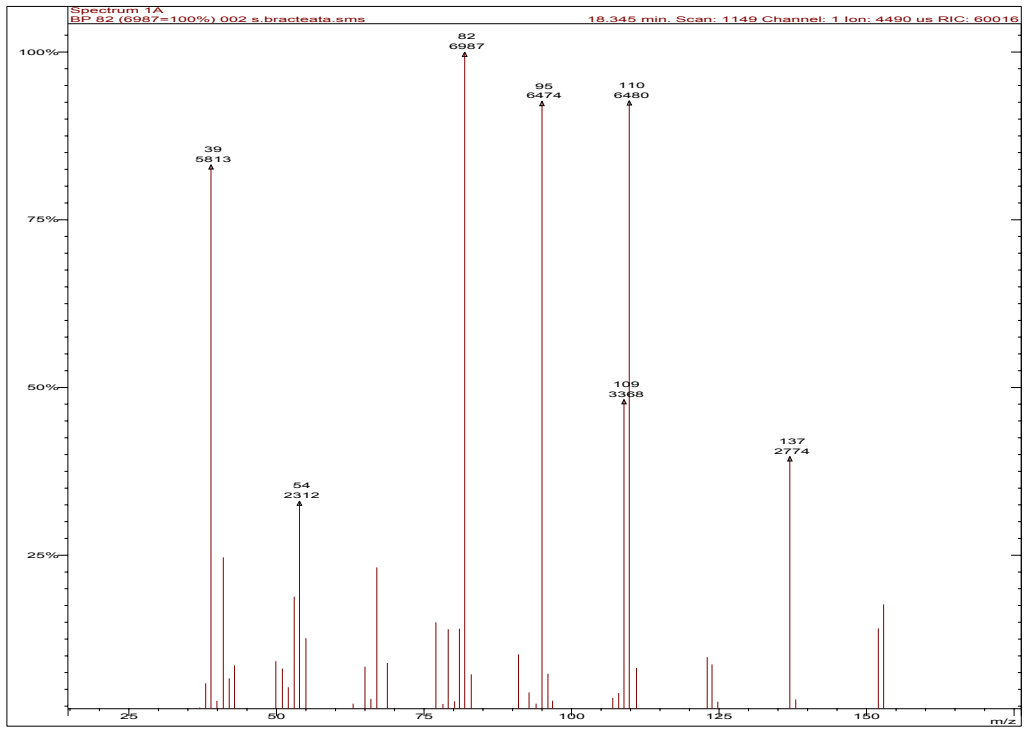
Şekil 4.51. γ -Elemen'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 11:24



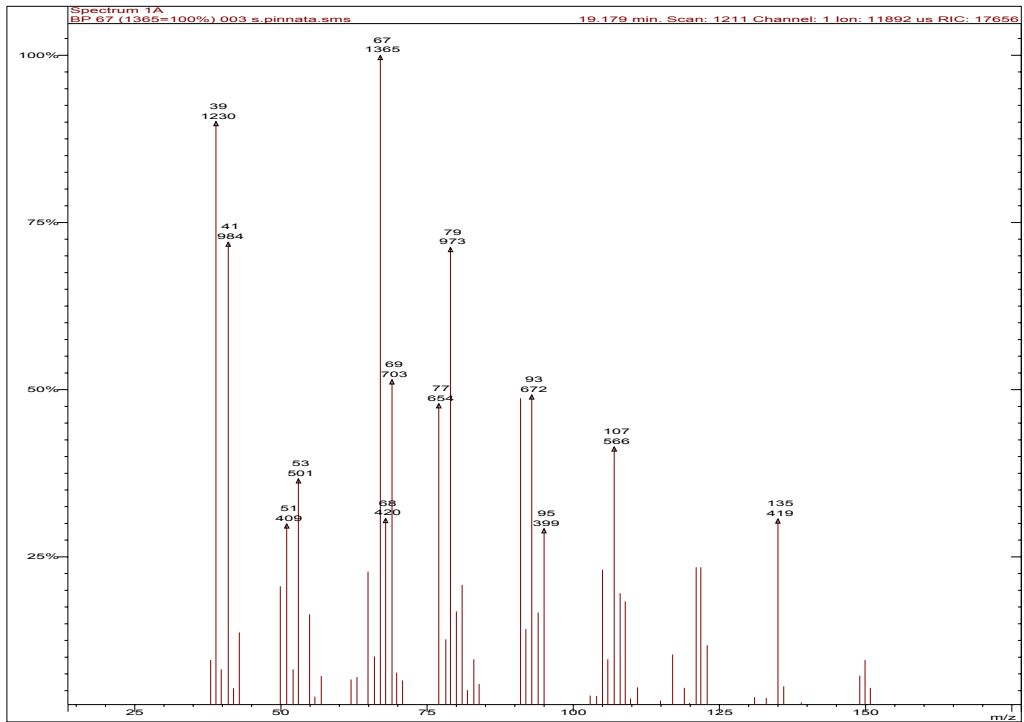
Şekil 4.52. İzobornil format'ın kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 18.09.2008 14:38



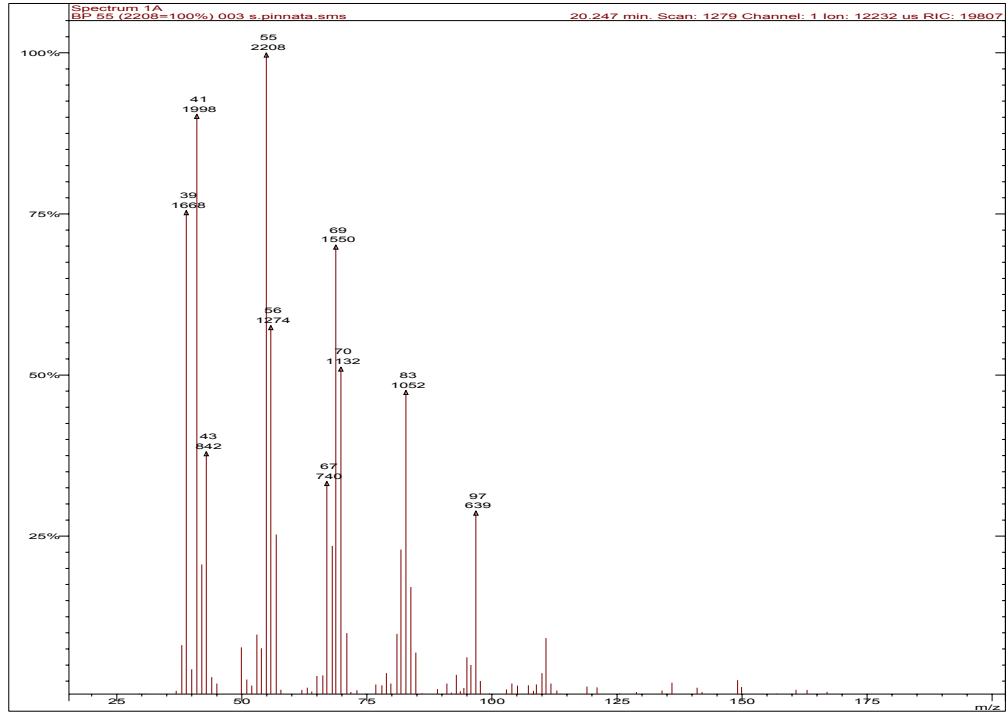
Şekil 4.53. Piperiton'un kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 11:26



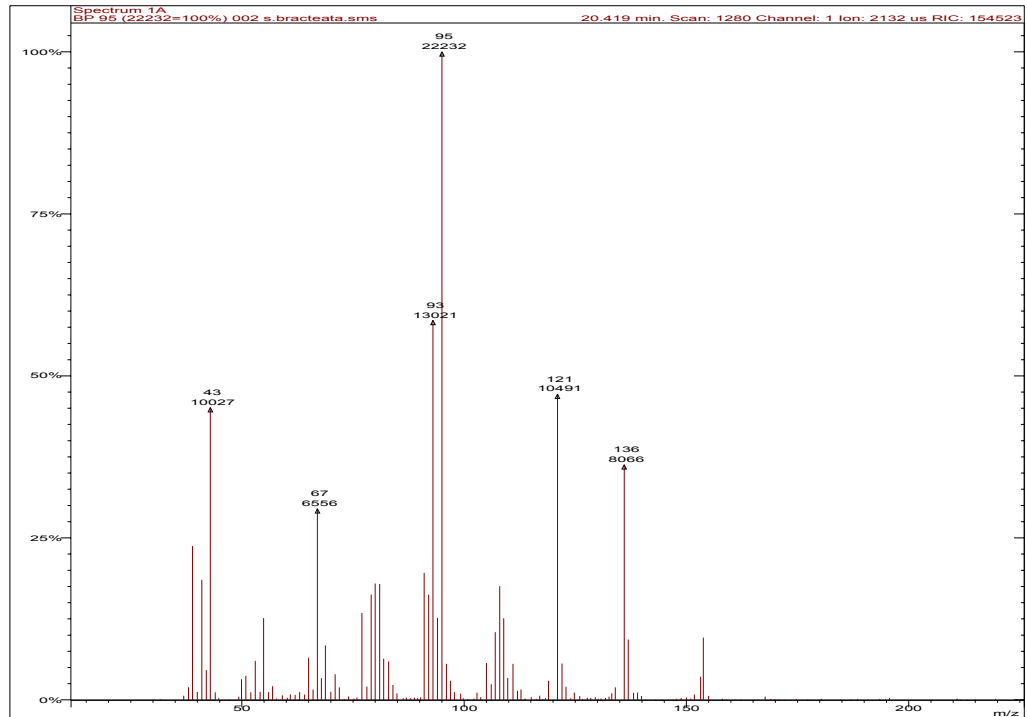
Şekil 4.54. p-Mentha-1,8-dien-7-al'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 11:27



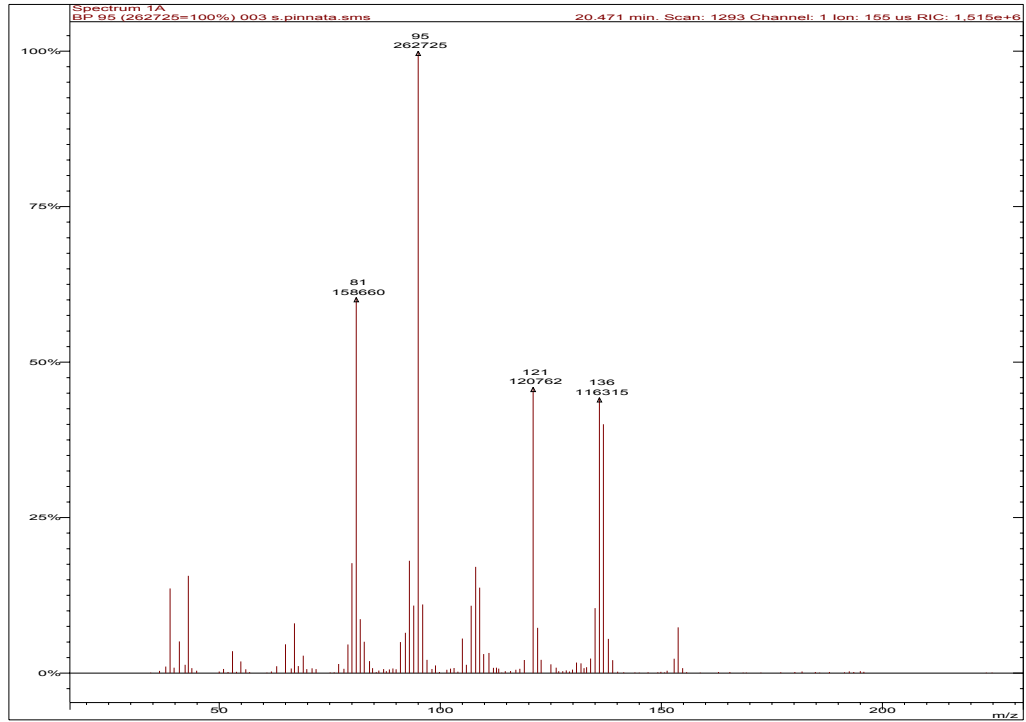
Şekil 4.55. Undekanol'ün kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 18.09.2008 14:43



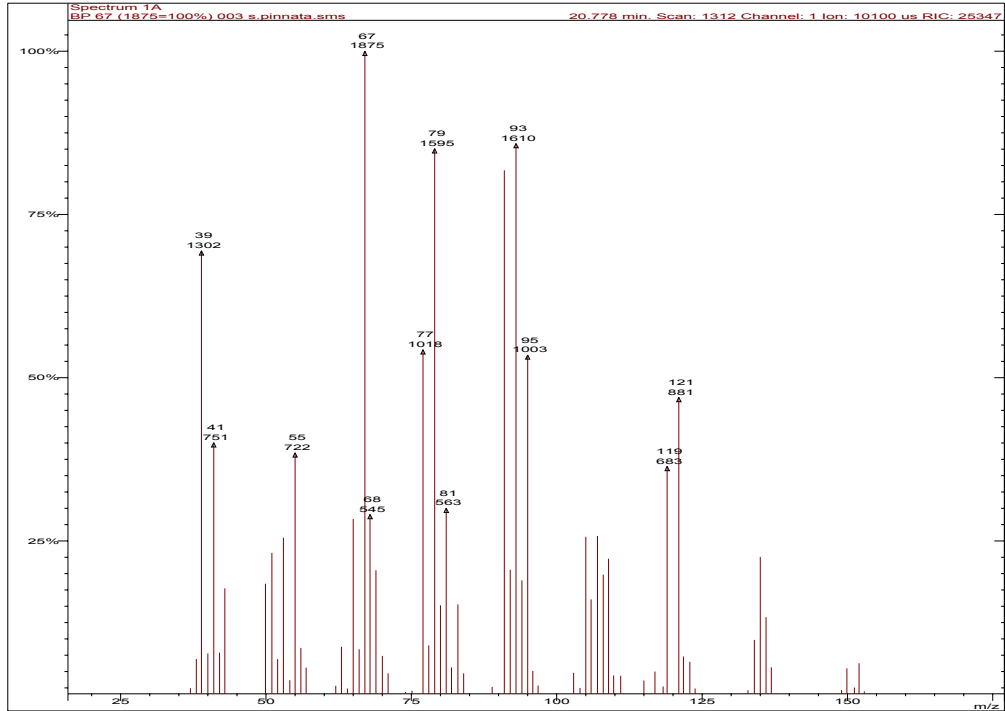
Şekil 4.56. Bornilasetat'ın kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 11:29

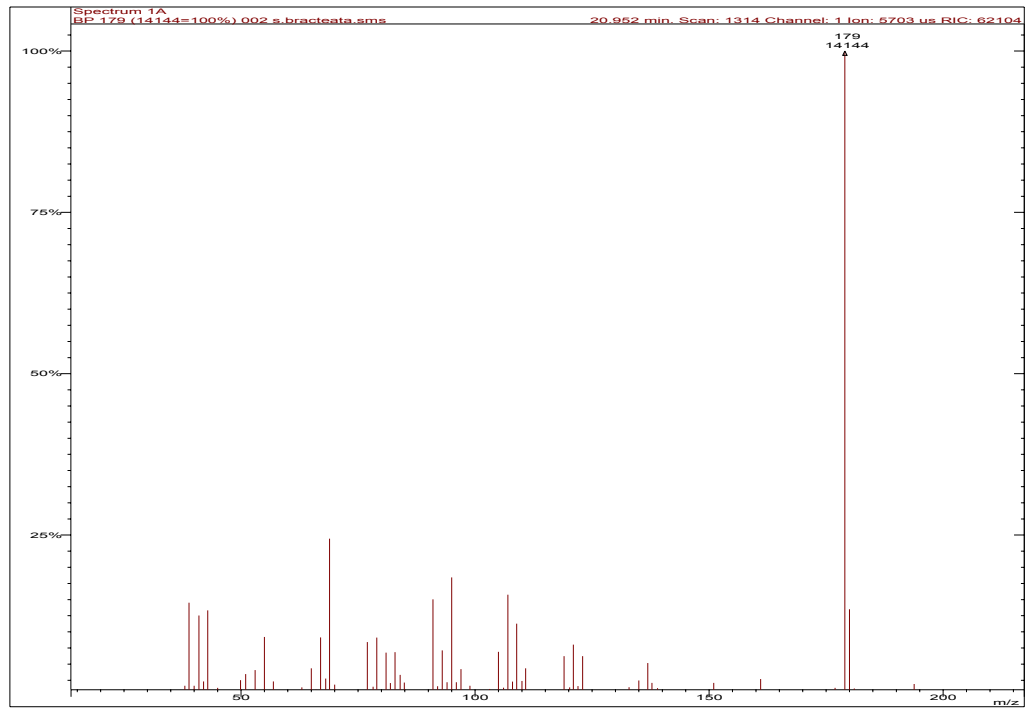


Şekil 4.57. İzobornil asetat'ın kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 11:31

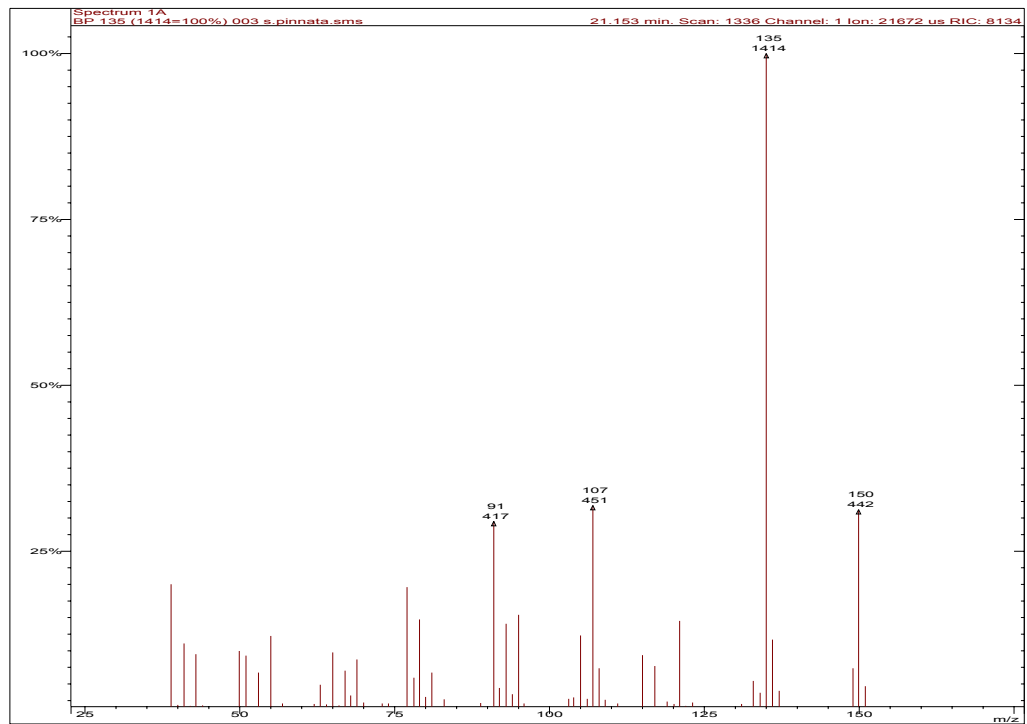
Şekil 4.58. *p*-Mentha-1,8-dien-7-ol'ün kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 18.09.2008 14:44



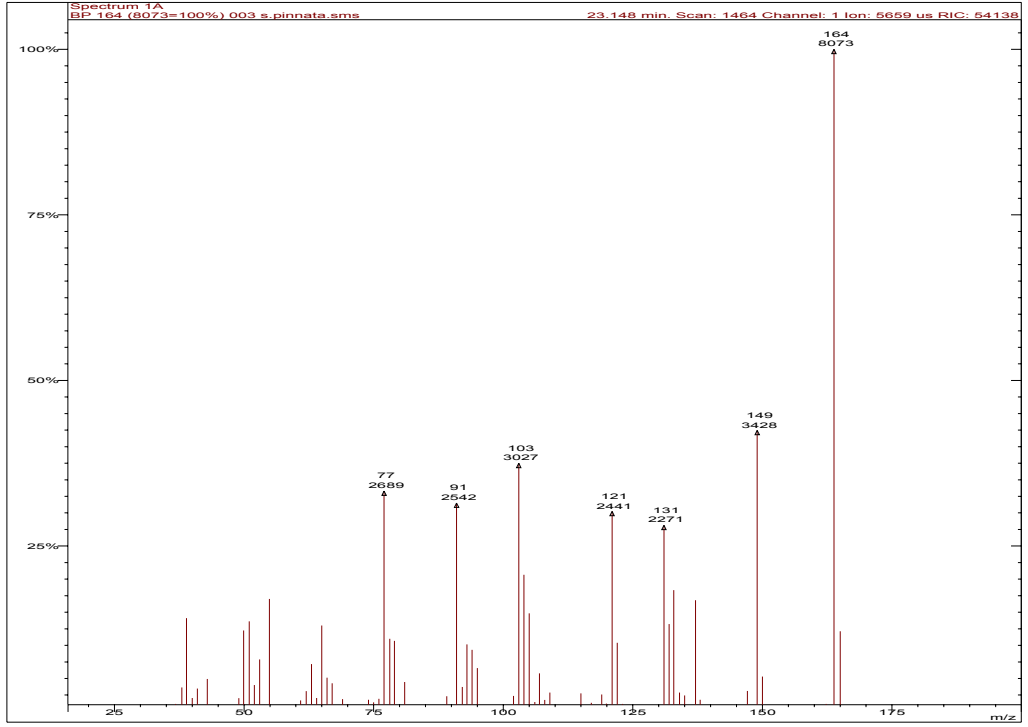
Şekil 4.59. Dihidro-β-Ionon'un kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 11:32



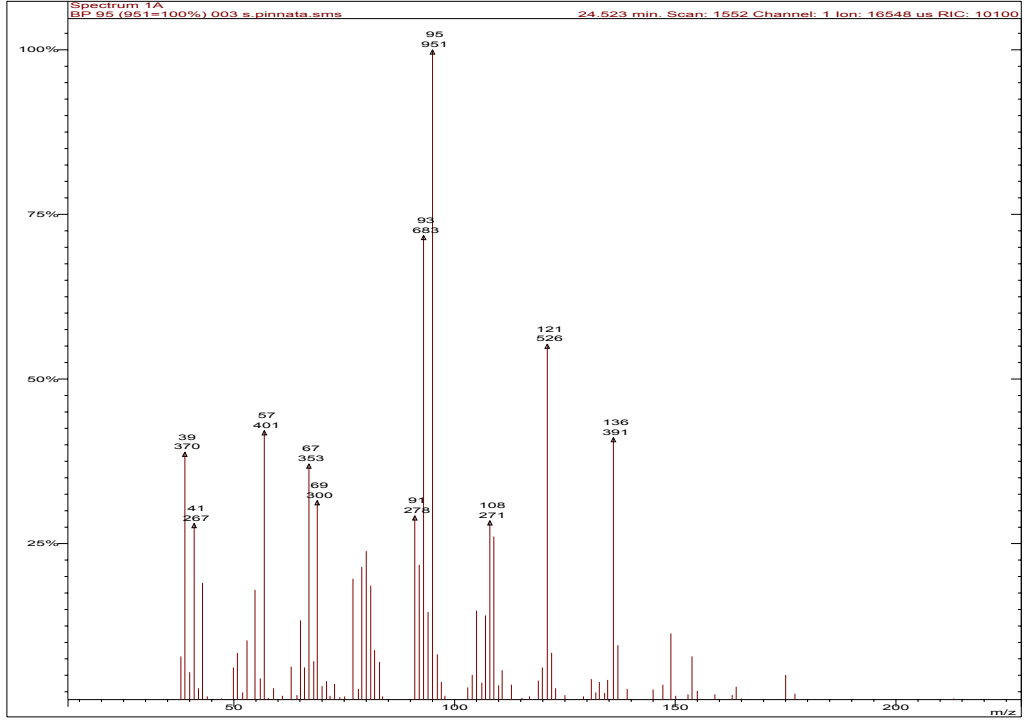
Şekil 4.60. Timol'un kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 11:34



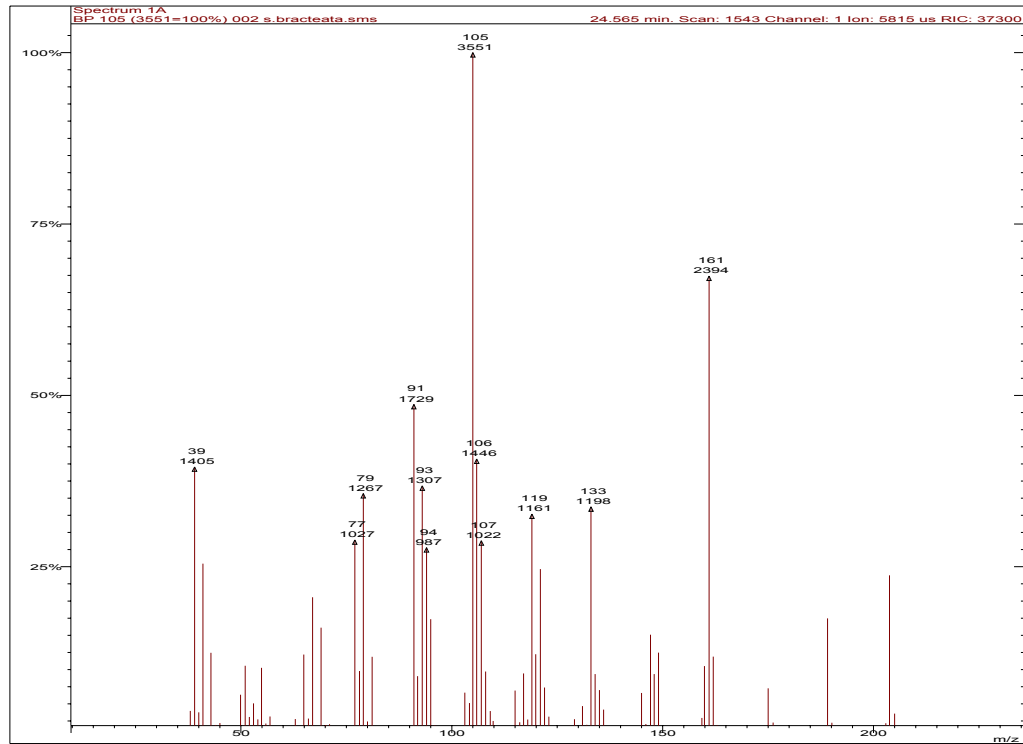
Şekil 4.61. Eugenol'ün kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 11:36



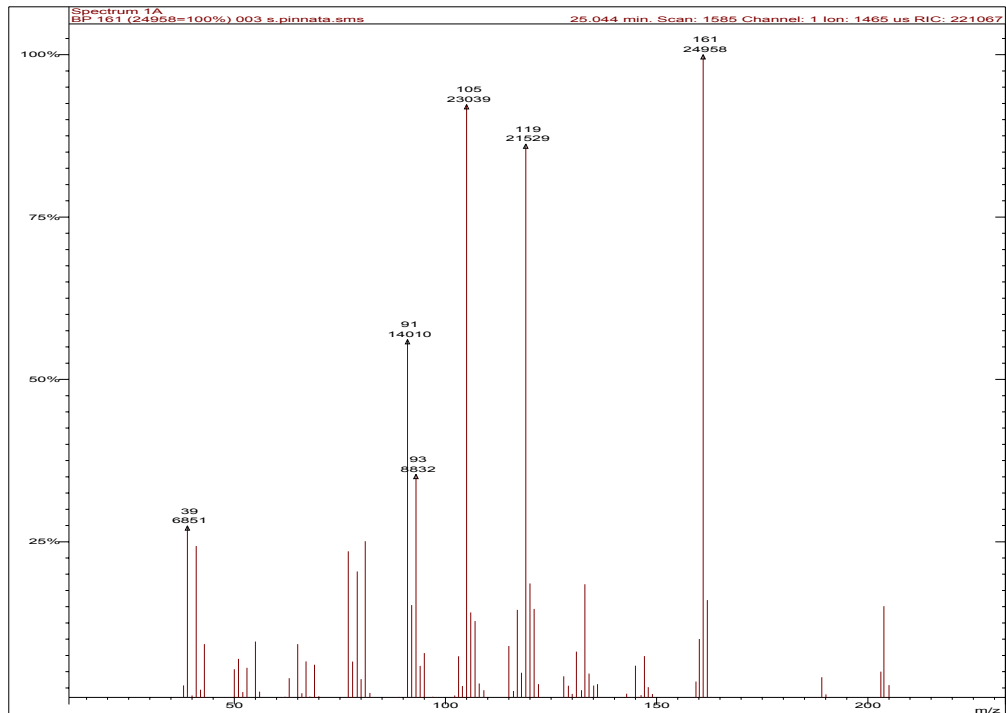
Şekil 4.62. Izobornil propiyonat'ın kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 18.09.2008 14:47

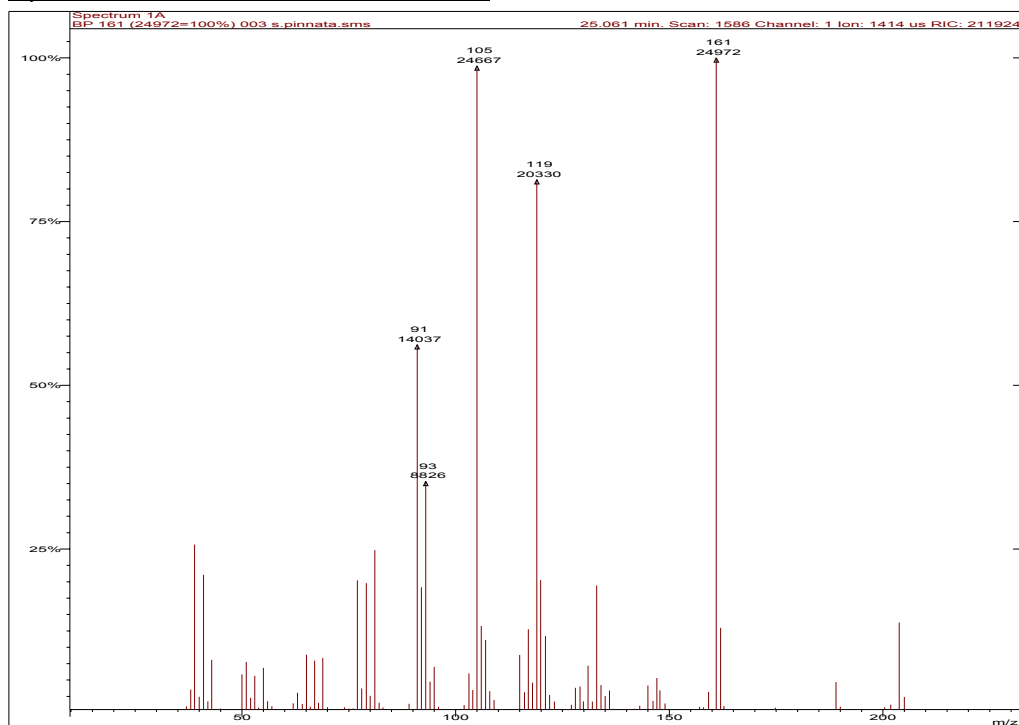


Şekil 4.63. Ylangen'in kütle spektrumu

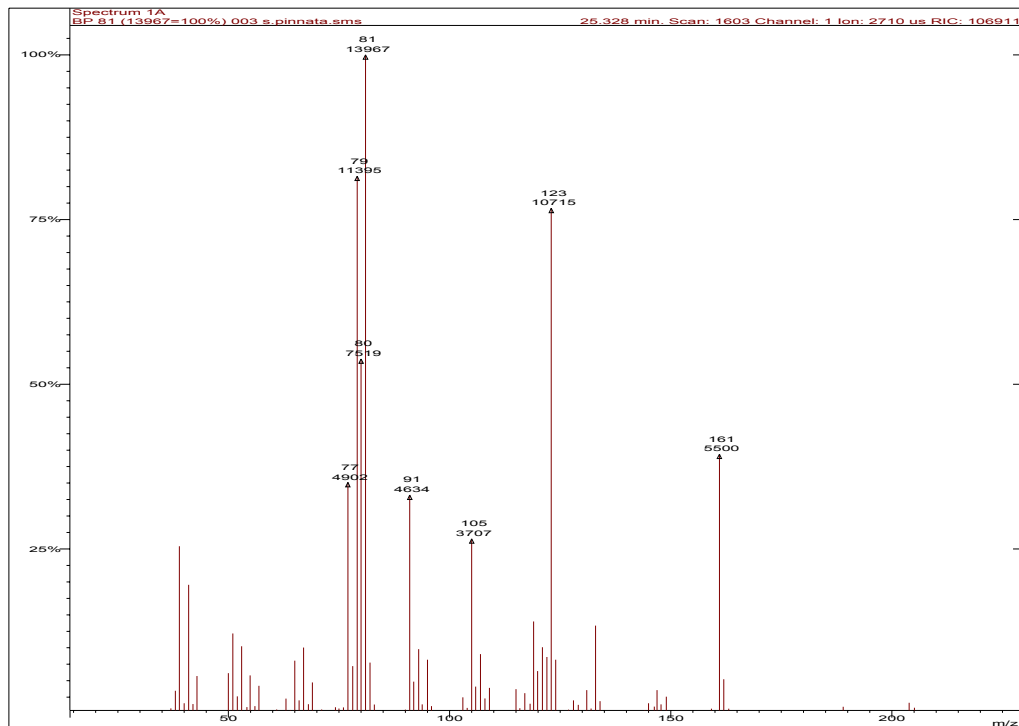
Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 11:45

Şekil 4.64. α -Kubeben'in kütle spektrumu

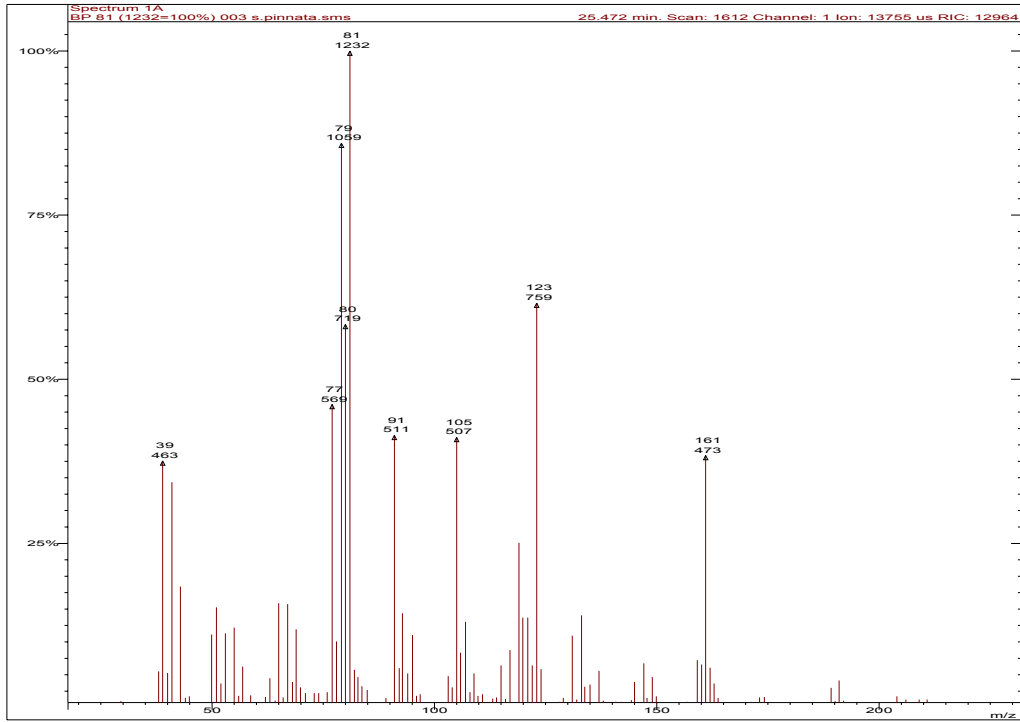
Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 11:56

Şekil 4.65. α -Kopaen'in kütle spektrumu

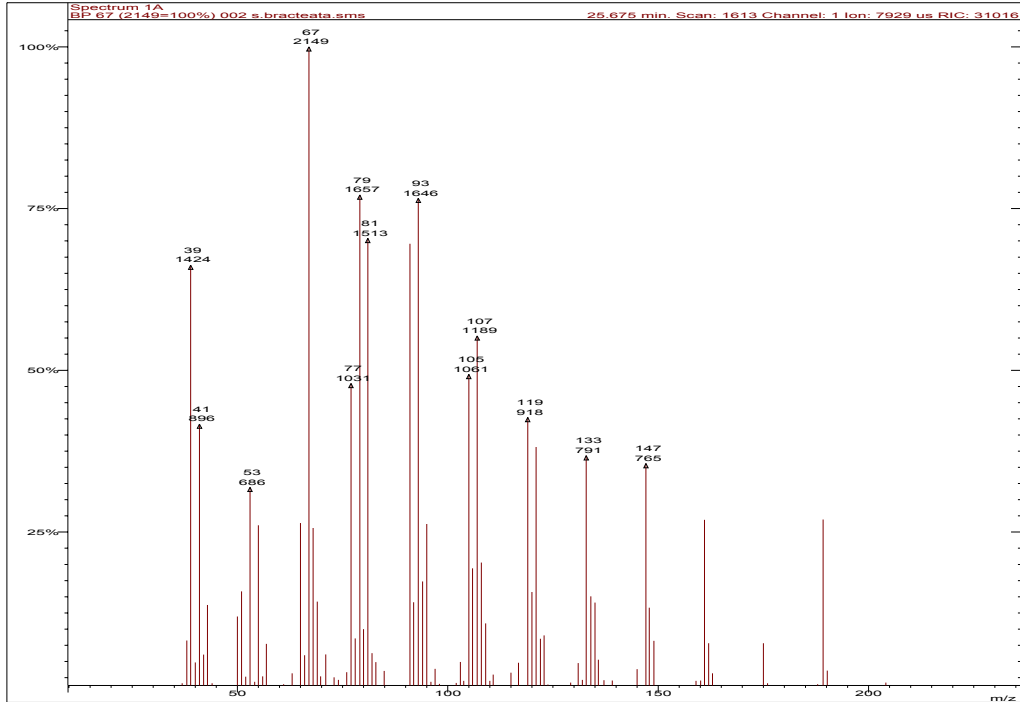
Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 11:58

Şekil 4.66. β -Bourbonen'in kütle spektrumu

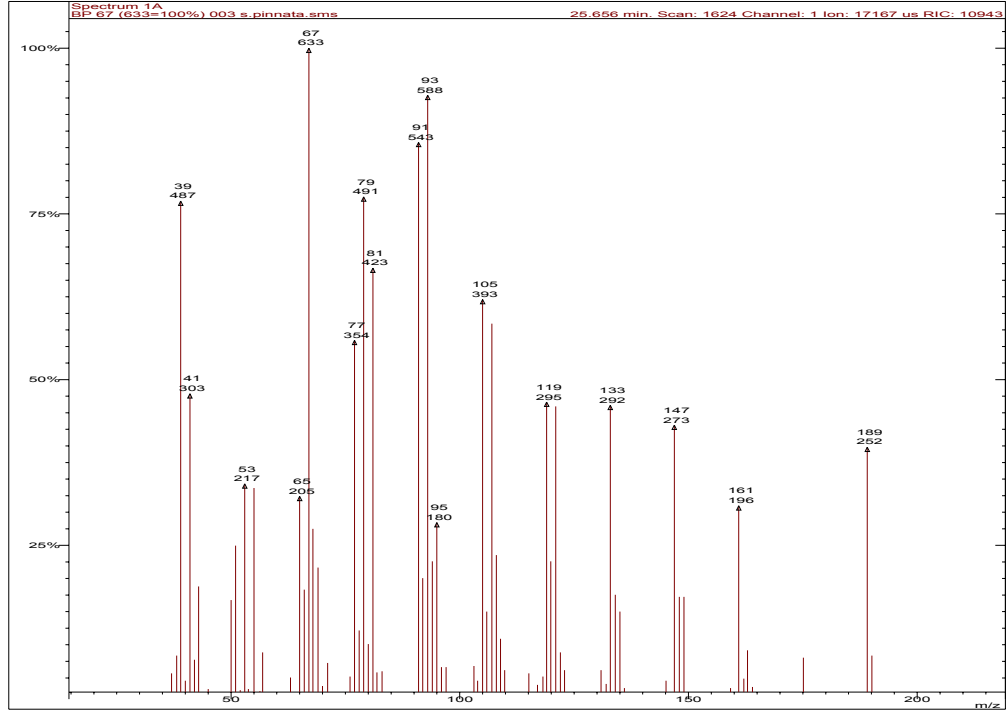
Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 12:02

Şekil 4.67. α -Bourbonen'in kütle spektrumu

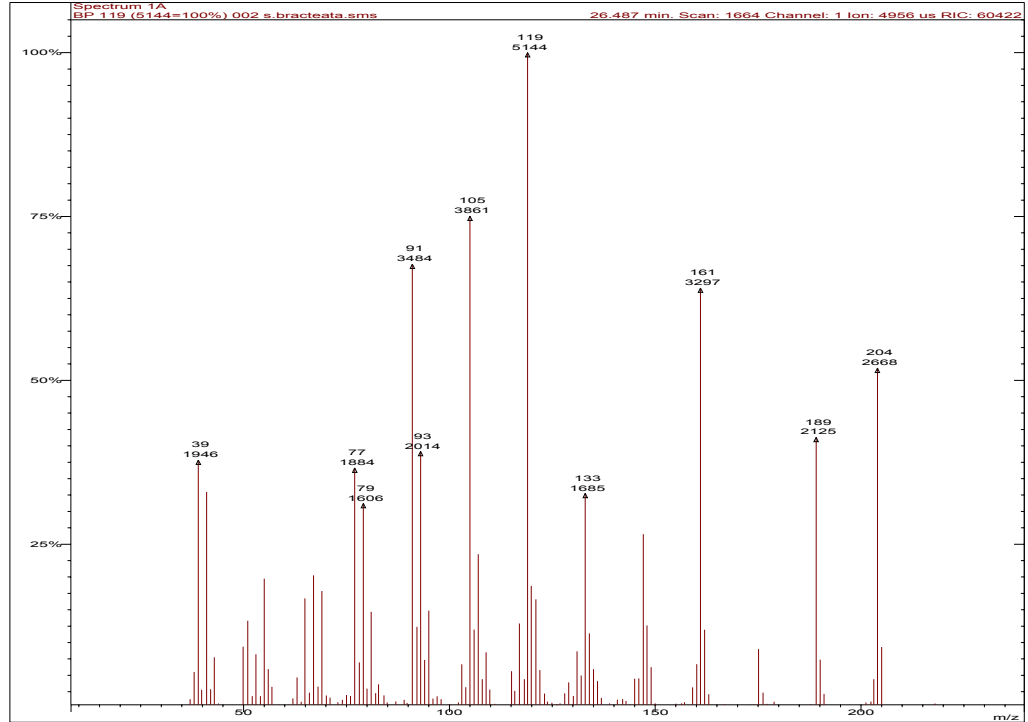
Spectrum 1A Plot - 18.09.2008 14:57

Şekil 4.68. δ -Elemen'in kütle spektrumu

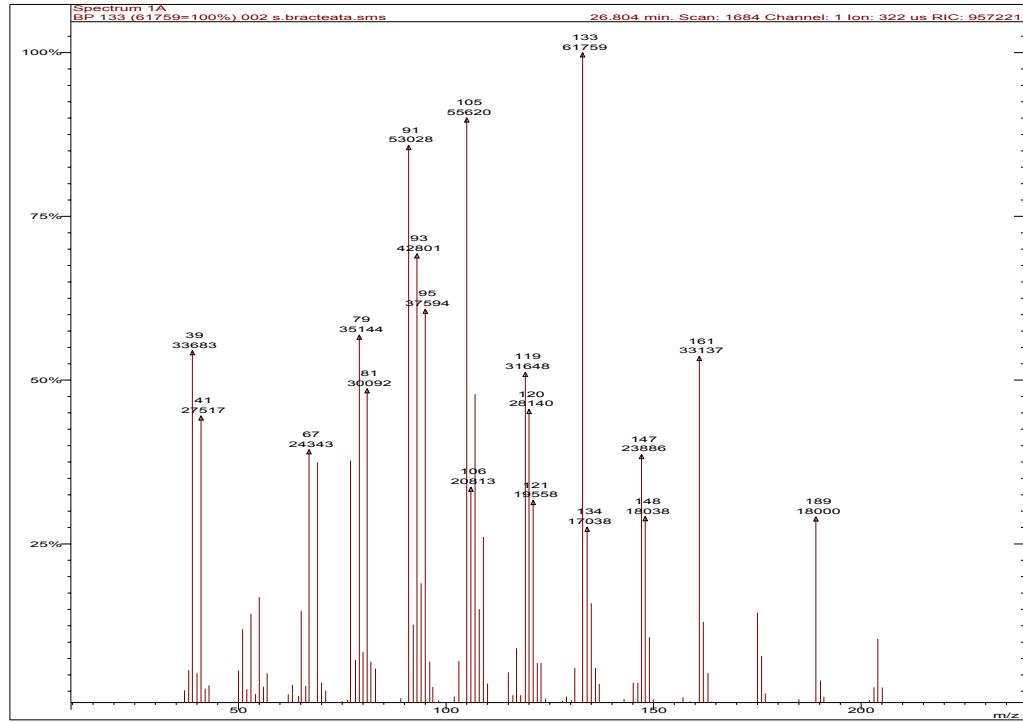
Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 15:47

Şekil 4.69. β -Elemen'in kütle spektrumu

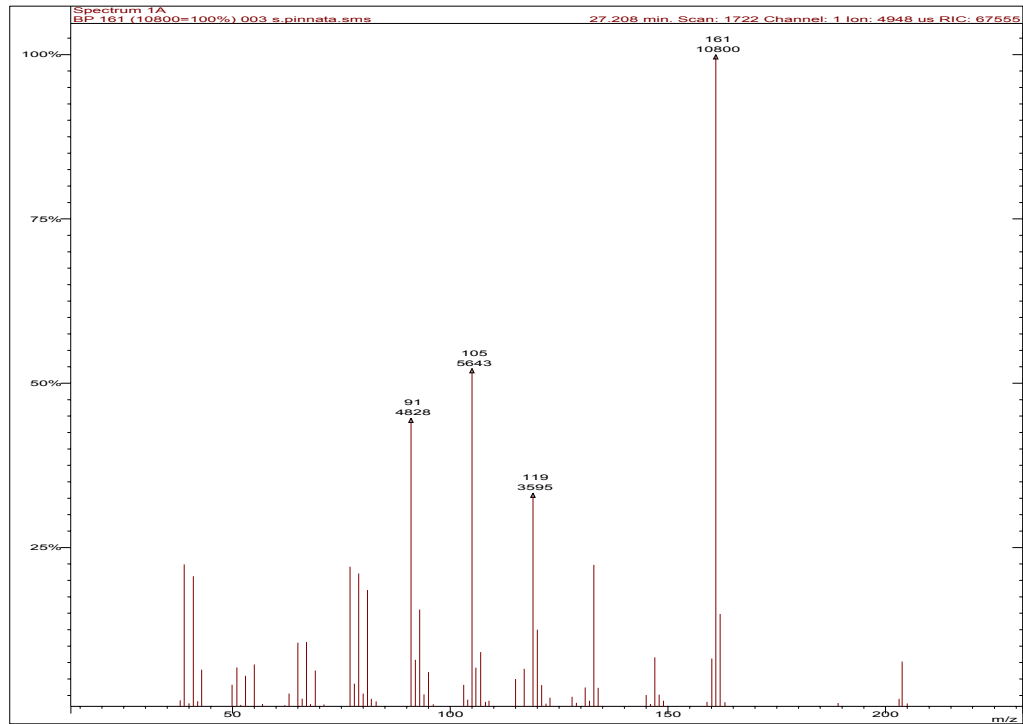
Spectrum 1A Plot - 18.09.2008 15:02

Şekil 4.70. α -Gurjunen'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 18.09.2008 15:05

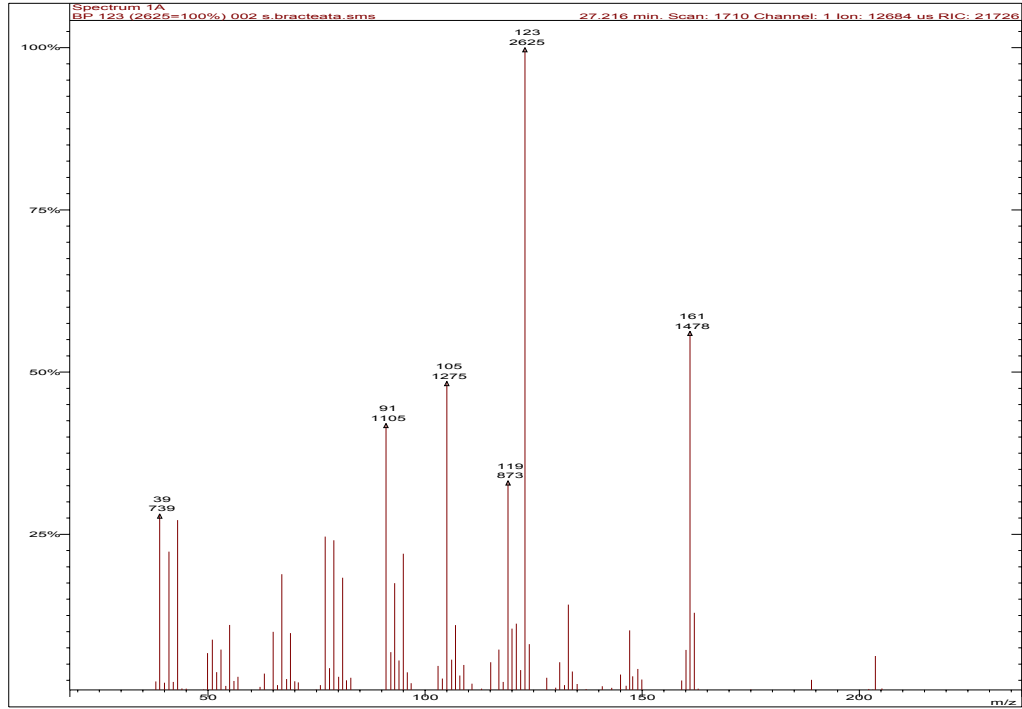
Şekil 4.71. β -Karyofilen'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 15:53



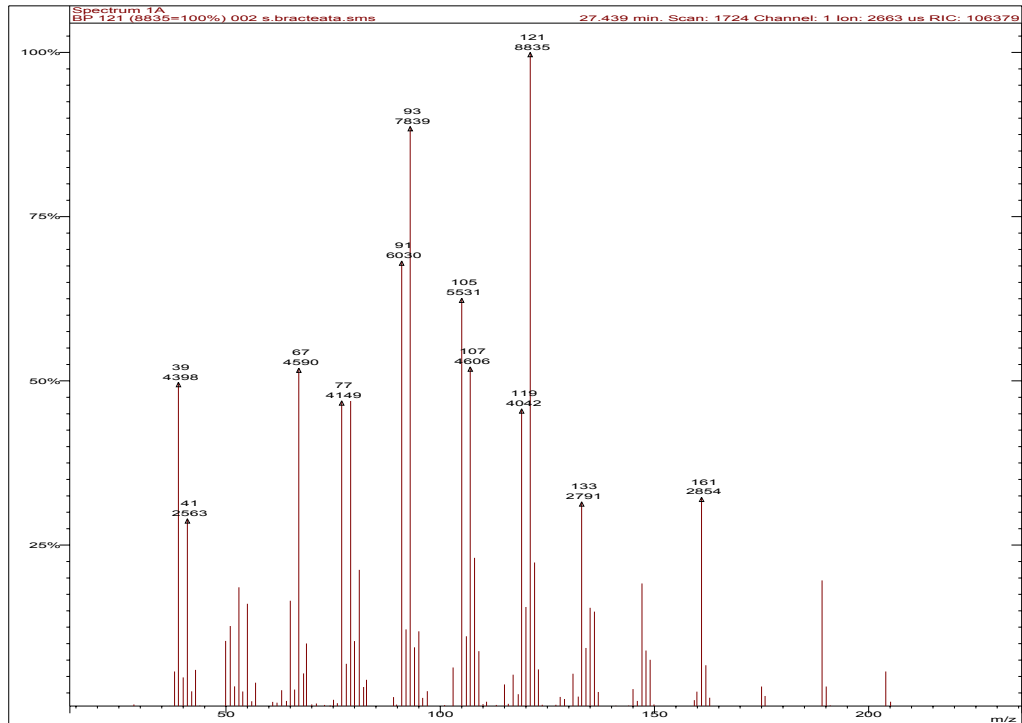
Şekil 4.72. -Kadinen'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 18.09.2008 15:07

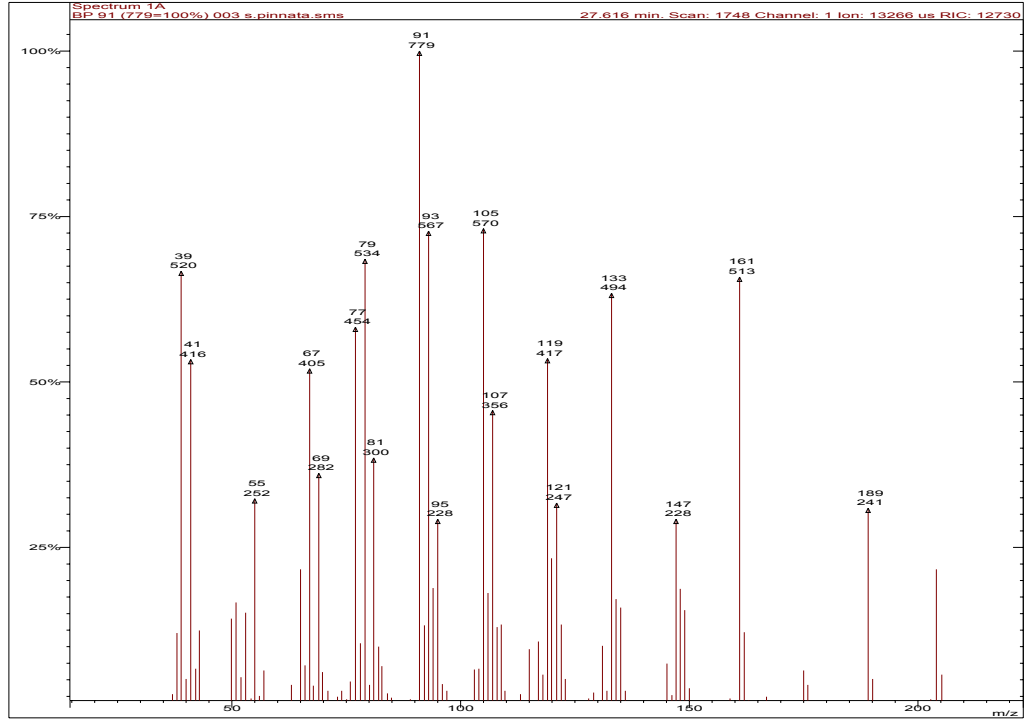


Şekil 4.73. Thujopsen'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 18.09.2008 15:11

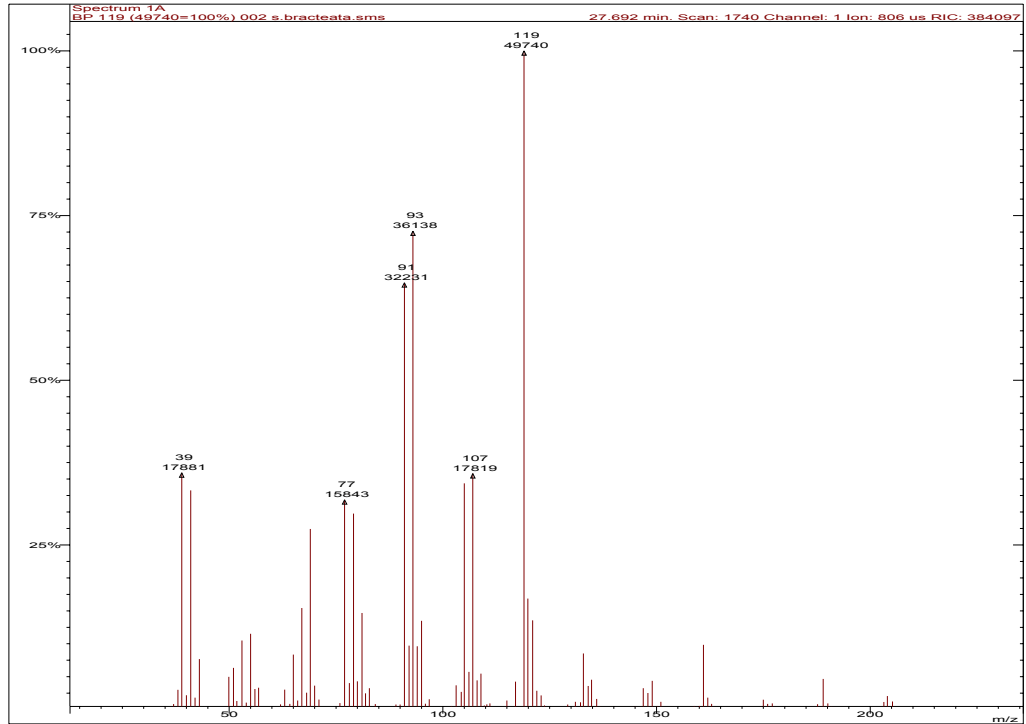
Şekil 4.74. β -Gurjunen'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 15:54

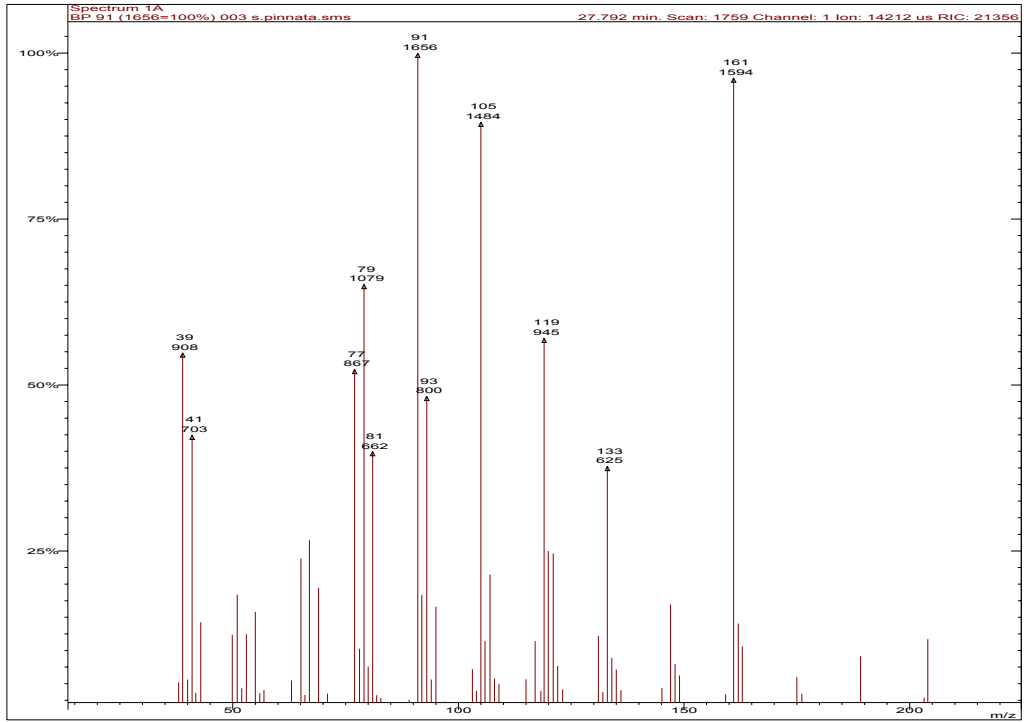


Şekil 4.75. Aromadendren'in kütle spektrumu

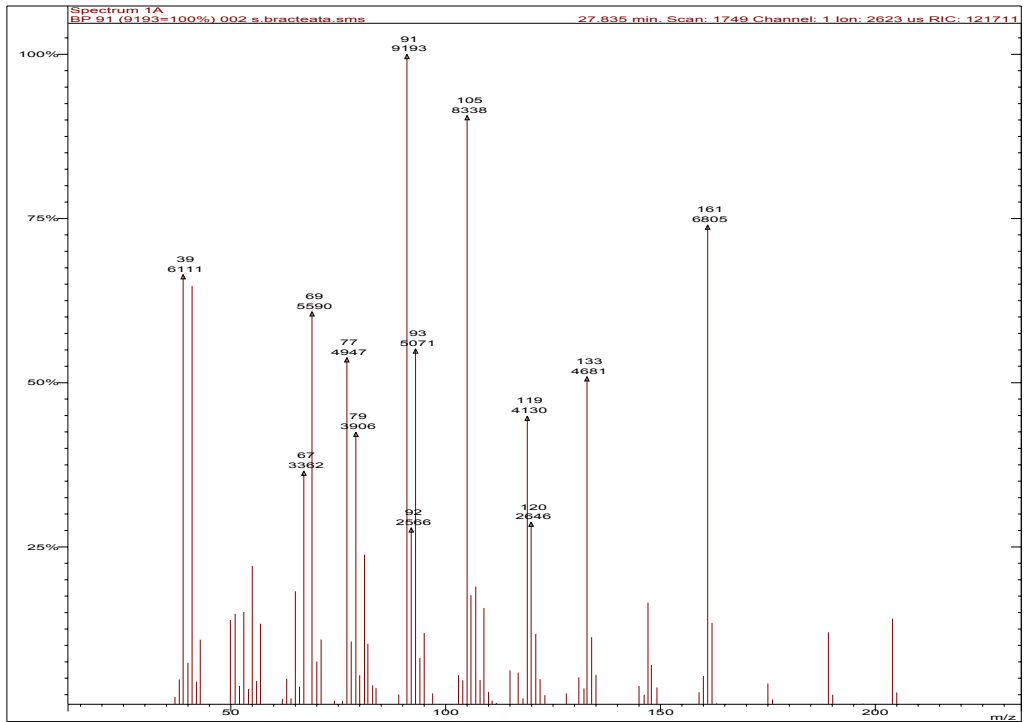
Spectrum 1A Plot - 18.09.2008 15:12

Şekil 4.76. Di-epi- α -Sedren'in kütle spektrumu

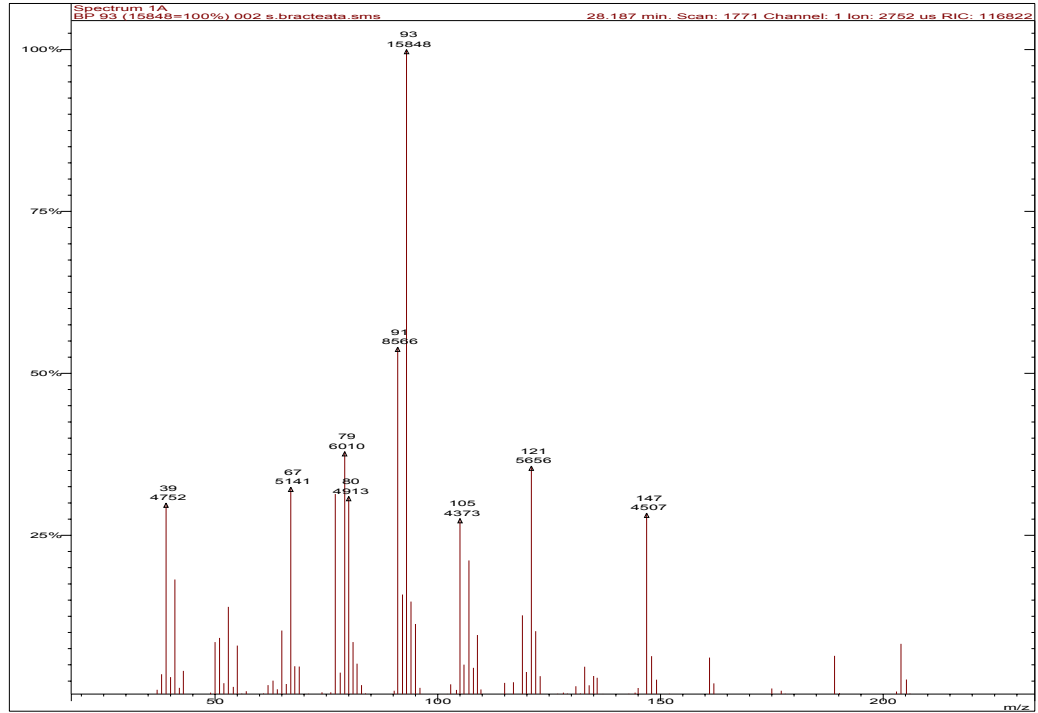
Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 15:55

Şekil 4.77. *allo*-Aromadendren'in kütle spektrumu

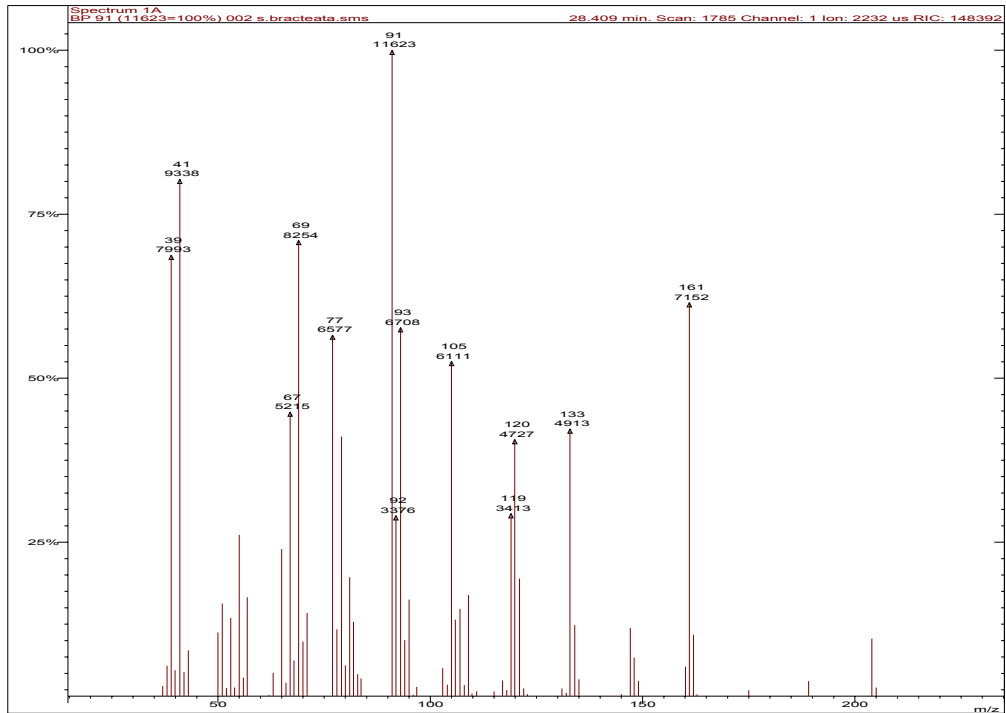
Spectrum 1A Plot - 18.09.2008 15:16

Şekil 4.78. γ -Murolen'in kütle spektrumu

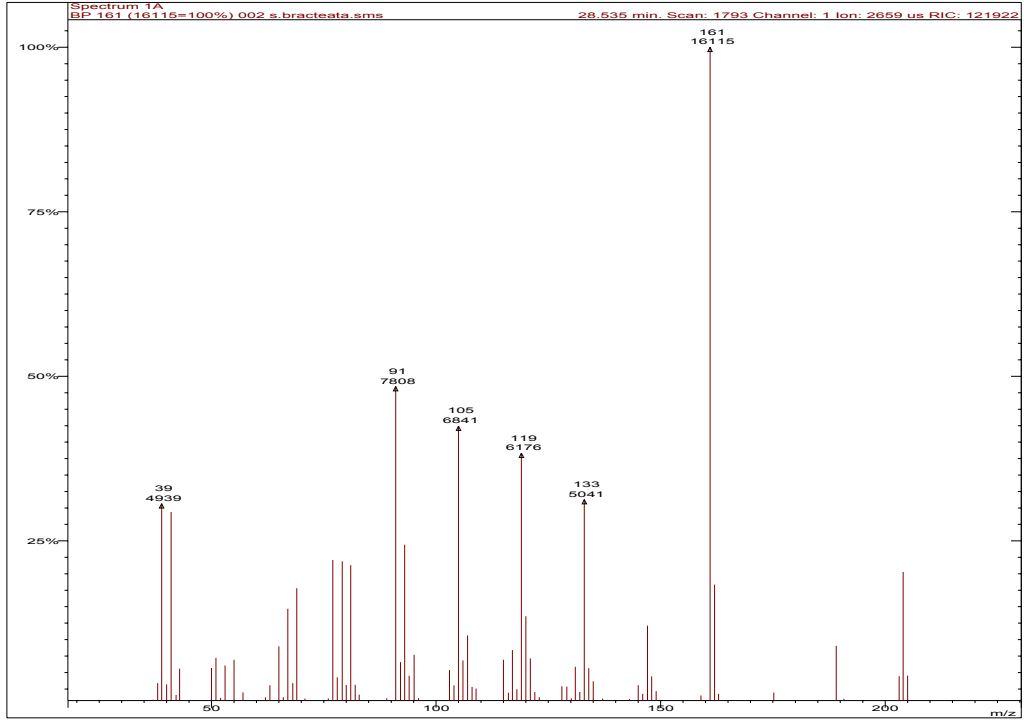
Spectrum 1A Plot - 18.09.2008 15:19

Şekil 4.79. α -Karyofilen (α -Humulen)'in kütle spektrumu

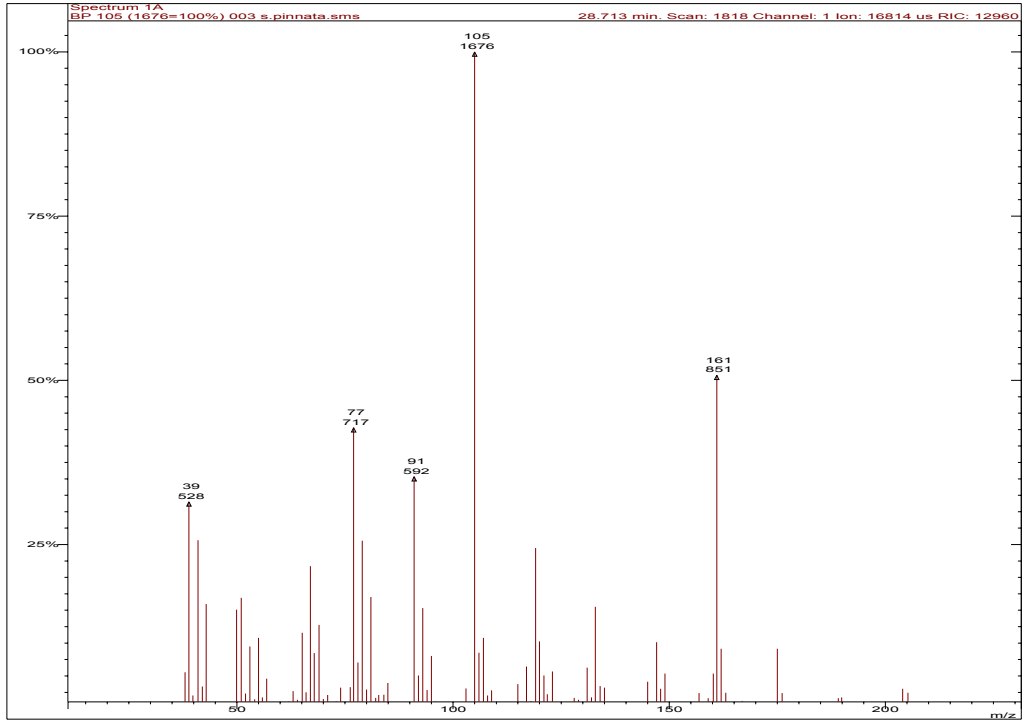
Spectrum 1A Plot - 18.09.2008 15:21

Şekil 4.80. *cis*- β -Farnesen'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 19.09.2008 09:41

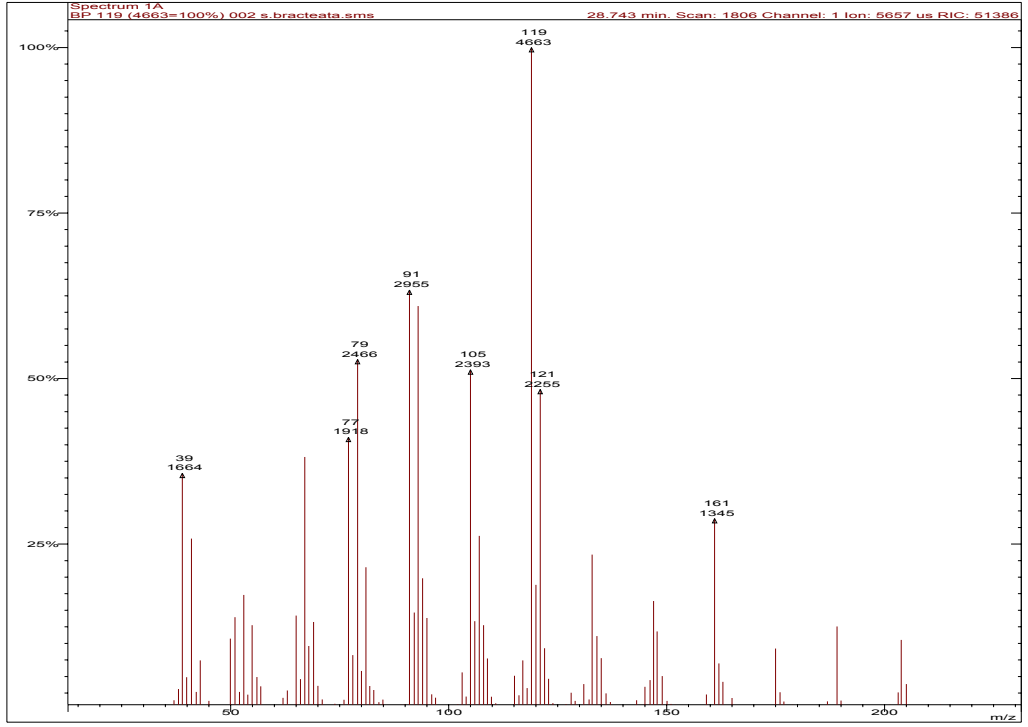
Şekil 4.81. γ -Gurjunen'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 15:58

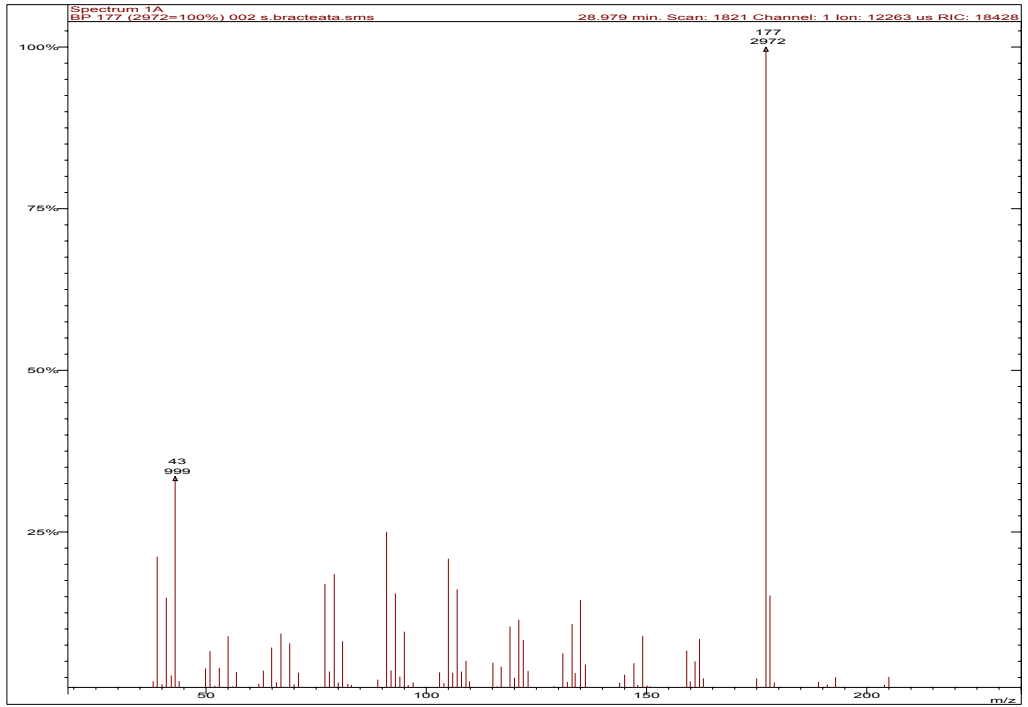


Şekil 4.82. Germakren D'in kütle spektrumu

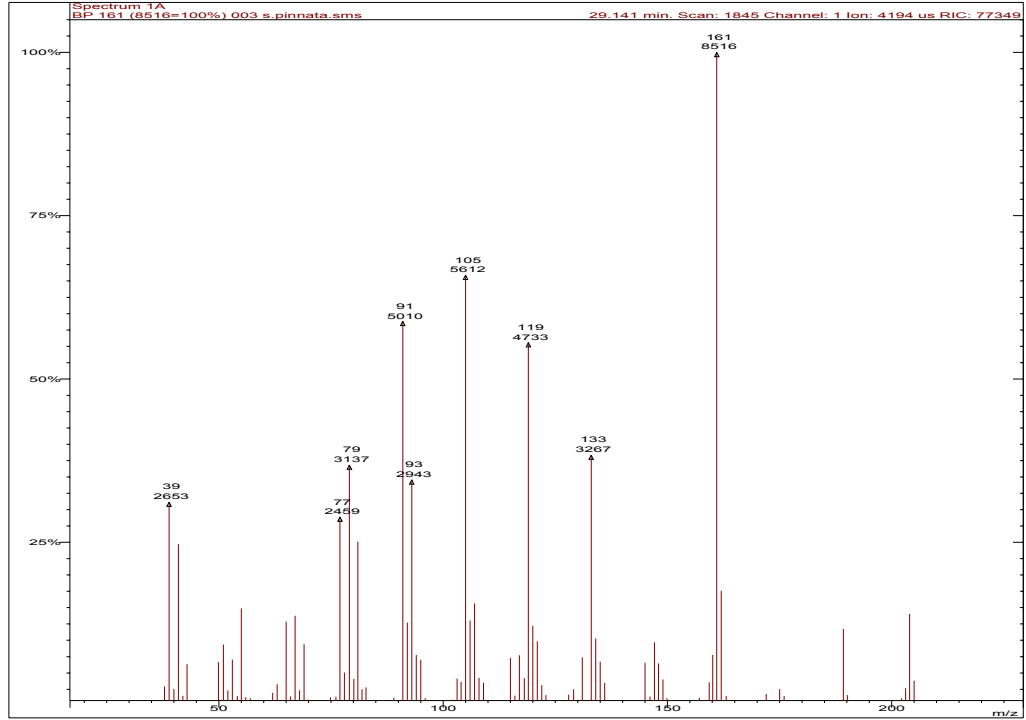
Spectrum 1A Plot - 19.09.2008 09:47

Şekil 4.83. α -Longipinen'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 19.09.2008 09:49

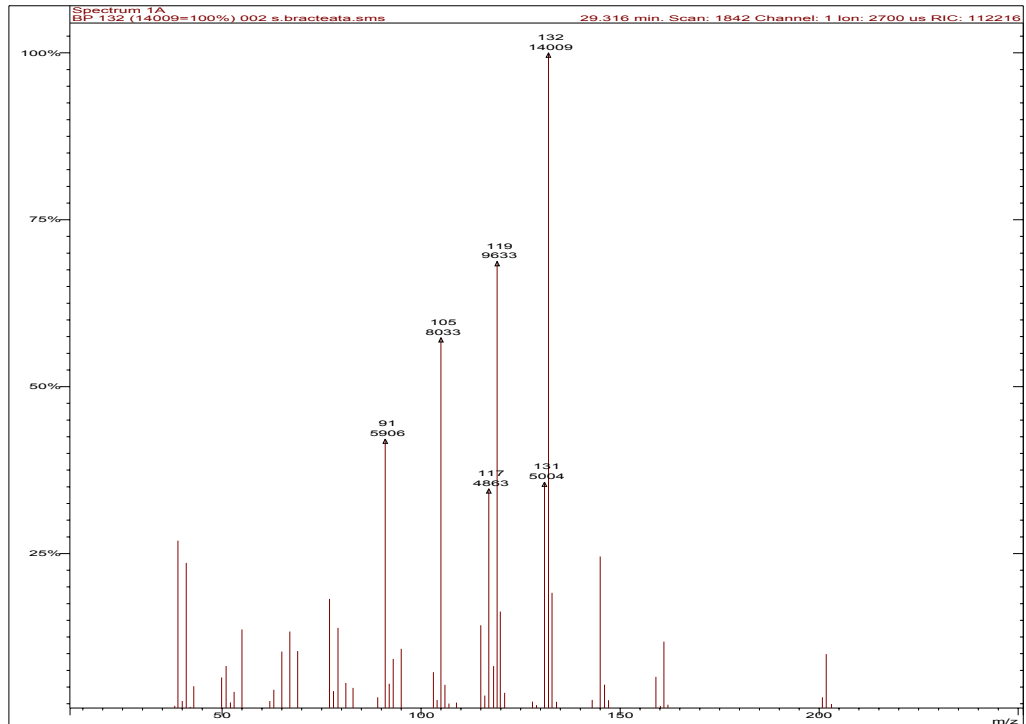
Şekil 4.84. β -Ionen'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 15:59

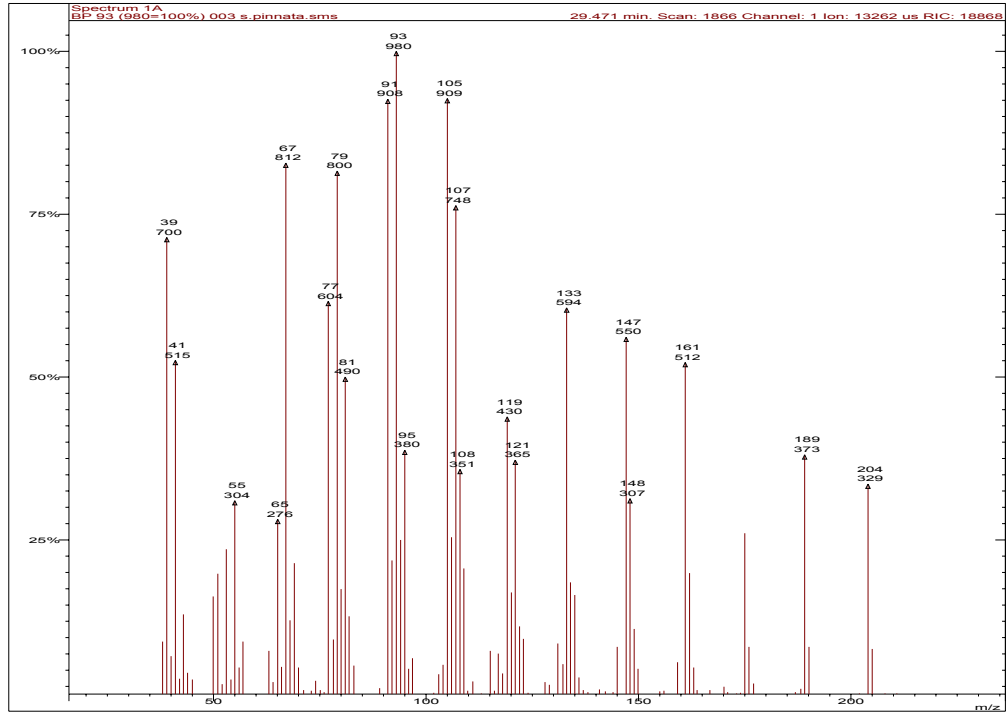


Şekil 4.85. -Murolen'in kütle spektrumu

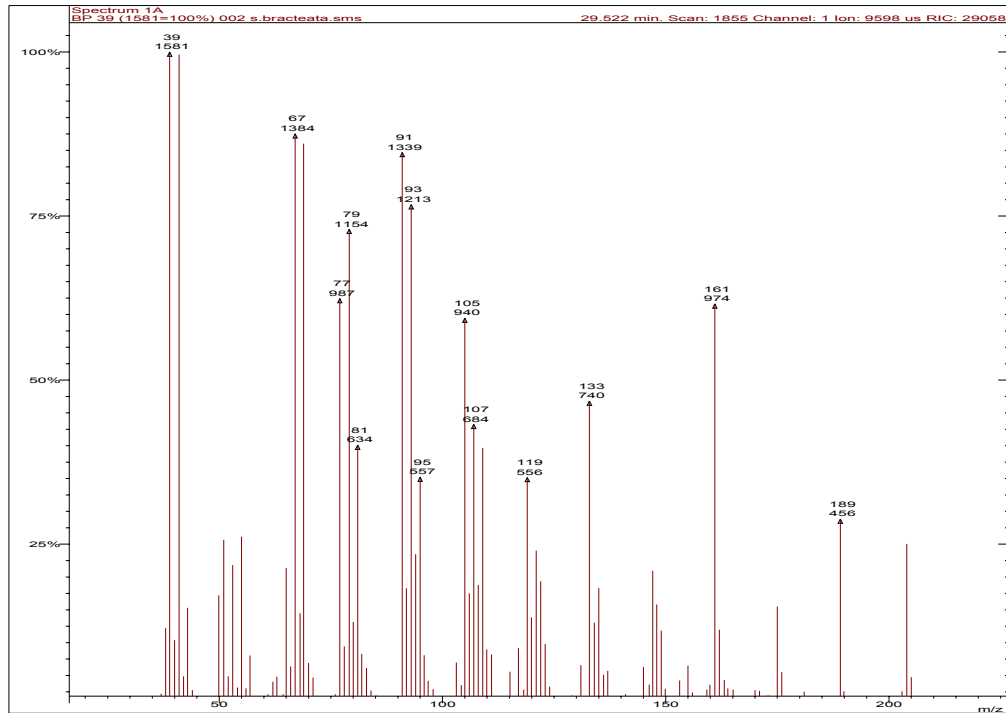
Spectrum 1A Plot - 20.10.2008 13:44

Şekil 4.86. α -Kurkumen'in kütle spektrumu

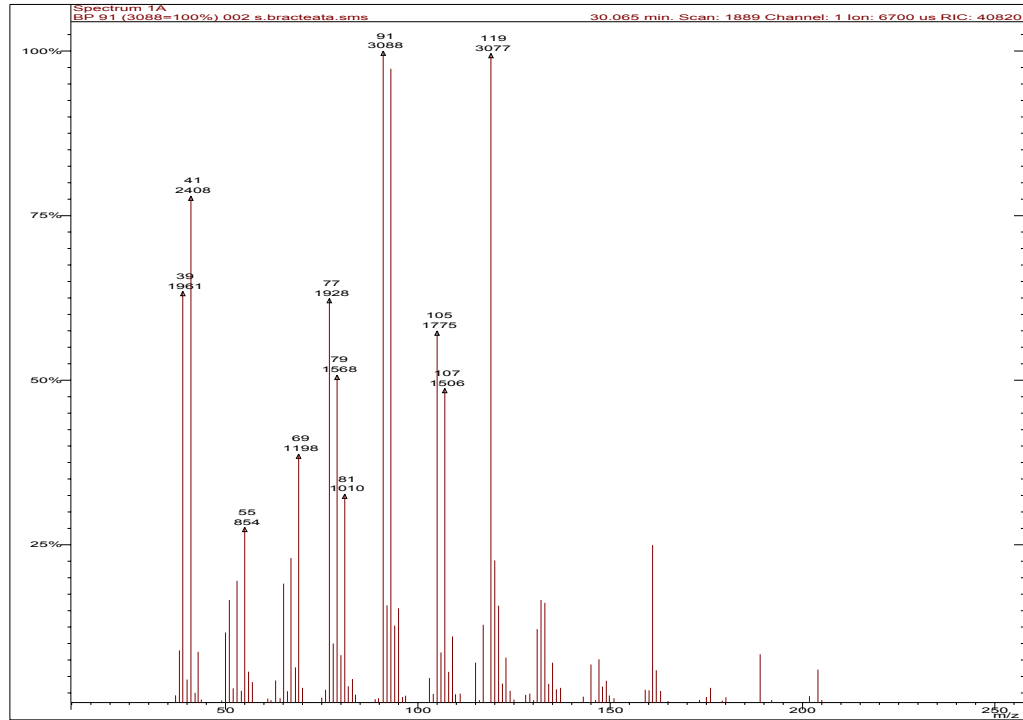
Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 16:01

Şekil 4.87. β -Selinene'in kütle spektrumu

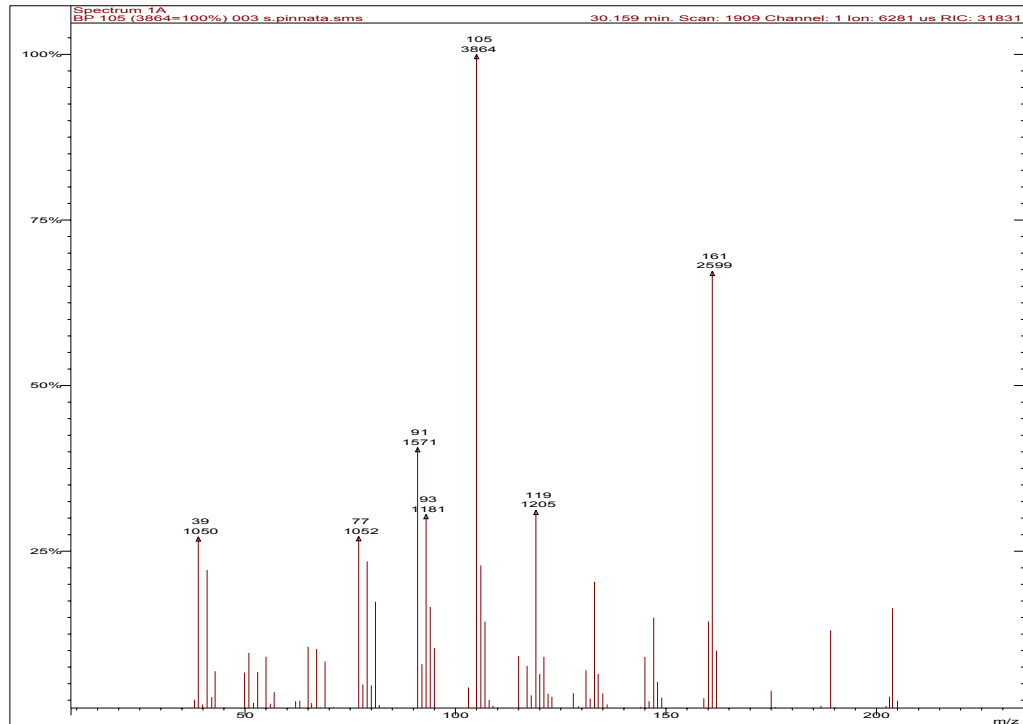
Spectrum 1A Plot - 19.09.2008 09:52

Şekil 4.88. α -Selinene'in kütle spektrumu

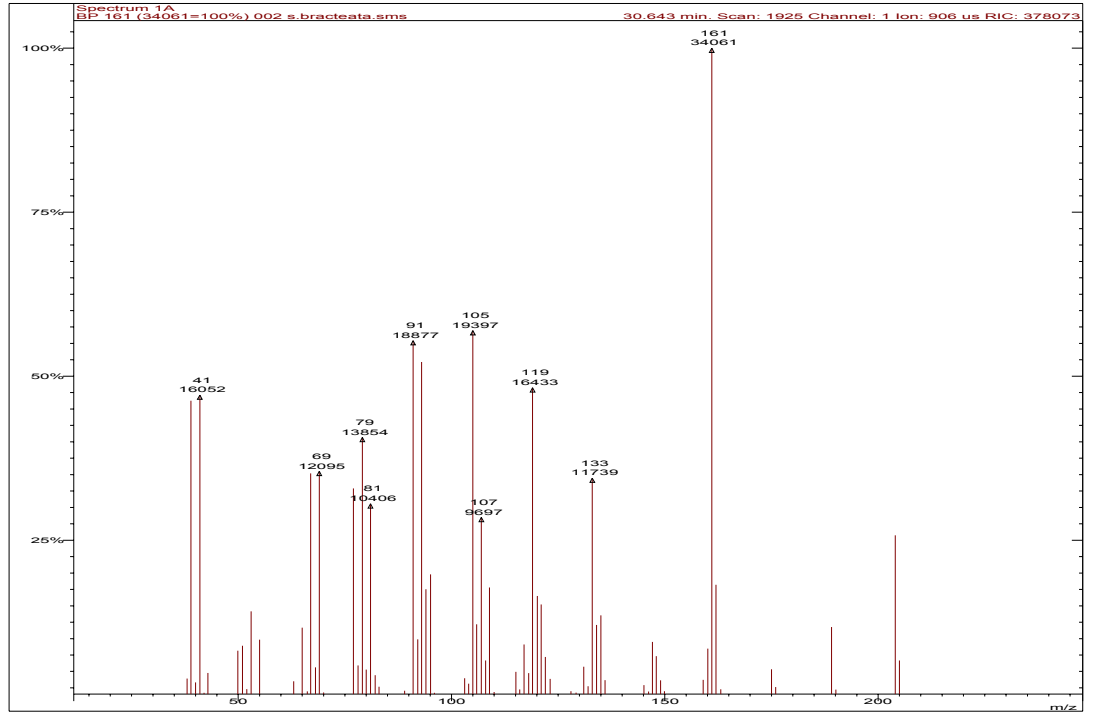
Spectrum 1A Plot - 20.10.2008 14:03

Şekil 4.89. (Z,E)- α -Farnesen'in kütle spektrumu

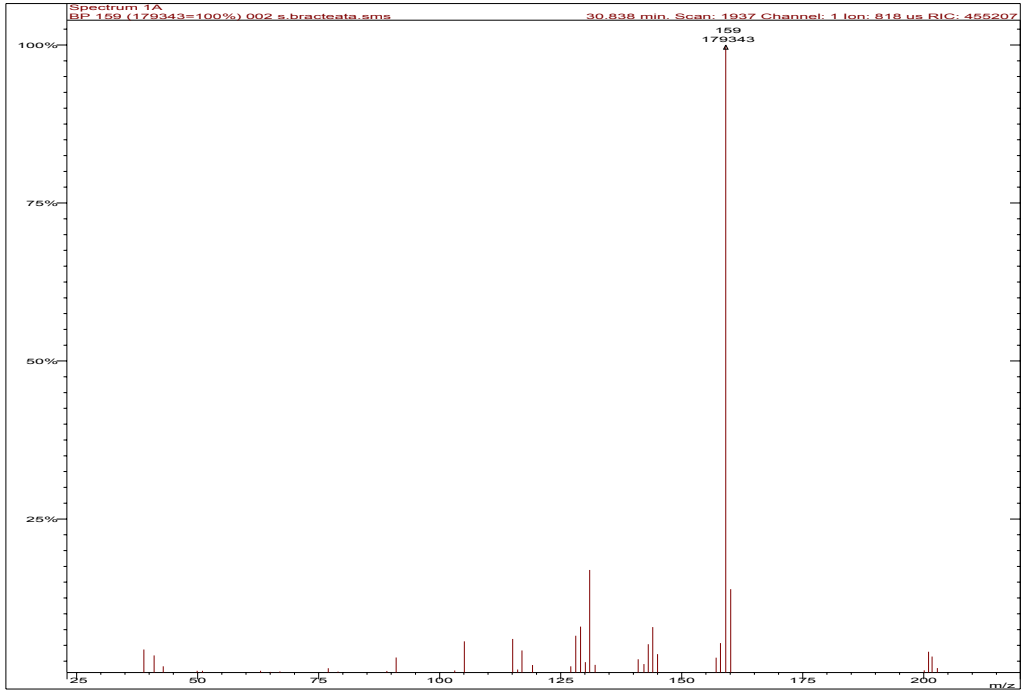
Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 16:03

Şekil 4.90. α -Murolen (α -Amorphen)'in kütle spektrumu

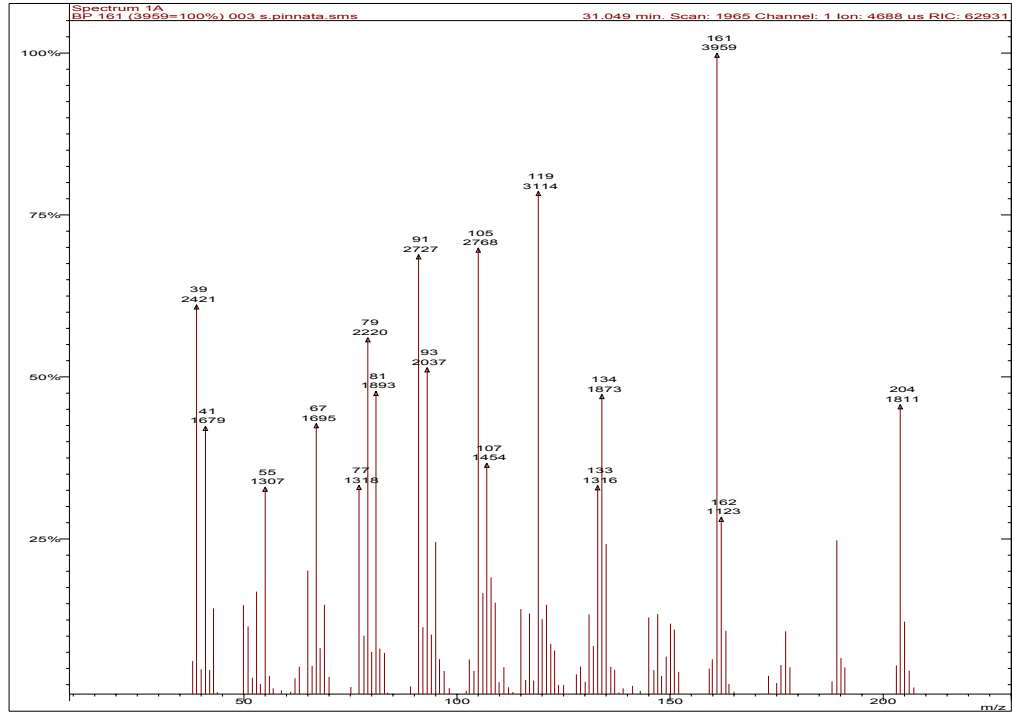
Spectrum 1A Plot - 20.10.2008 14:08

Şekil 4.91. γ -Kadinen'in kütle spektrumu

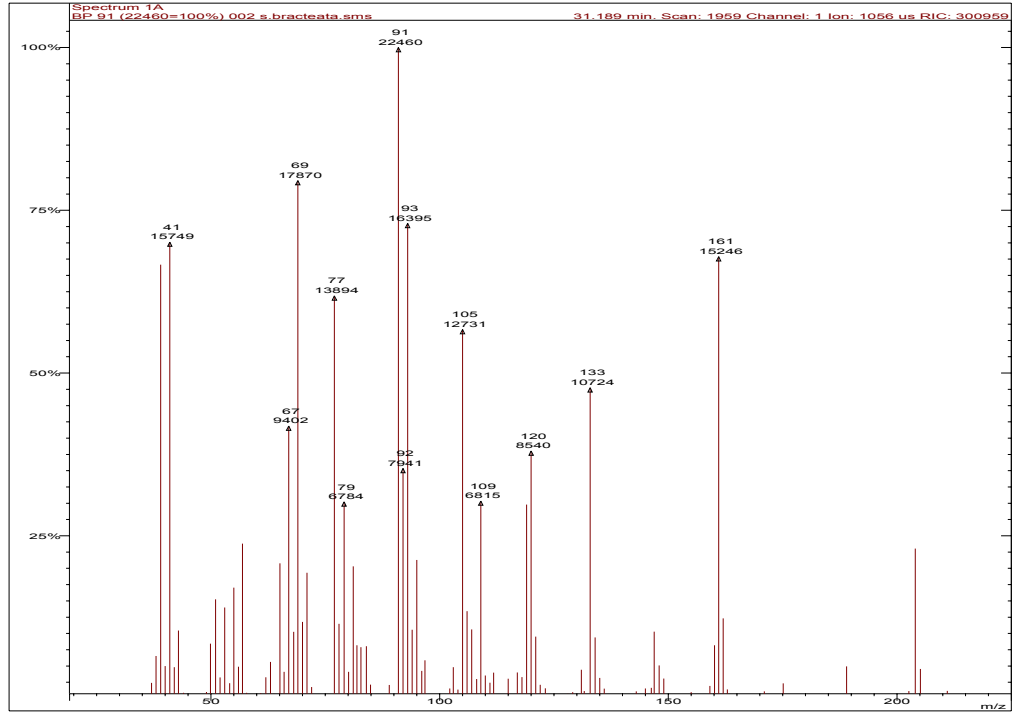
Spectrum 1A Plot - 19.09.2008 09:57

Şekil 4.92. *trans*-Kalamenen'in kütle spektrumu

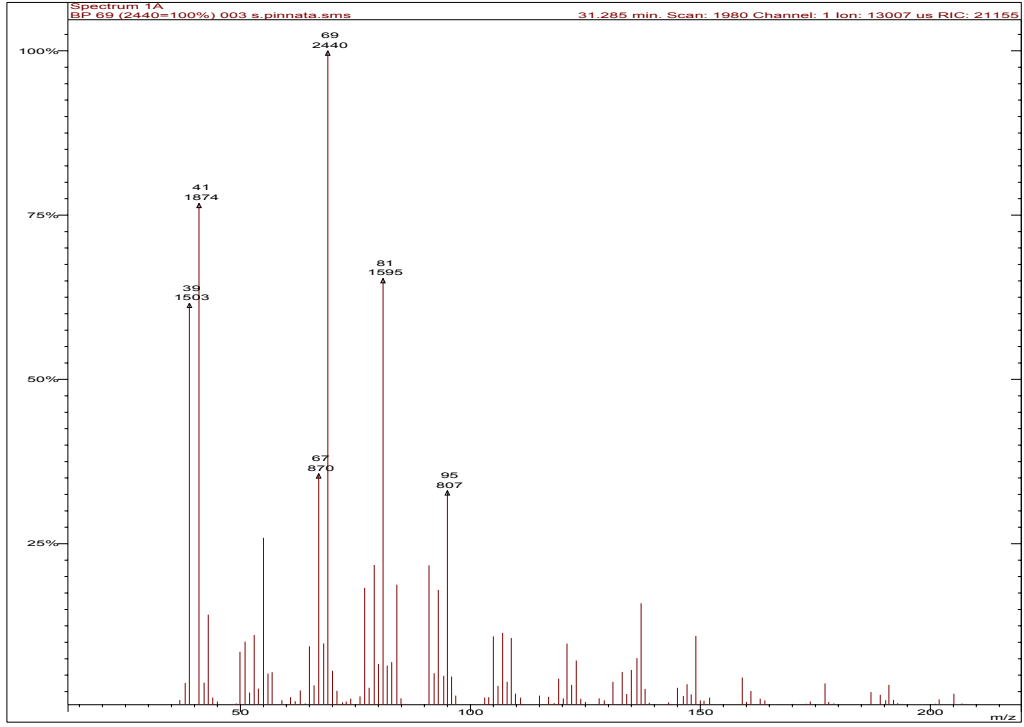
Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 16:07

Şekil 4.93. δ -Kadinen'in kütle spektrumu

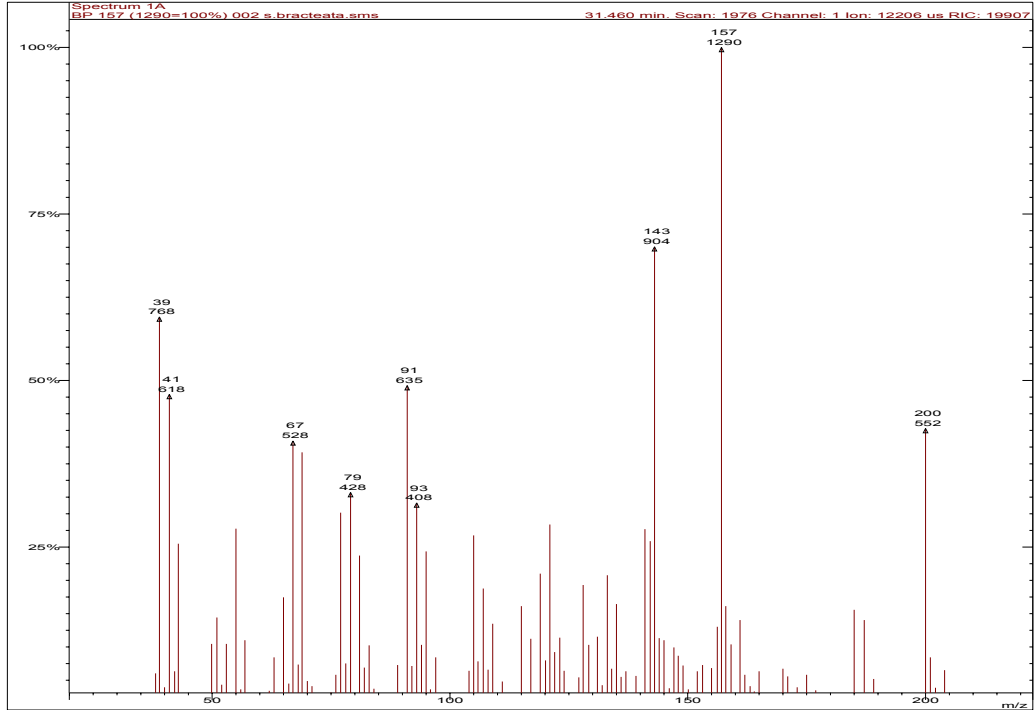
Spectrum 1A Plot - 19.09.2008 09:59

Şekil 4.94. β -Seskuvellandren'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 16:08

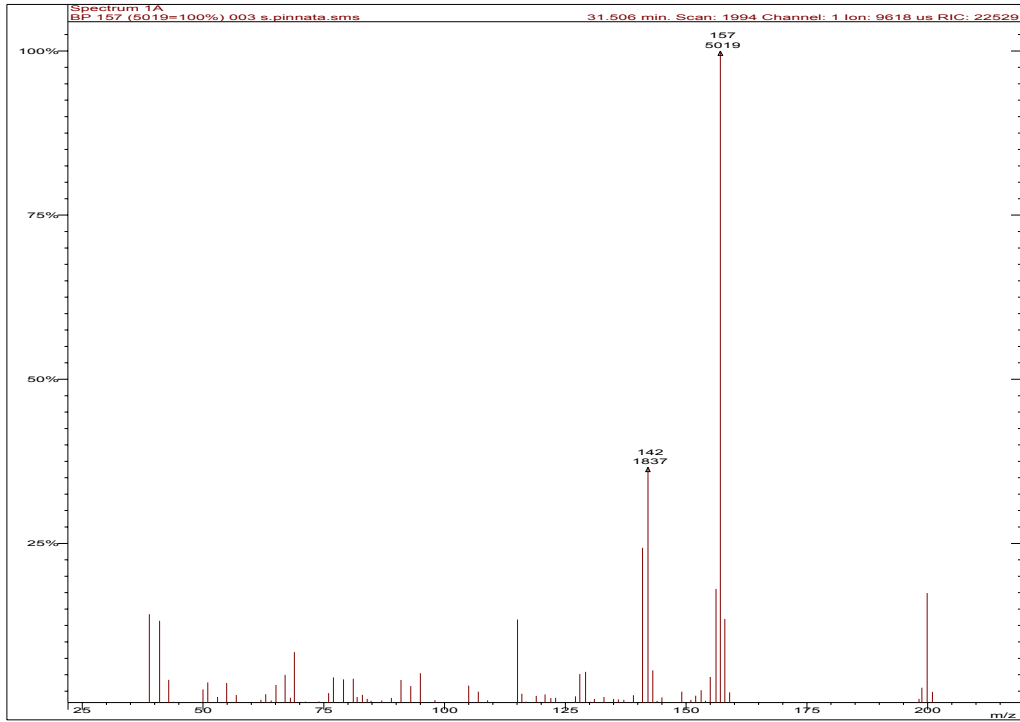
Şekil 4.95. *trans, trans*-Farnesal'ın kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 19.09.2008 10:01

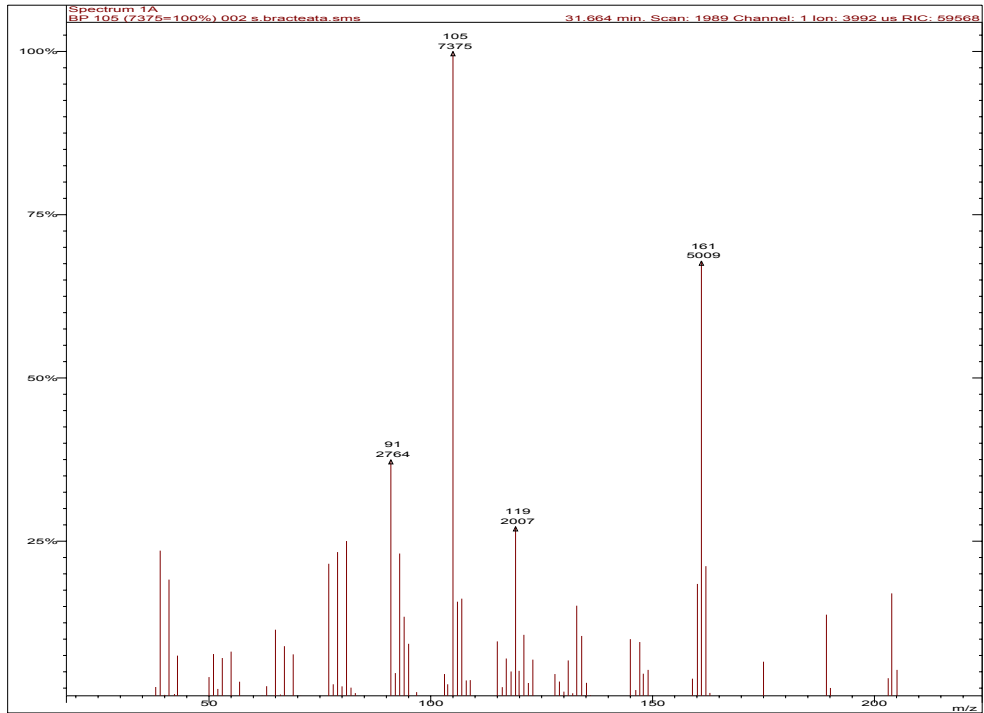


Şekil 4.96. 9-Metoksi Kalamenen'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 16:09

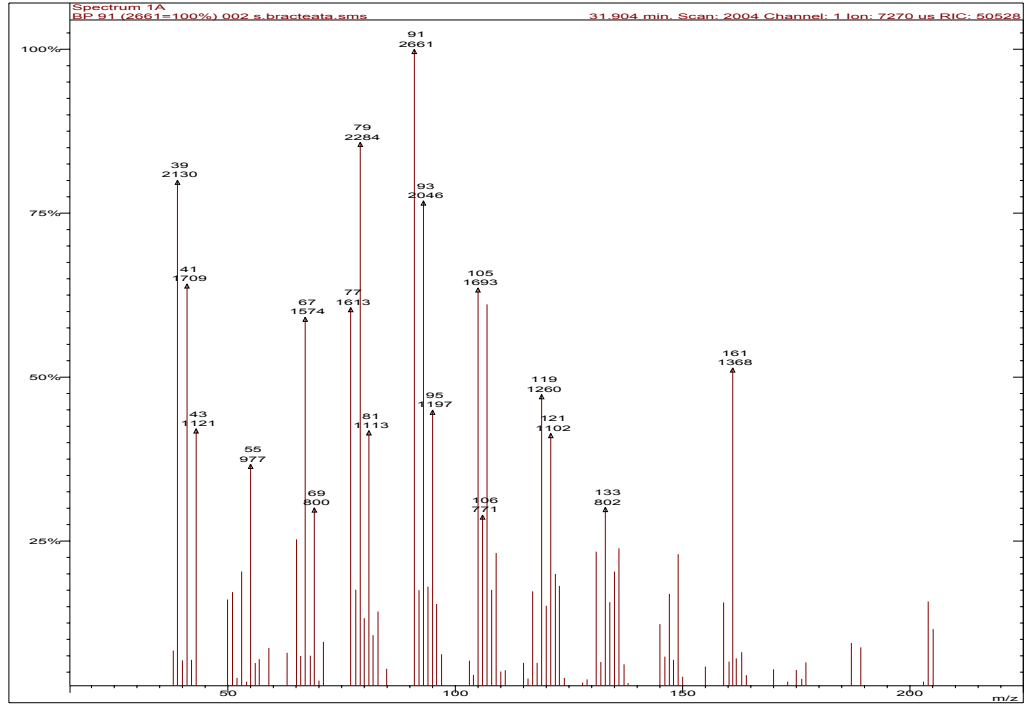
Şekil 4.97. α -Kalakoren'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 19.09.2008 10:03



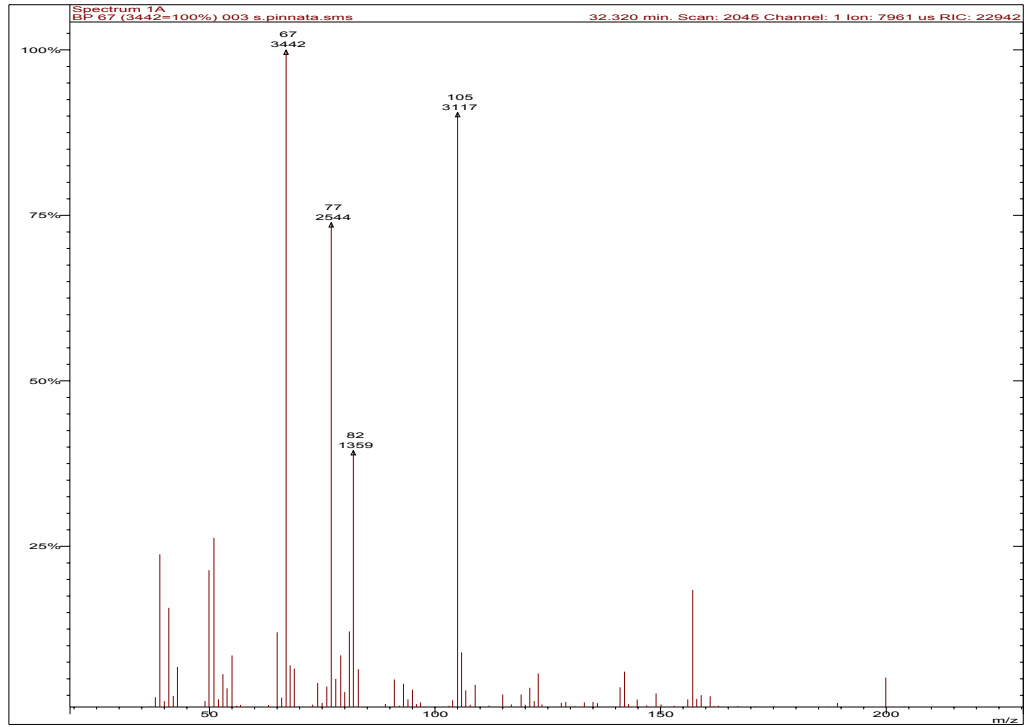
Şekil 4.98. Kadala-1(10),3,8-trien'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 19.09.2008 10:04



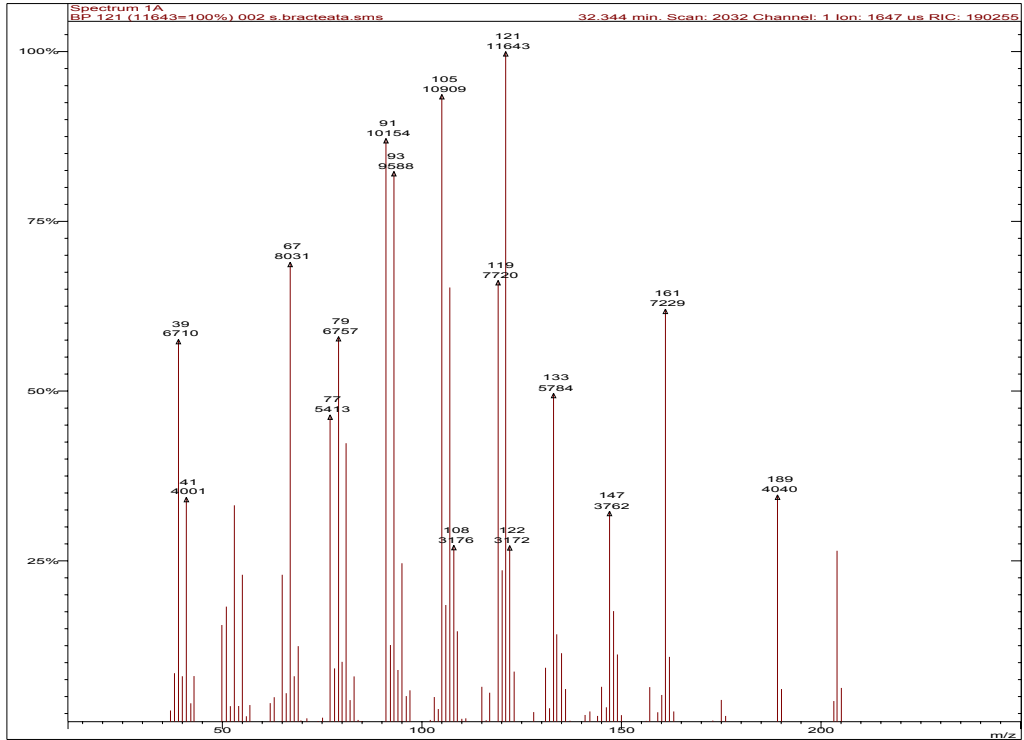
Şekil 4.99. Elemol'ün kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 16:11

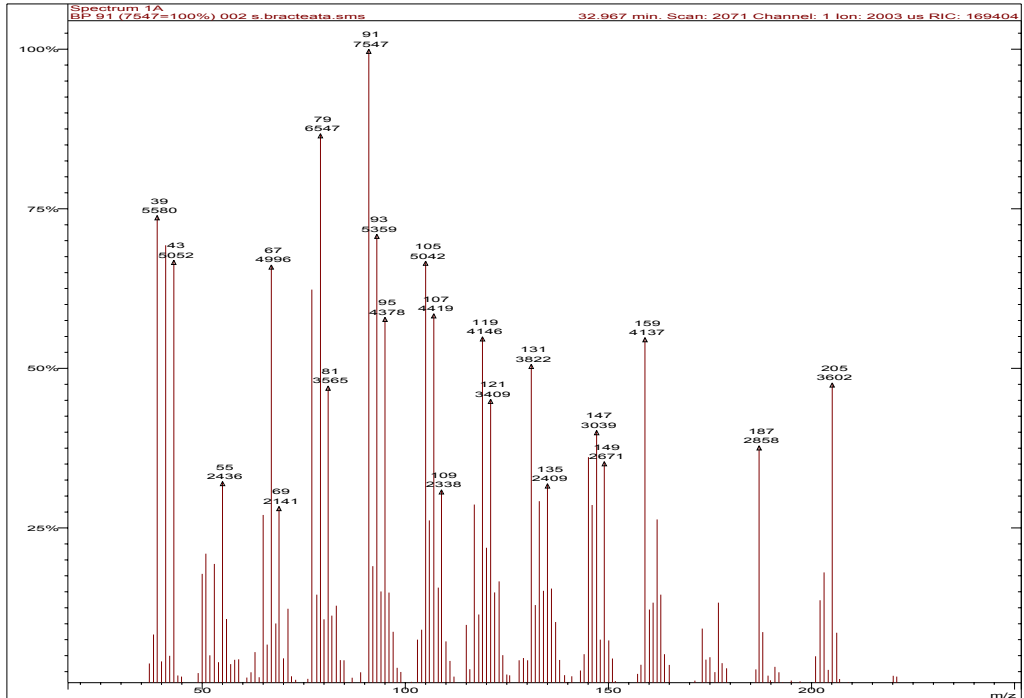


Şekil 4.100. 3-Hekzen-1-ol benzoat'ın kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 20.10.2008 14:10

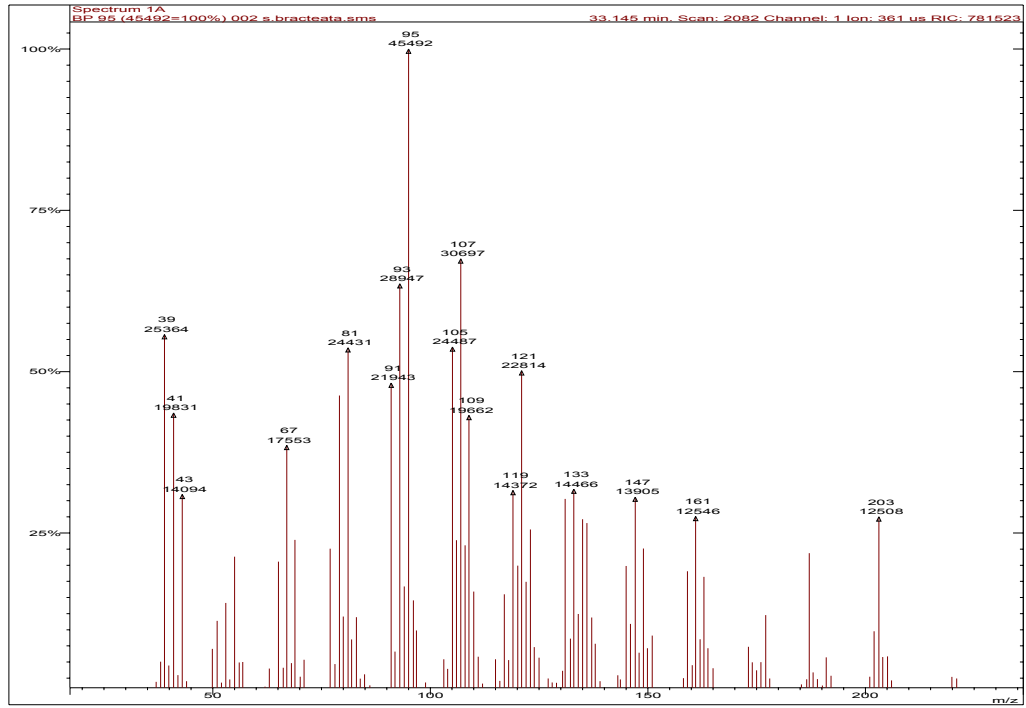
Şekil 4.101. γ -Elemen'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 19.09.2008 10:09



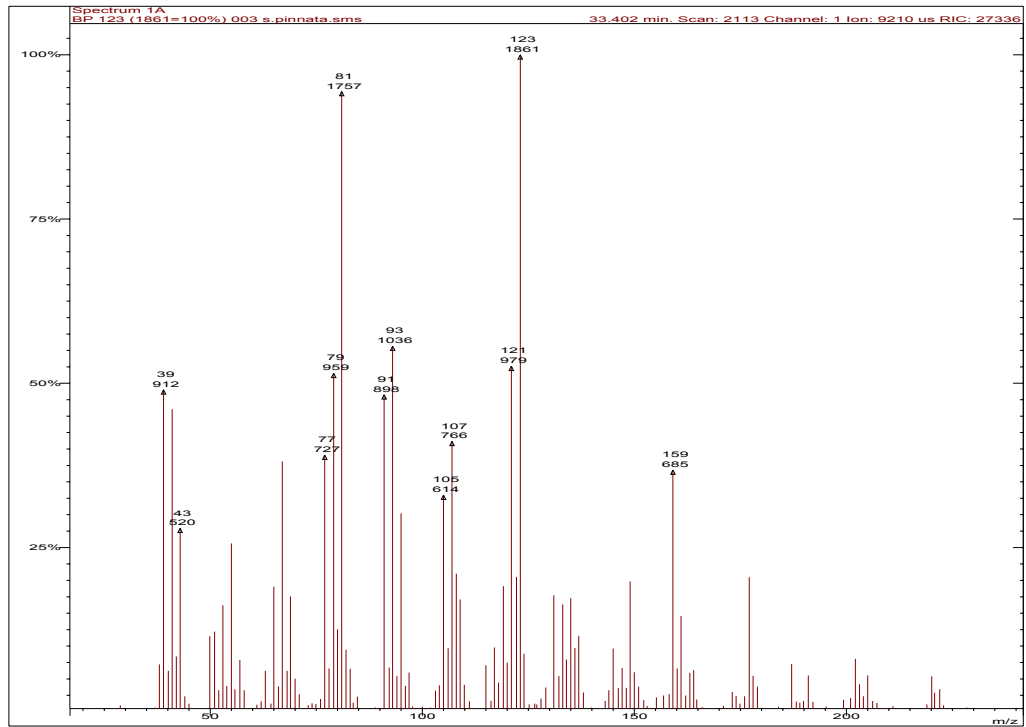
Şekil 4.102. Spathulenol'ün kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 19.09.2008 10:23



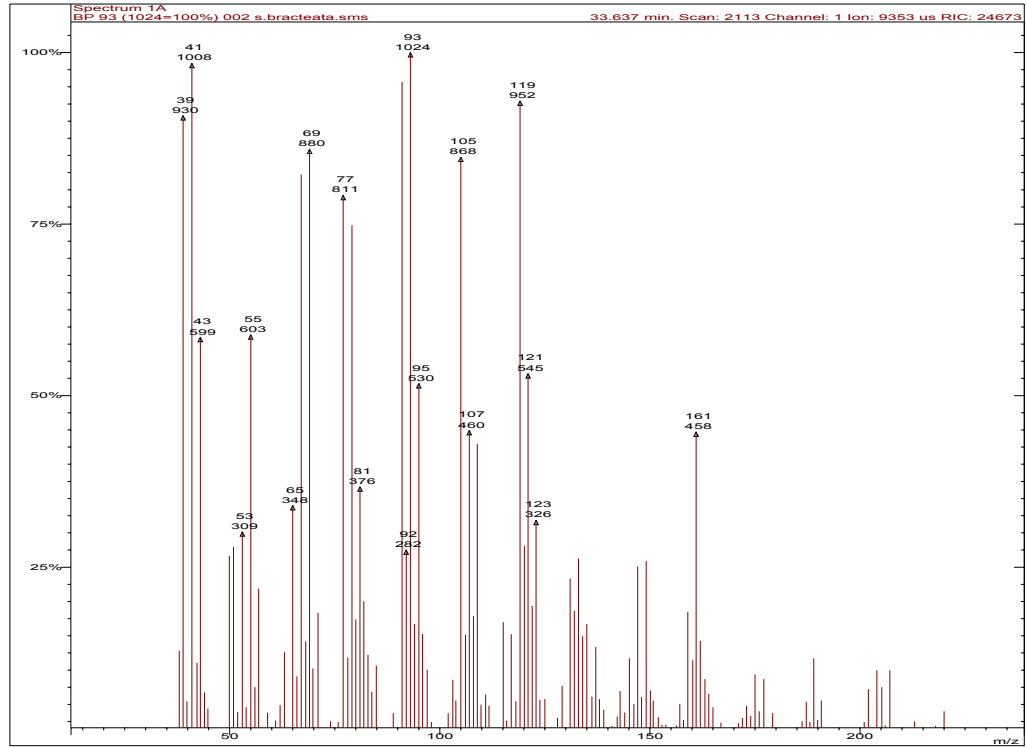
Şekil 4.103. Karyofilen oksit'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 16:15



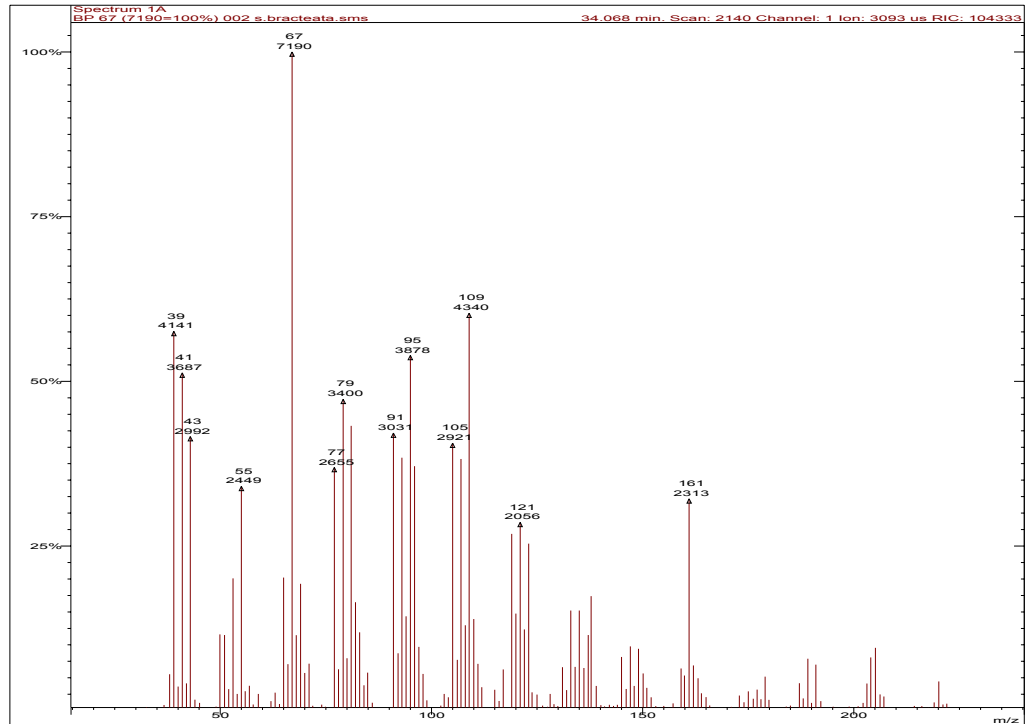
Şekil 4.104. Aristolen epoksit'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 19.09.2008 10:24



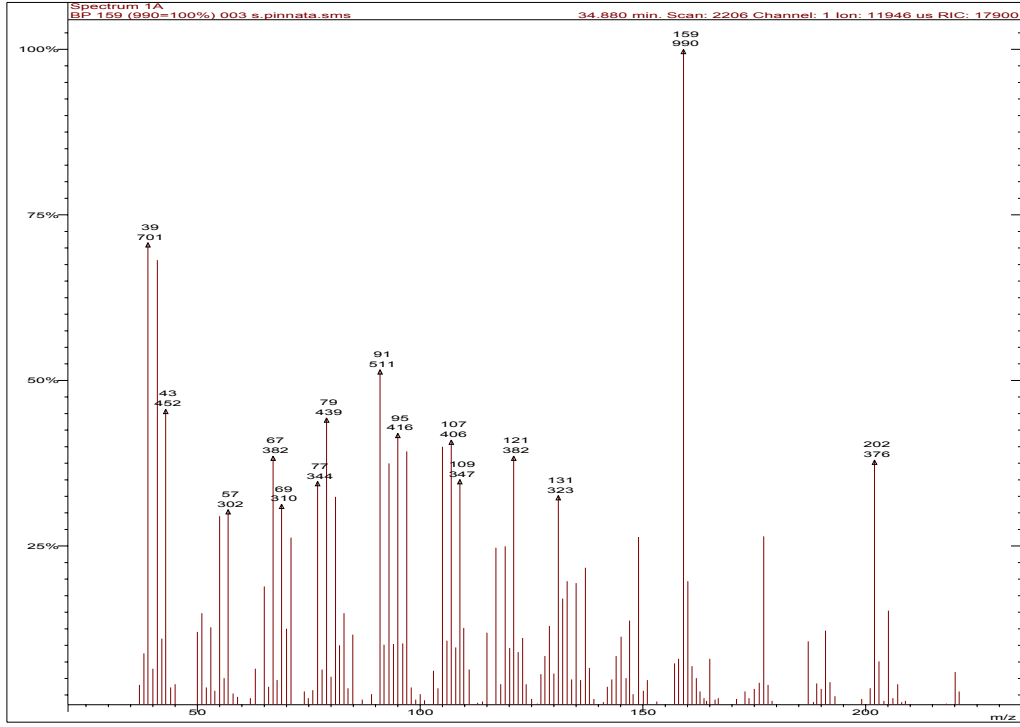
Şekil 4.105. Kubenol'ün kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 19.09.2008 10:26

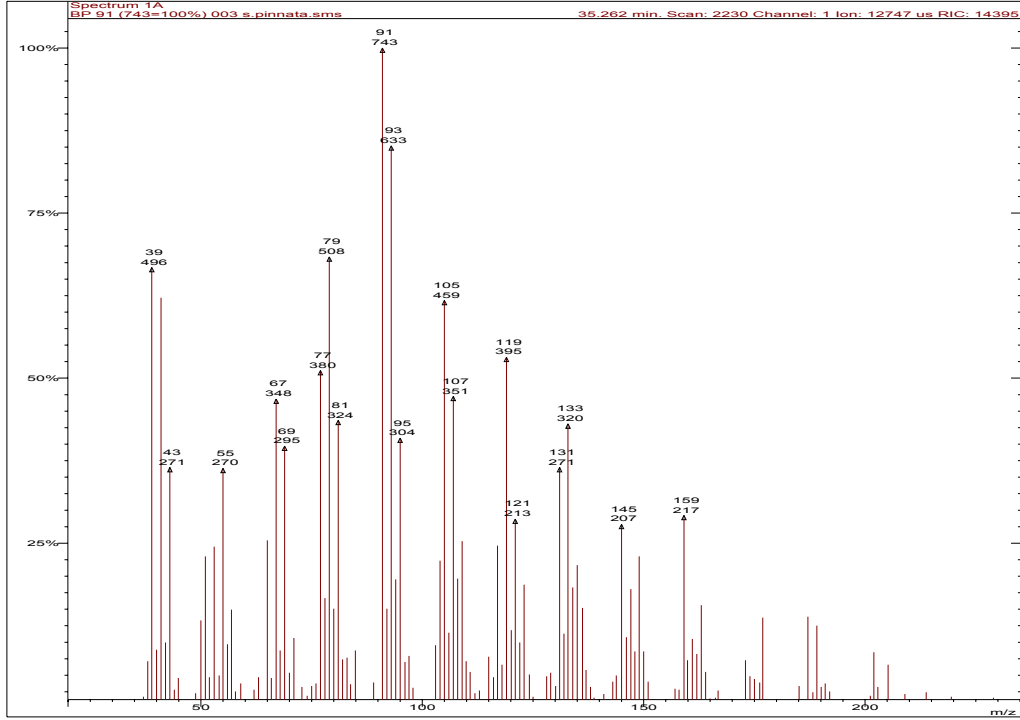


Şekil 4.106. tau-Kadinol'ün kütle spektrumu

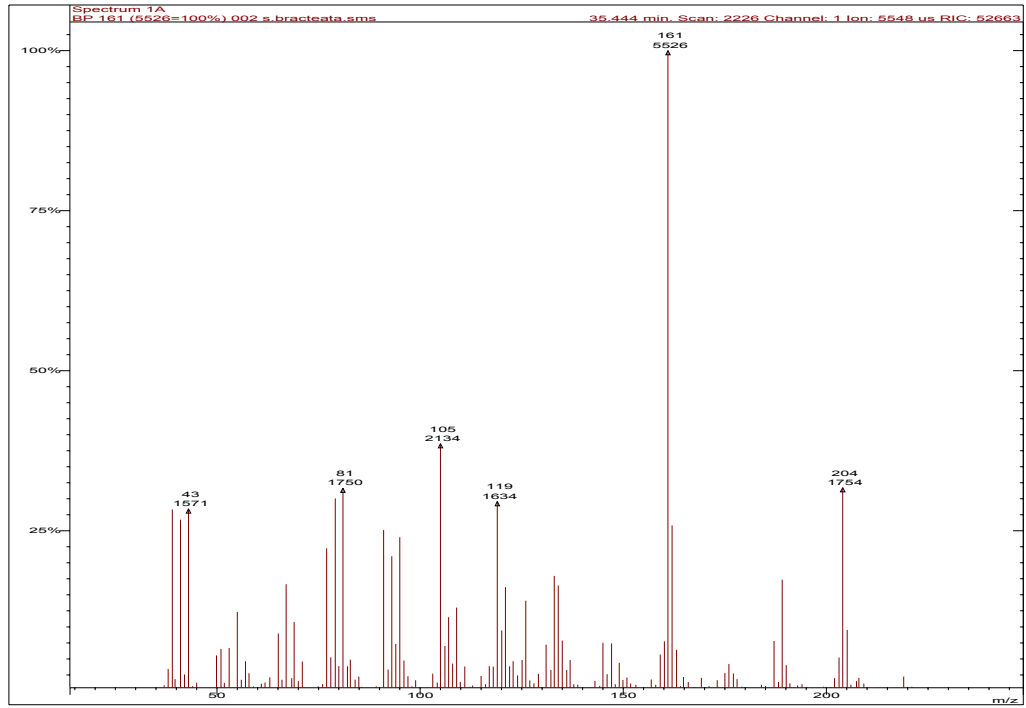
Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 16:18

Şekil 4.107. δ -Kadinol'ün kütle spektrumu

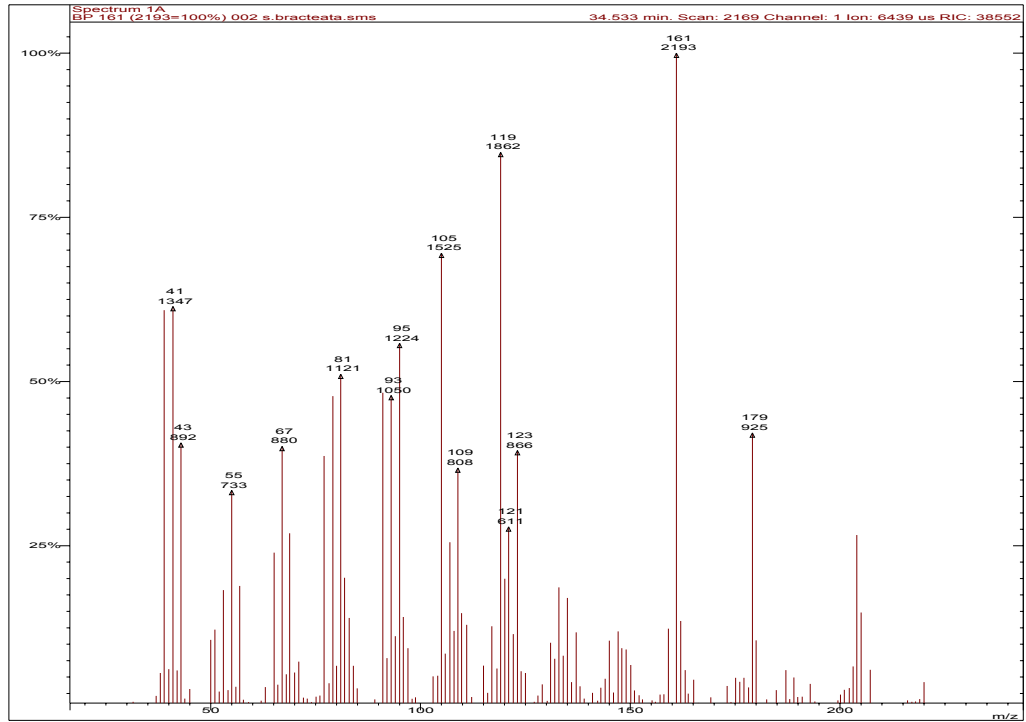
Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 16:20

Şekil 4.108. α -Eudesmol'ün kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 19.09.2008 10:29

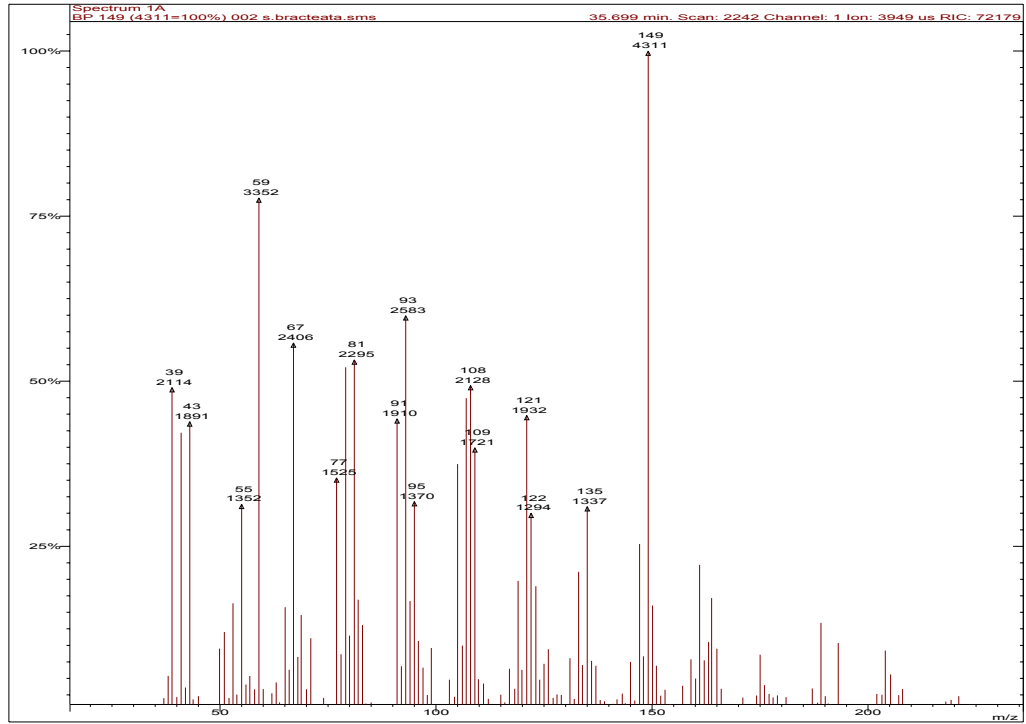
Şekil 4.109. α -Kadinol'ün kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 19.09.2008 12:46



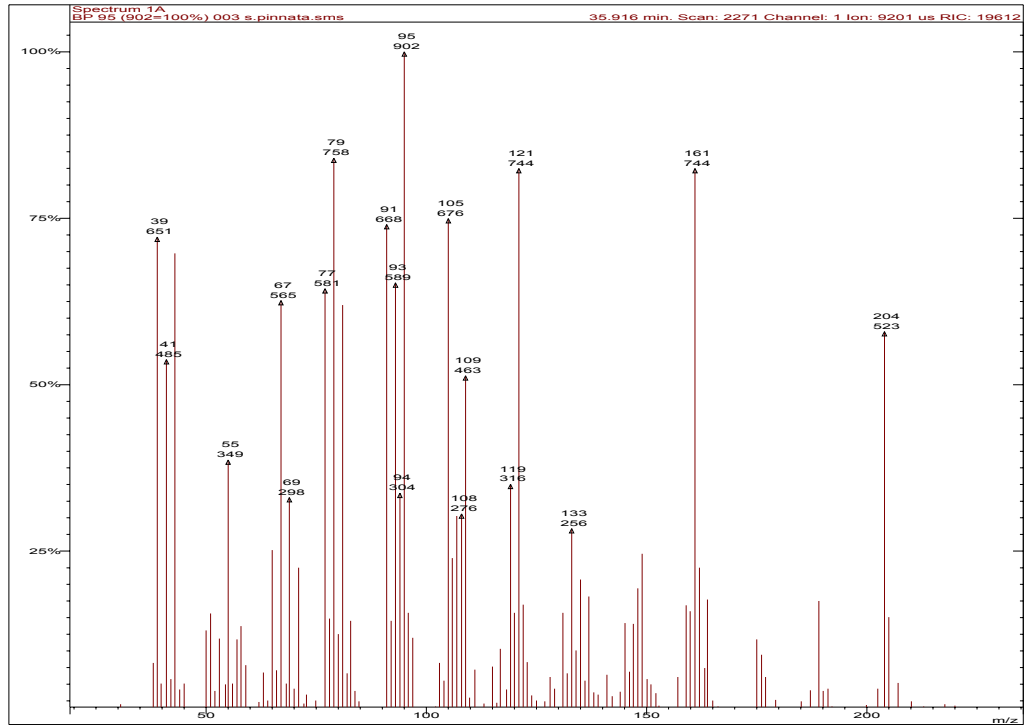
Şekil 4.110. Kadalen'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 19.09.2008 12:48



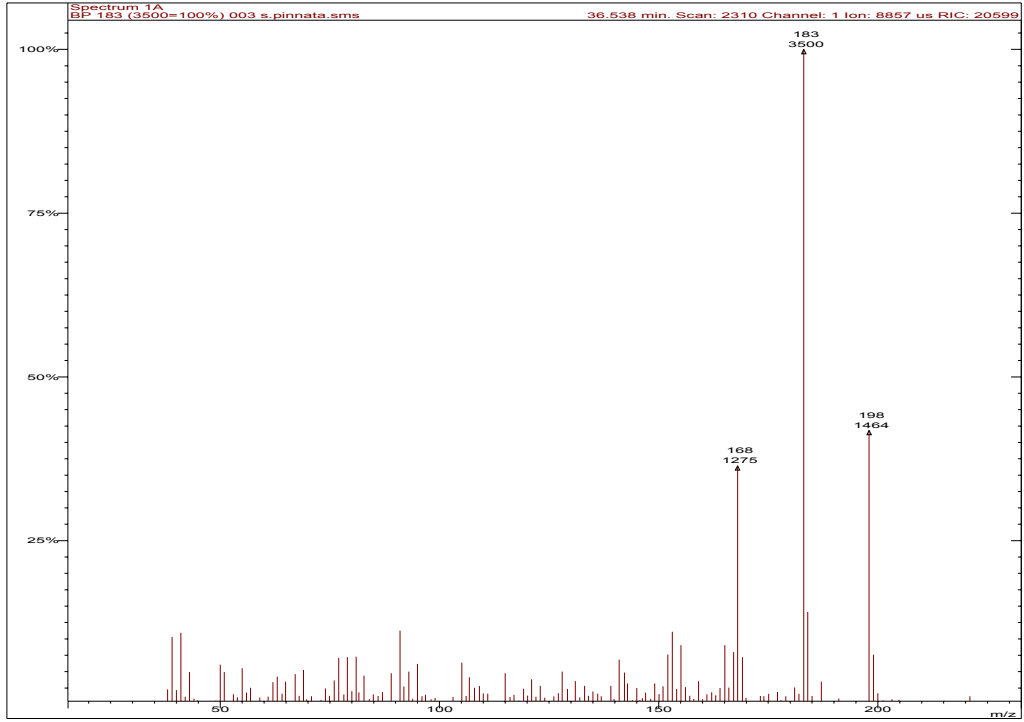
Şekil 4.111. Alloaromadendren oksit-(1)'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 16:28



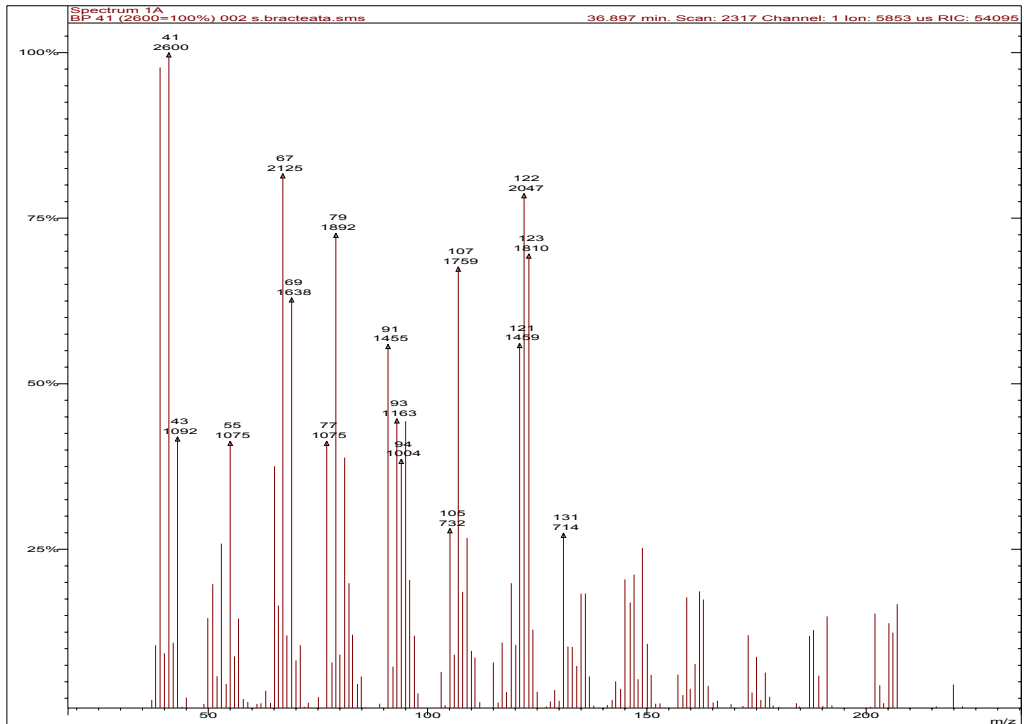
Şekil 4.112. Leden oksit-(II)'nin kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 16:29



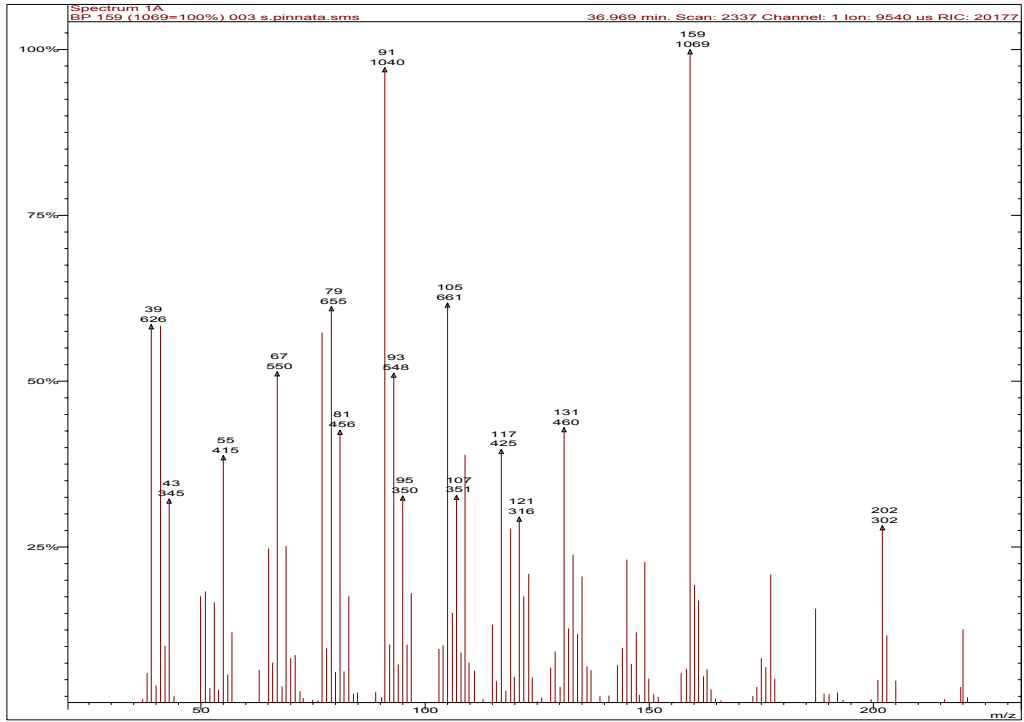
Şekil 4.113. 8-Sedren-13-ol'ün kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 19.09.2008 11:06



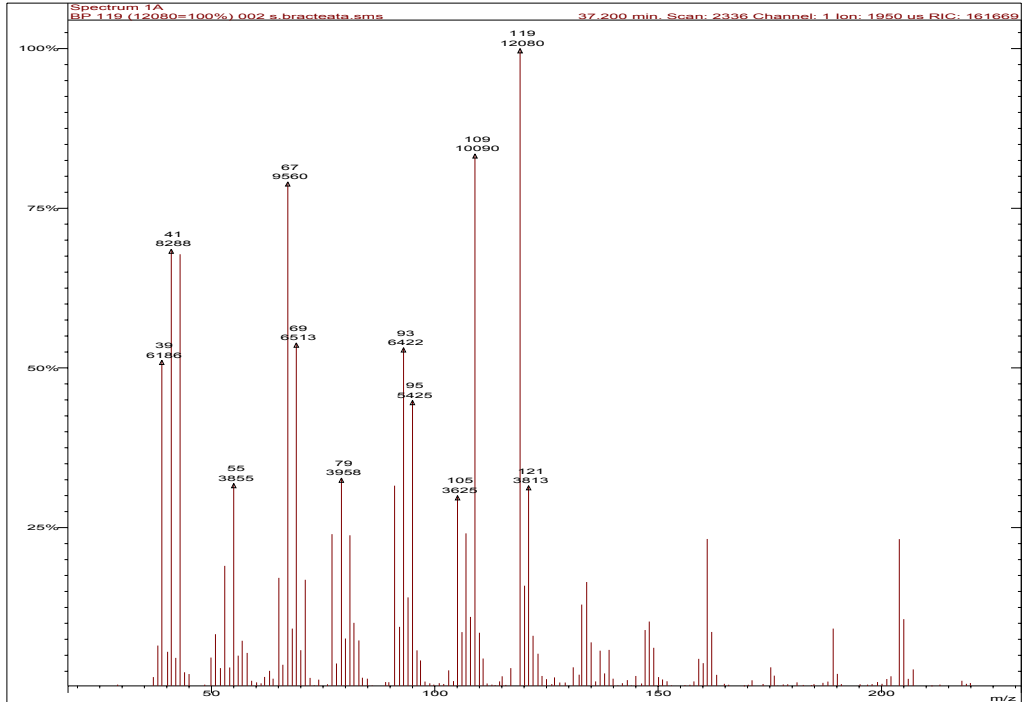
Şekil 4.114. Aromadendren oksit-(2)'nin kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 16:31

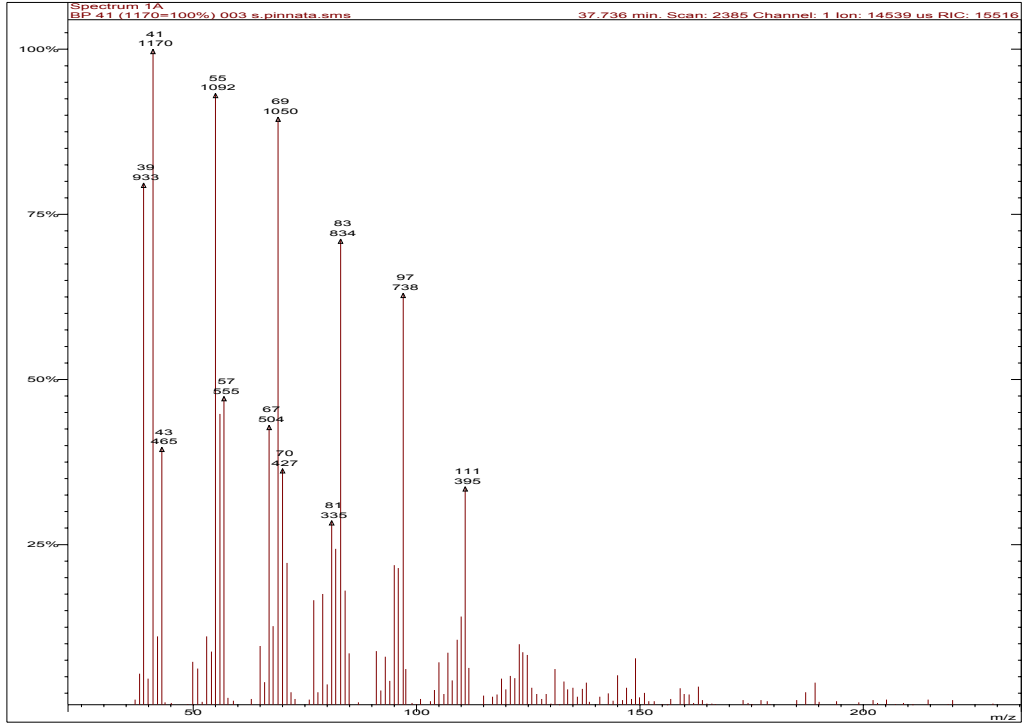


Şekil 4.115. 8-hidroksi-endo-sikloizolongifen'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 19.09.2008 12:38

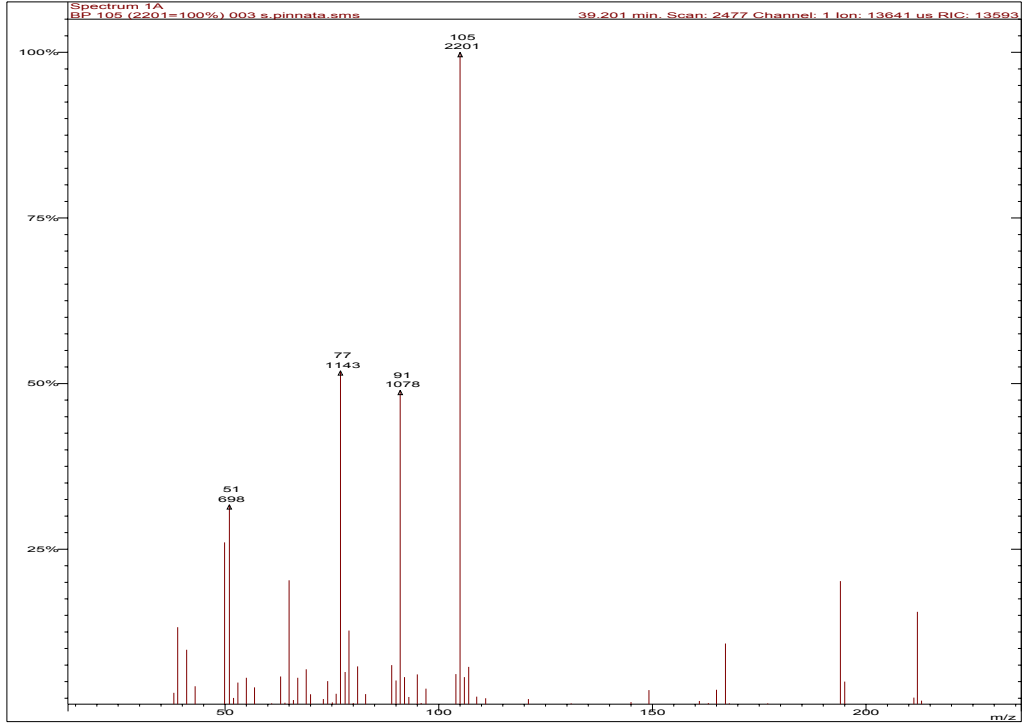
Şekil 4.116. α -Bisabolol'ün kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 16:32



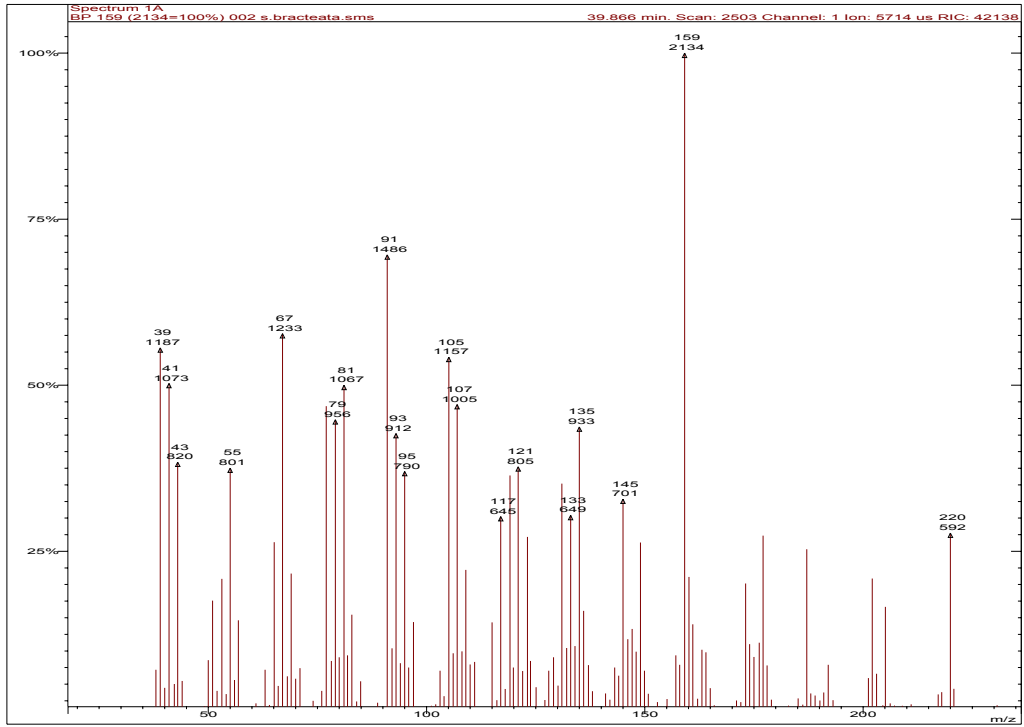
Şekil 4.117. (E)-3-Eikosen'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 16:34



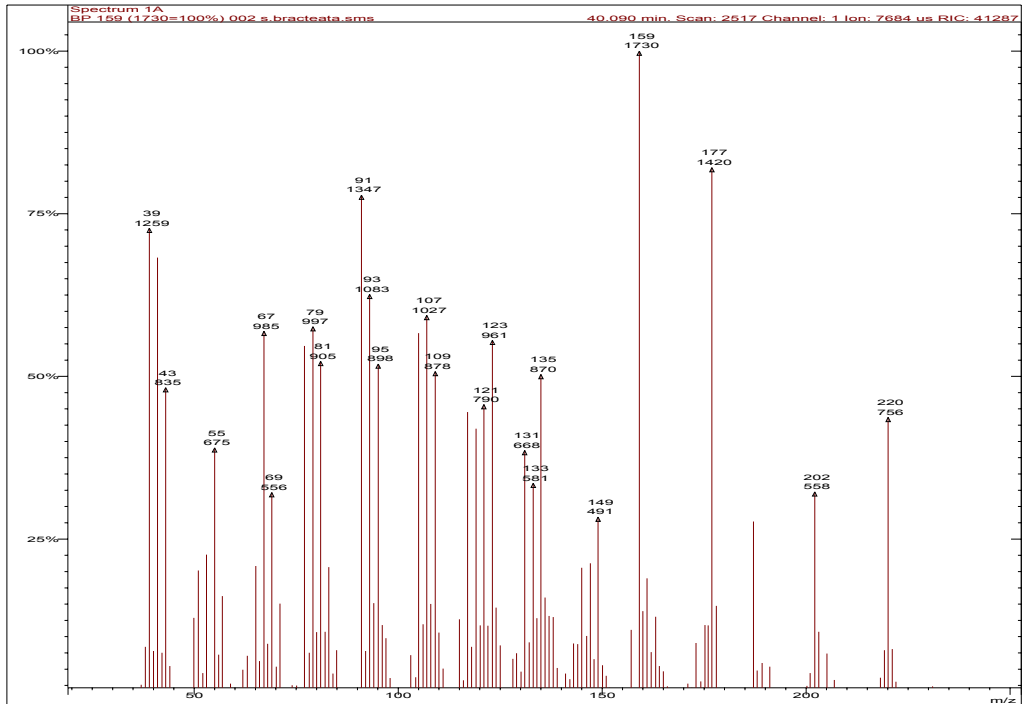
Şekil 4.118. Benzil Benzoat'ın kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 19.09.2008 12:41



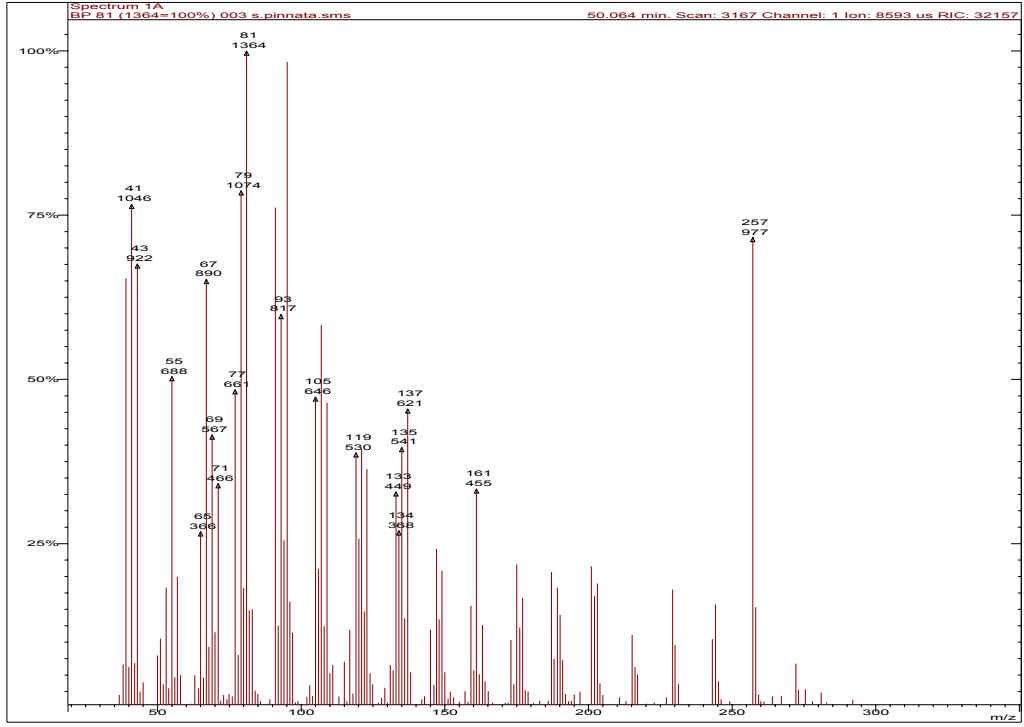
Şekil 4.119. Kaleren epoksit'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 19.09.2008 12:42



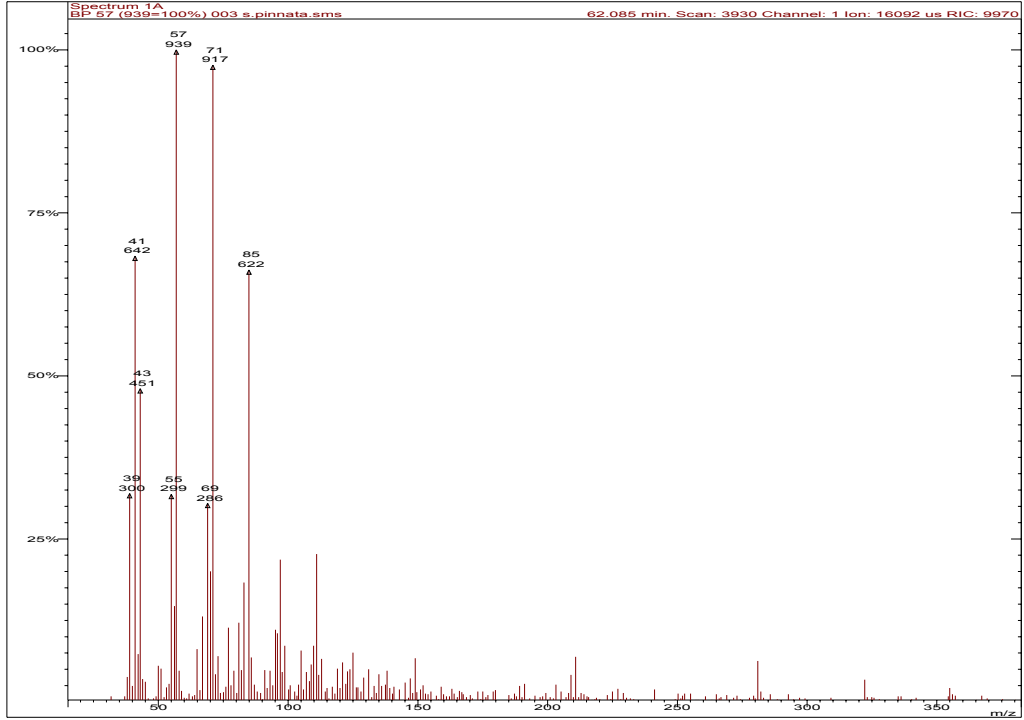
Şekil 4.120. Aristolene epoksit'in kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 16:38

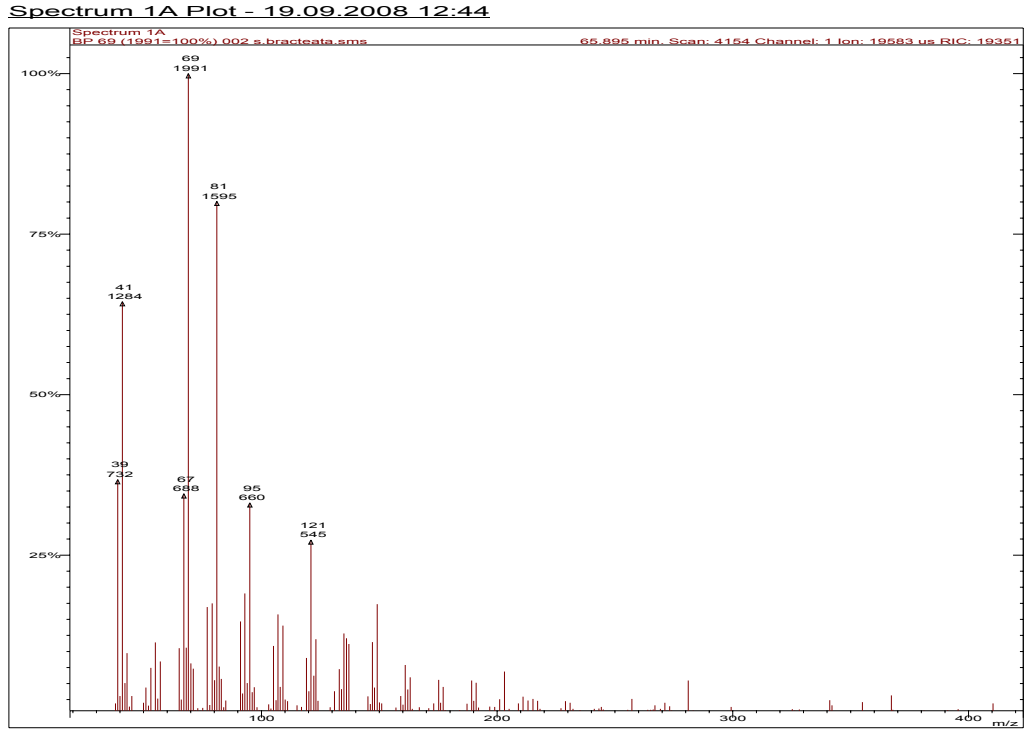


Şekil 4.121. Sıklerol'ün kütle spektrumu

Spectrum 1A Plot - 08.08.2008 16:39



Şekil 4.122. 3-Etil-5-(2-etilbutil)-Oktadekan'ın kütle spektrumu



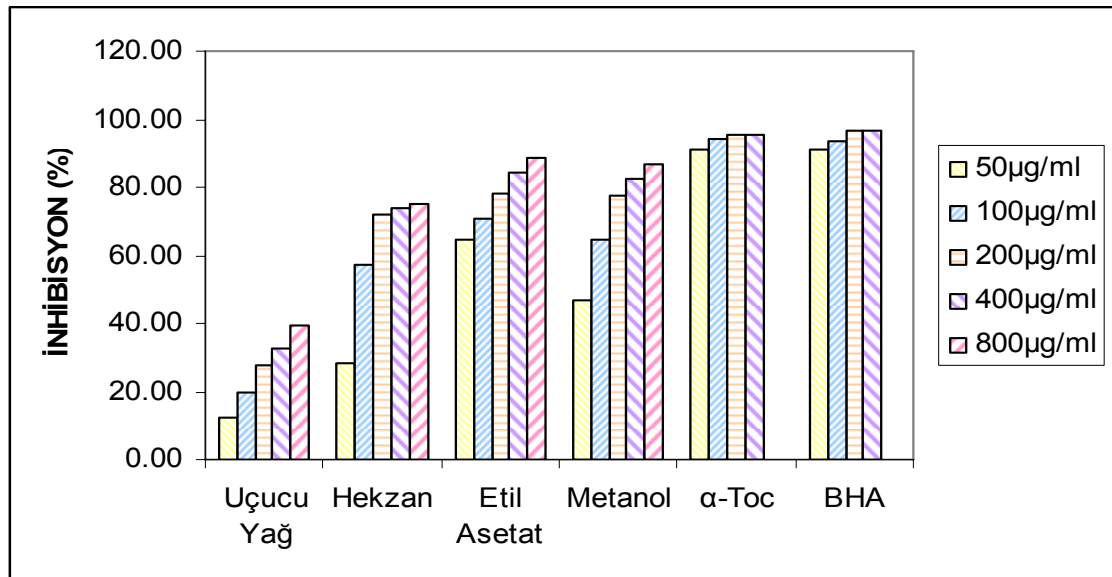
Şekil 4.123. All-*trans*-Squalen'in kütle spektrumu

4.3. Toplam Antioksidant Aktivitenin Belirlenmesi

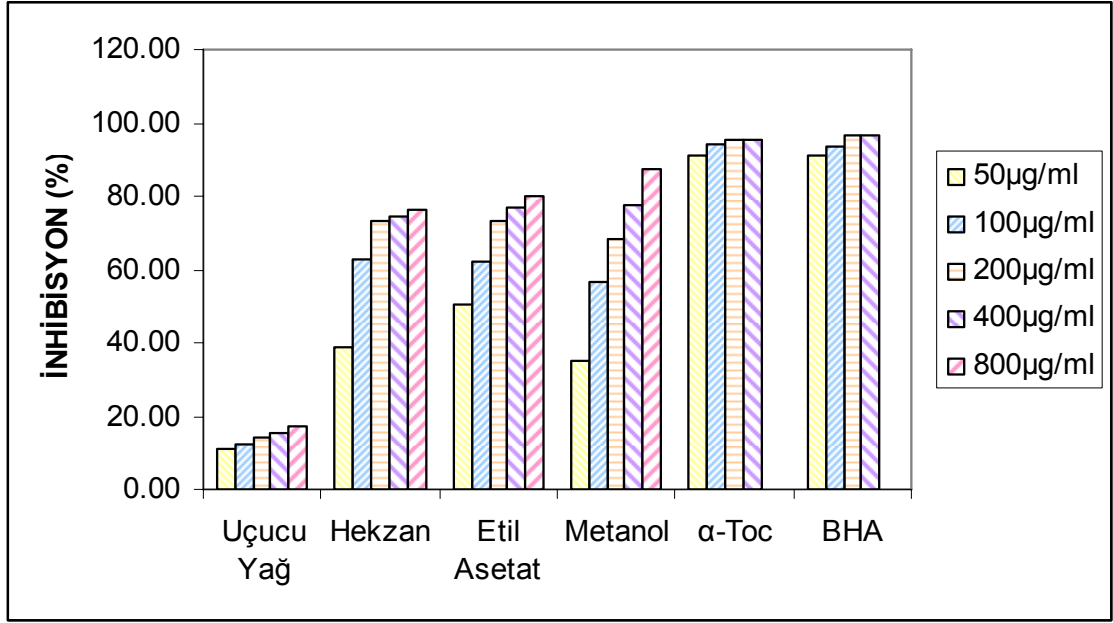
Salvia pinnata ve *Salvia bracteata* bitkilerinin hidrodestilasyon ile elde edilen uçucu yağ, sıralı ekstraksiyon ile elde edilen hekzan, etil asetat ve metanol özütleri ve standart antioksidantlar ile birlikte β -karoten-linoleik asit sistemiyle belirlenen toplam antioksidant aktiviteleri Tablo 4.4.'de ve Şekil 4.124. ile Şekil 4.125.'de verilmiştir.

Tablo 4.4. *Salvia pinnata* ve *Salvia bracteata* bitkilerinin uçucu yağı, takip eden ekstraksiyon ile elde edilen hekzan, etil asetat, metanol özütleri ve standartların α -tokoferol ile BHA'nin β -karoten-linoleik asit sistemindeki toplam antioksidant aktiviteleri

Bitki Örneği	Özütler	Antioksidant Aktivite (% A.A.)				
		50 μ g	100 μ g	200 μ g	400 μ g	800 μ g
<i>Salvia pinnata</i>	Uçucu Yağ	12,45	19,80	27,40	32,76	39,60
	Hekzan	28,14	57,16	72,10	73,89	75,17
	Etil Asetat	64,89	70,49	78,08	84,31	88,92
	Metanol	46,58	64,81	77,58	82,45	86,80
<i>Salvia bracteata</i>	Uçucu Yağ	10,96	12,58	14,07	45,67	17,24
	Hekzan	38,61	62,89	73,10	75,35	76,55
	Etil Asetat	50,31	63,02	73,47	77,39	79,70
	Metanol	34,99	56,41	68,12	77,34	87,42
α -Tokoferol		90,78	93,90	95,64	95,64	95,64
BHA		90,91	93,65	96,76	96,76	96,76



Şekil 4.124. *Salvia pinnata* bitkisinin uçucu yağı, takip eden ekstraksiyon ile elde edilen hekzan, etil asetat, metanol özütleri ve standartların α -tokoferol ile BHA'nin toplam antioksidant aktivitesi



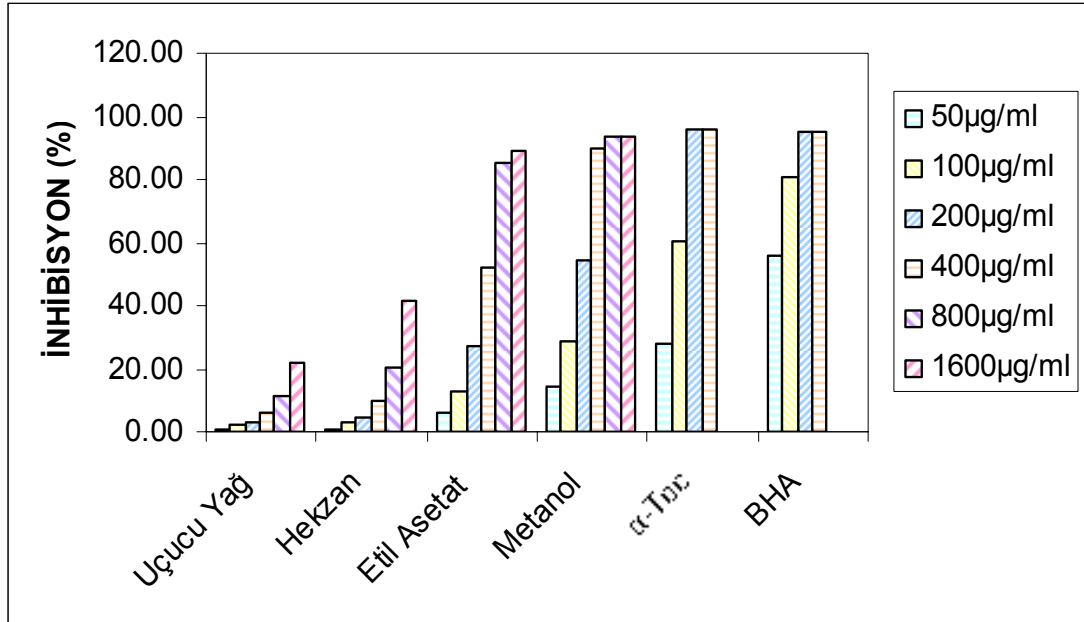
Şekil 4.125. *Salvia bracteata* bitkisinin uçucu yağı, takip eden ekstraksiyon ile elde edilen hekzan, etil asetat, metanol özütleri ve standartların α -tokoferol ile BHA'nin toplam antioksidant aktivitesi

4.4. Serbest Radikal Giderim Aktivitenin Belirlenmesi

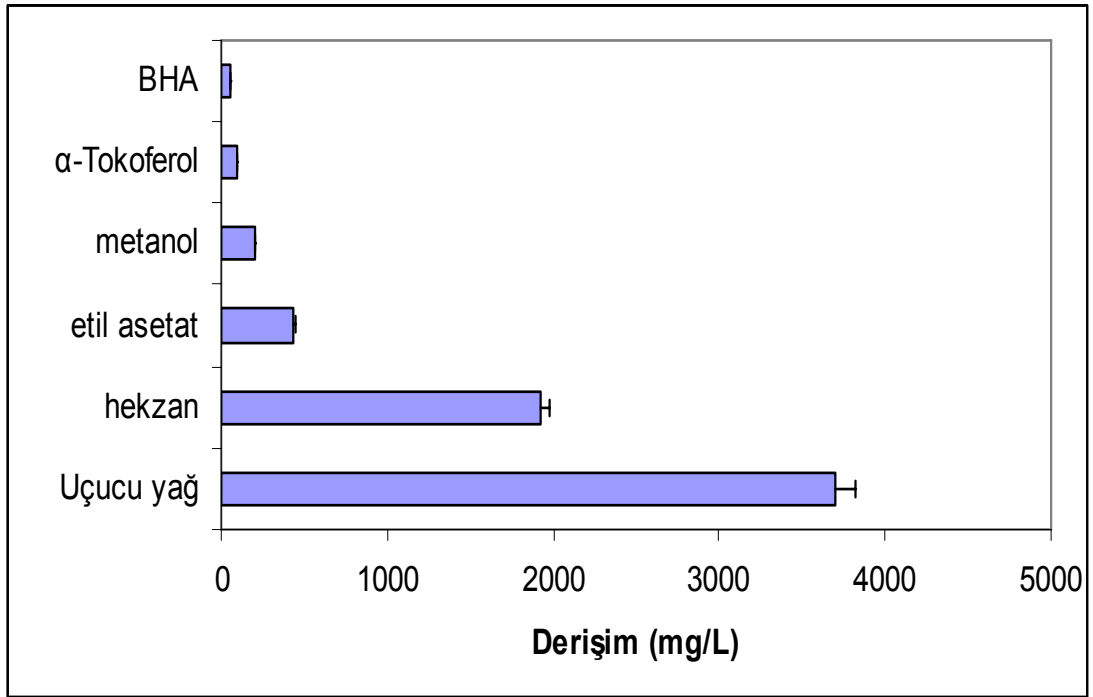
Salvia pinnata ve *Salvia bracteata* bitkilerinin hidrodestilasyon ile elde edilen uçucu yağlarının, sıralı ekstraksiyon ile elde edilen hekzan, etil asetat ve metanol özütlерinin serbest radikal giderim aktiviteleri DPPH radikali kullanılarak, standart antioksidantlar (α -Tokoferol ile BHA) ile birlikte karşılaştırmalı olarak belirlendi. Uçucu yağlar, farklı derişimdeki özütlер ve standartların serbest radikal giderim aktiviteleri Tablo 4.5.'de verilmiştir. Bitki uçucu yağlarının, özütlерinin ve standartların DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri ve IC50 değerleri Şekil 4.126.-4.129.'da verilmiştir

Tablo 4.5. *Salvia pinnata* ve *Salvia bracteata* bitkilerinin uçucu yağı, hekzan, etil asetat, metanol ve standartların (α -tokoferol ve BHA) DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri

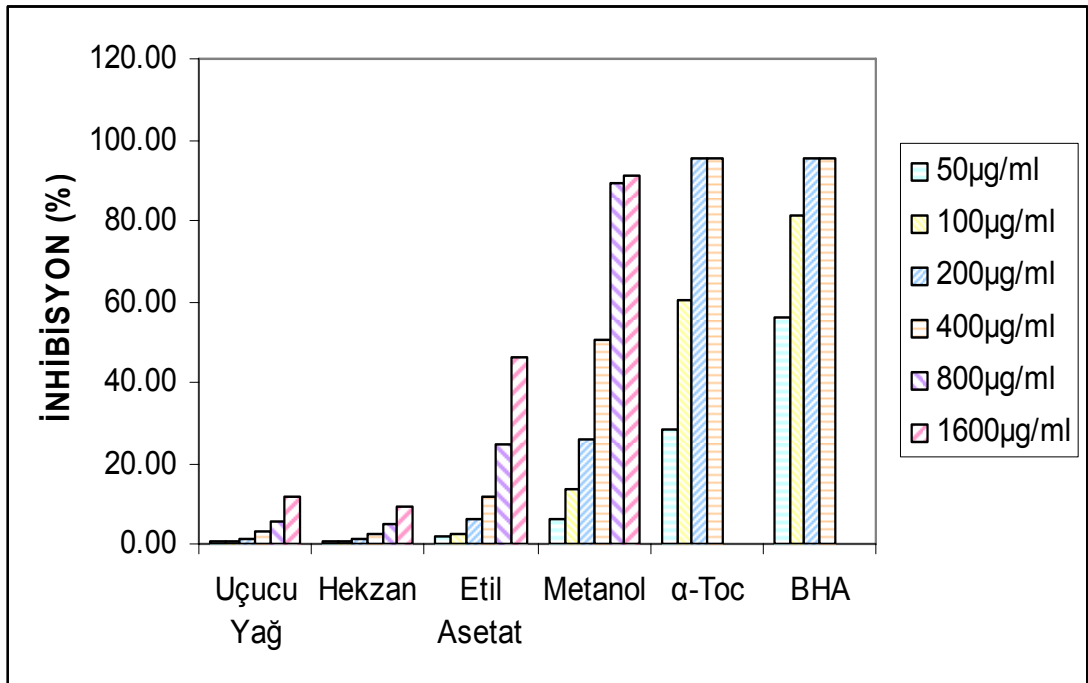
Bitki Örneği	Özütler	İnhibisyon (%)					
		50 μ g	100 μ g	200 μ g	400 μ g	800 μ g	1600 μ g
<i>Salvia pinnata</i>	Uçucu Yağ	0,87	1,94	2,91	5,82	11,02	21,74
	Hekzan	0,51	2,93	4,65	10,01	20,42	41,76
	Etil Asetat	6,27	12,64	27,30	52,17	85,14	88,78
	Metanol	14,66	28,82	54,40	89,59	93,43	93,45
<i>Salvia bracteata</i>	Uçucu Yağ	0,40	0,80	1,52	3,01	5,66	11,65
	Hekzan	0,38	0,71	1,01	2,22	4,75	9,22
	Etil Asetat	1,72	2,33	5,86	11,63	24,77	46,11
	Metanol	6,27	13,75	26,09	50,76	89,48	91,30
α -Tokoferol		28,21	60,47	95,55	95,55	95,55	95,55
BHA		56,22	81,09	95,45	95,45	95,45	95,45



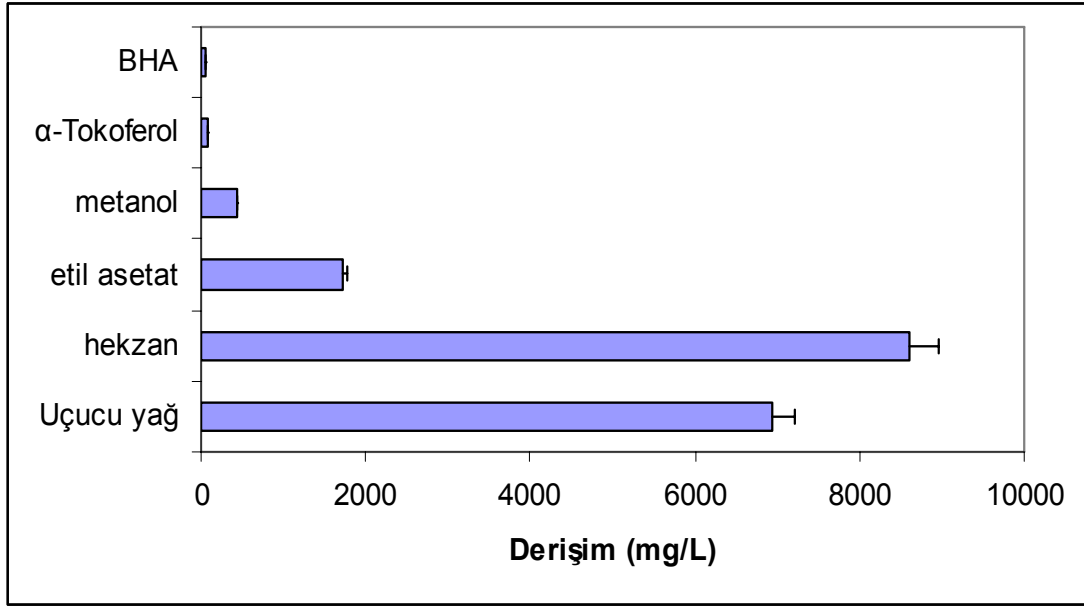
Şekil 4.126. *Salvia pinnata* bitkisinin uçucu yağı, hekzan, etil asetat, metanol özütleri ve standartların (α -tokoferol ve BHA) DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri



Şekil 4.127. *Salvia pinnata* bitkisinin uçucu yağı, özütleri ve standartların IC50 değerleri



Şekil 4.128. *Salvia bracteata* bitkisinin uçucu yağı, hekzan, etil asetat, metanol özütleri ve standartların (α-tokoferol ve BHA) DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri



Şekil 4.129. *Salvia bracteata* bitkisinin uçucu yağı, özütleri ve standartların IC50 değerleri

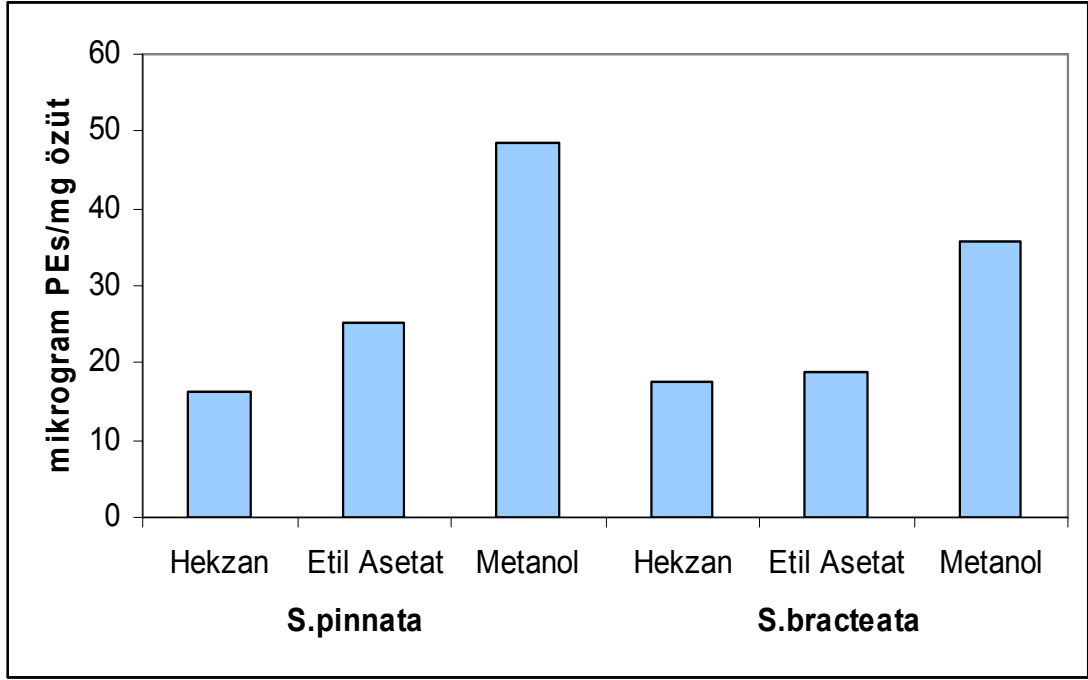
4.5. Toplam Fenolik Bileşik Miktarının Belirlenmesi

Salvia pinnata ve *Salvia bracteata* bitkilerinin takip eden ekstraksiyon ile elde edilen hekzan, etil asetat ve metanol özütlerinin içerdiği fenolik bileşik miktarı mikrogram pirokatekol ekivalent olarak FCR reaktifi kullanılarak belirlendi (Singleton vd, 1999). Her özütün bir miligramında bulunan fenolik bileşik miktarı mikrogram pirokatekol ekivalent (PEs) olarak Tablo 4.6.'da ve Şekil 4.130'da verilmiştir.

Tablo 4.6. *Salvia pinnata* ve *Salvia bracteata* bitki özütlerinin toplam fenolik madde miktarları

Bitki	Özüt Türü	µg PEs / mg özüt
<i>Salvia pinnata</i>	Hekzan	16,21
	Etil Asetat	25,27
	Metil Alkol	48,63

<i>Salvia bracteata</i>	Hekzan	17,64
	Etil Asetat	18,69
	Metil Alkol	35,76



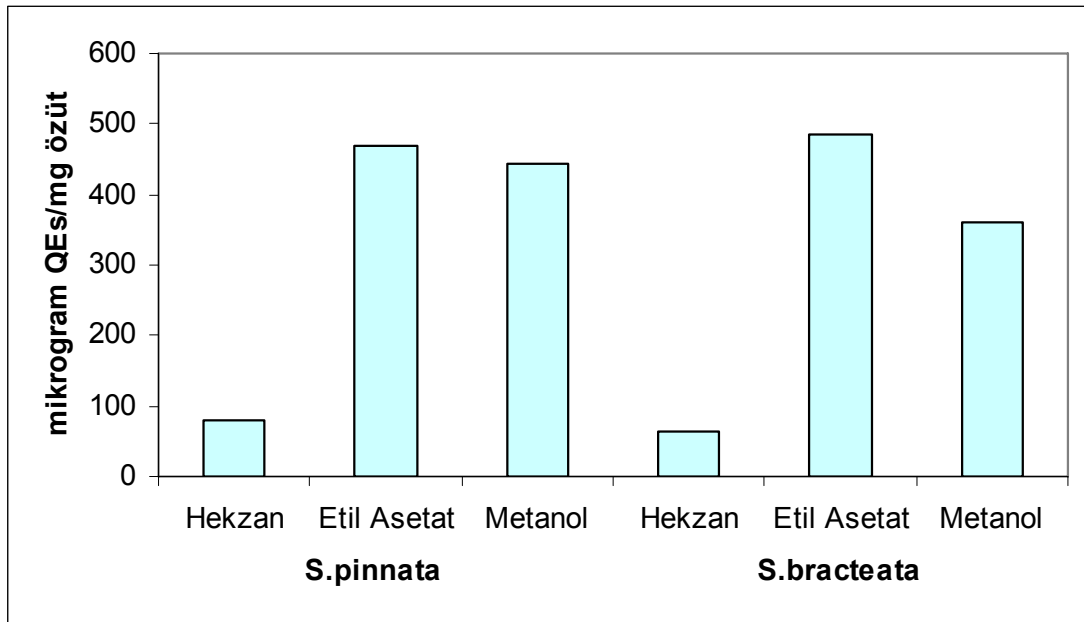
Şekil 4.130. *Salvia pinnata* ve *Salvia bracteata* bitki özütlerinin toplam fenolik madde miktarları

4.6. Toplam Flavanoid Miktarının Belirlenmesi

Salvia pinnata ve *Salvia bracteata* bitkilerinin takip eden ekstraksiyon ile elde edilen hekzan, etil asetat ve metanol özütlerinin içerdiği flavanoid miktarı mikrogram kuarsetin ekivalent olarak belirlendi (Park ve ark. 1997). Her bir özütün bir miligramında bulunan flavanoid miktarı mikrogram kuarsetin ekivalent (QEs) olarak Tablo 4.7’de ve şekil 4.131.’de verilmiştir.

Tablo 4.7. *Salvia pinnata* ve *Salvia bracteata* bitki özütlerinin toplam flavanoid madde miktarları

Bitki	Özüt Türü	$\mu\text{g QEs} / \text{mg özüt}$
<i>Salvia pinnata</i>	Hekzan	81.07
	Etil Asetat	469.59
	Metil Alkol	442.07
<i>Salvia bracteata</i>	Hekzan	63.04
	Etil Asetat	486.29
	Metil Alkol	359,06



Şekil 4.131. *Salvia pinnata* ve *Salvia bracteata* bitki özütlerinin toplam flavanoid madde miktarları

5. TARTIŞMA ve SONUÇLAR

5.1. Uçucu Yağ ve Özüt Verimleri

Salvia pinnata bitkisi uçucu yağ verimi % 0.16 ve *Salvia bracteata* bitkisi uçucu yağ verimi %0,06 olarak bulundu. Uçucu yağ içeriklerine göre Lamiaceae familyasında yapılan sınıflandırmalarda; *Lavandula*, *Origanum*, *Satureja* ve *Thymbra* türleri yüksek düzeyde (%2'den fazla), *Acinos*, *Calamintha*, *Cyclotrichium*, *Mentha*, *Nepeta*, *Rosmarinus*, *Salvia* ve *Thymus* türleri orta düzeyde (%0.5 - 2.0 arasında), *Ajuga*, *Ballota*, *Clinopodium*, *Lamium*, *Marrubium*, *Melissa*, *Micromeria*, *Phlomis*, *Scutellaria*, *Sideritis*, *Stachys* ve *Teucrium* türleri düşük düzeyde (%0.5'den az) uçucu yağ içerenler grubunda sınıflandırılmıştır (Karadoğan vd, 2003). *Salvia* bitkilerimizin uçucu yağ içeriklerine bakıldığında literatür taramalarındaki diğer *Salvia* türleri ile uyum gösterdiği görülmüştür.

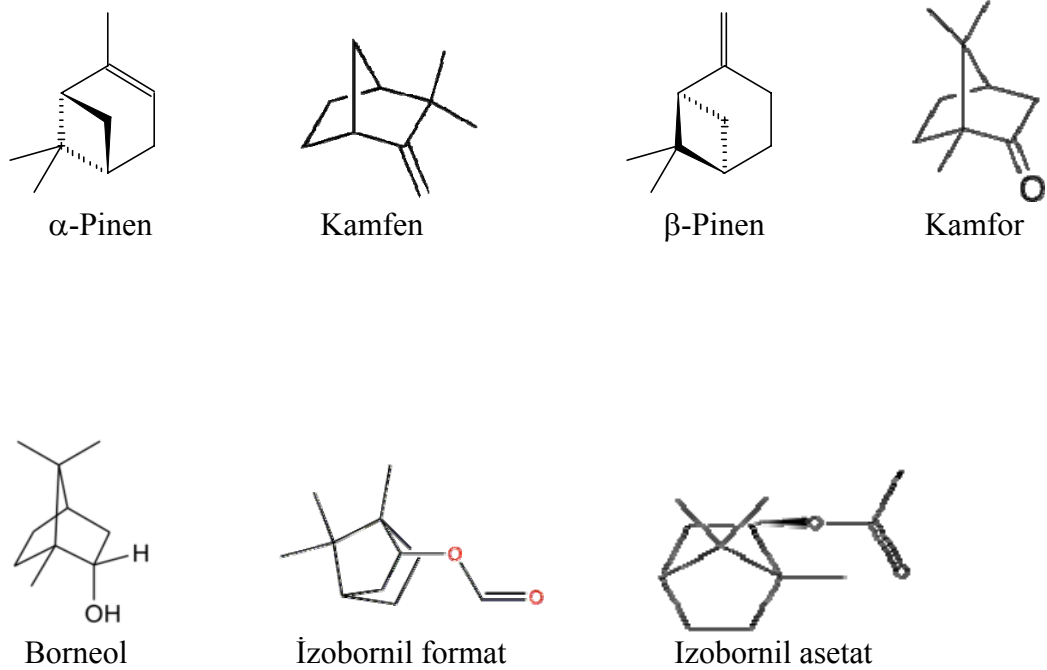
Her iki bitkinin sıralı ekstraksiyonla elde edilen özütlerinde en yüksek verim metanol özütlerindedir. Metanol özütlerinin verimi *Salvia pinnata* bitkisinde % 2.02, *Salvia bracteata* bitkisinde % 1,83 dür. Hekzan ve etil asetat özütlerinin verimleri ise daha düşüktür. Tepe ve arkadaşları da *Salvia tomentosa* bitkisi ile yaptıkları sıralı ekstraksiyon işlemi, en yüksek verimi metanol ekstraktında bulmuşlardır (Tepe vd, 2005).

5.2. Uçucu Yağın Kimyasal Bileşenleri

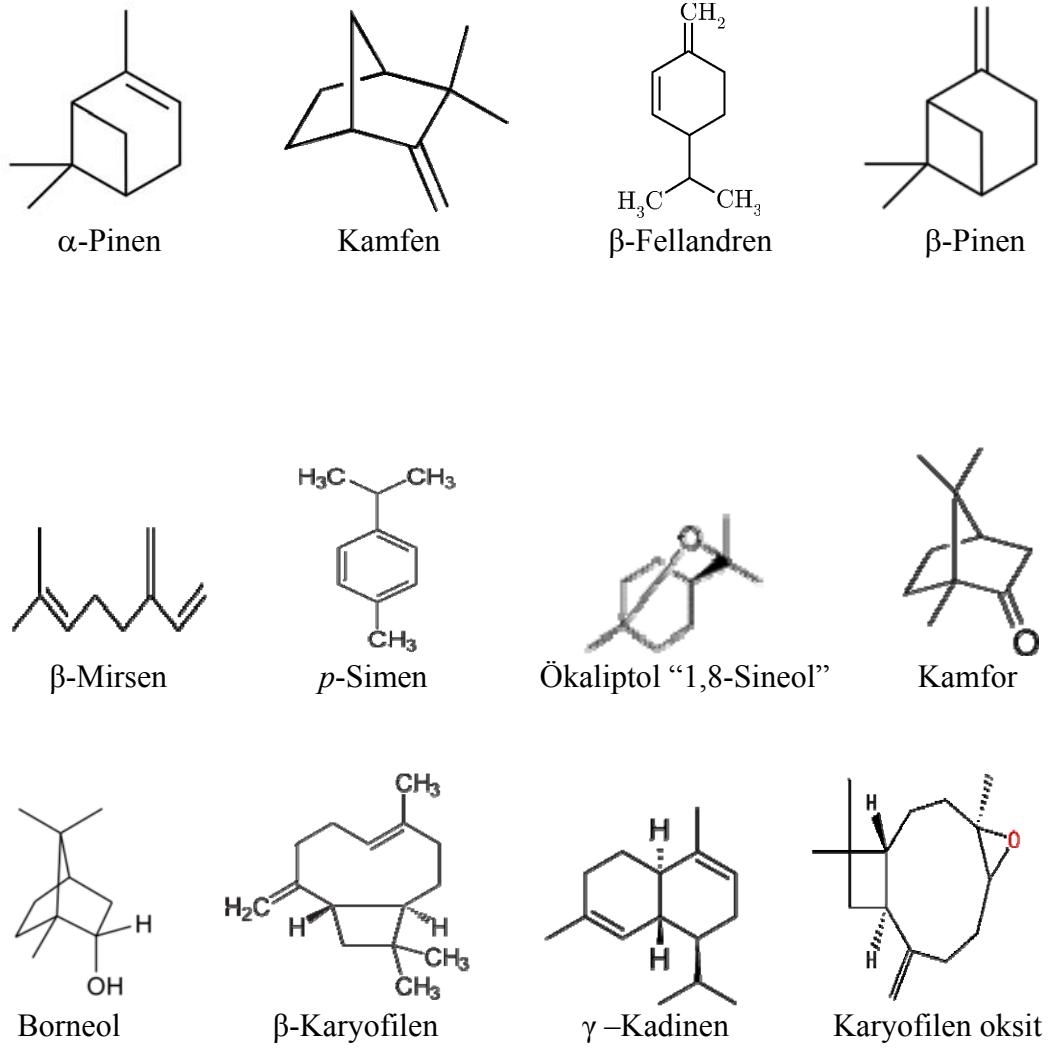
Salvia pinnata ve *Salvia bracteata* bitkilerinden hidrodestilasyon yöntemi ile elde edilen yağların uçucu bileşenlerinin yüzdeleri, Shimatzu-17A GC sisteminde FID dedektörü kullanılarak elde edilen kromatogramın integrasyonu alınarak hesaplandı. Bileşenlerin teşhisleri ise Varian GC-MS sisteminin NIST 2002 kütüphanesi, literatür verileri ve standartlar kullanılarak yapıldı (Adams, 2001).

Salvia pinnata bitkisinin uçucu yağında toplam 79 ve *Salvia bracteata* bitkisinin uçucu yağında ise toplam 76 kimyasal bileşen tespit edilerek karakterize edildi (Tablo 4.3). Bitki uçucu yağ verimlerinin oldukça düşük (*Salvia pinnata* %0.16; *Salvia bracteata* %0,06) olmasına rağmen, kimyasal bileşiminin zengin olduğu ve

bunun büyük bir kısmının *Salvia pinnata* da Oksijenli Monoterpen Hidrokarbonların (OTMT), *Salvia bracteata* da monoterpen hidrokarbonların (MTHK) oluşturduğu tespit edilmiştir. Tablo 4.3 de görüldüğü üzere *Salvia pinnata* uçucu yağının ana bileşenleri α -pinen (%6.45), kamfen (%13.86), β -pinen (%5.79), kamfor(%8.97), borneol (%20.24), izobornil format (%7.02), izobornil asetat (%26.24)dır. *Salvia bracteata* bitkisi uçucu yağının ana bileşenleri ise α -pinen (%10.82), kamfen (%2.17), β -fellandren (%2.93), β -pinen (%24,49), β -mirsen (%4.11), *p*-simen (%2.77), ökaliptol “1,8-Sineol” (%4.90), kamfor (%6,77), borneol (%2.94), β -karyofilen (%5.52), γ –kadinen (%3,17) ve karyofilen oksit(%4.93) olarak tespit edilmiştir. Literatürde mevcut olan diğer *Salvia* türlerinin uçucu yağ bileşenleri ile analizlerini yaptığımız *Salvia pinnata* ve *Salvia bracteata* bitkilerinin uçucu yağ bileşenleri benzerlik göstermektedir. *Salvia pinata* ve *Salvia bracteata* bitkilerinin uçucu yağlarında karakterize edilen major bileşiklerin kimyasal formülleri aşağıda Şekil 4.132 ve Şekil 4.133’de gösterilmiştir.



Şekil 4.132. *Salvia pinata* bitkisinin uçucu yağ ana bileşenlerinin formülleri



Şekil 4.133. *Salvia bracteata* bitkisinin uçucu yağ ana bileşenlerinin formülleri

5.3. Serbest Radikal Giderim Aktivite Sonuçları

Salvia pinnata ve *Salvia bracteata* bitkilerinin uçucu yağlarının ve diğer tüm özütlerinin DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) serbest radikal giderim aktiviteleri aynı derişimdeki standartların (BHA ve α -tokoferol) aktiviteleri ile karşılaştırılıp, sonuçlar Tablo 4.5’de verilmiştir. Uçucu yağ ve tüm özütlerin derişimin artmasıyla antioksidant aktivitelerinin de arttığı görülmektedir. Tablo 4.5’de de görüldüğü üzere bitkilerimizin ikisinde de en yüksek aktiviteye metanol özütleri sahiptir. *Salvia pinnata* ve *Salvia bracteata* metanol özütlerinin 200 μ g’nın inhibisyonu sırasıyla %54.40, % 26.09 olarak bulunmuştur. Sentetik antioksidantlar olarak kullanılan

BHA (%95.45) ve α -tokoferol (%95.55) ile karşılaştırıldığında *Salvia pinnata* metanol özütünün bu sentetik antioksidant maddelerin gösterdiği inhibisyon değerinden düşük inhibisyon değeri göstermekle birlikte yakın değerler verdiği görülmüştür.

Fenoller, hidroksil grupları içermeleri nedeniyle radikal yoketme yeteneğine sahip bileşiklerdir. Bu önemli bitki bileşenleri hidroksil gruplarından hidrojenlerini radikallere vererek kararlı fenoksil radikalleri oluştururlar ve antioksidant aktivitede önemli rol oynarlar. Bu yüzden bitki özütlerinin serbest radikal giderim aktivitelerinin belirlenmesinde toplam fenolik madde miktarının belirtilmeli ve bu iki parametre pozitif bir uyum göstermelidir (Gülçin vd, 2002). Tablo 4.5. ve tablo 4.6.'ya bakılacak olursa DPPH serbest radikal giderim aktivitesi yüksek olan metanol özütlerinin toplam fenolik madde miktarının da yüksek oldu görülecektir.

Tepe ve arkadaşları da *Salvia tomentosa* bitkisi ile yaptıkları sıralı ekstraksiyon işleminde, en yüksek DPPH serbest radikal giderim aktivite değerini metanol ekstraktında gözlemlemişlerdir (Tepe vd, 2005).

5.4. Toplam Antioksidant Aktivite Sonuçları

Salvia pinnta ve *Salvia bracteata* bitkilerinin uçucu yağı ve tüm özütlerinin toplam antioksidant aktiviteleri β -karoten-linoleik asit model sistemiyle belirlendi.

Salvia pinnta ve *Salvia bracteata* bitkilerinin uçucu yağlarının ve diğer tüm özütlerinin toplam antioksidant aktiviteleri aynı derişimdeki BHA ve α -Tokoferol standartlarının antioksidant aktiviteleri ile karşılaştırılmış ve sonuçlar Tablo 4.4.'de verilmiştir. Uçucu yağ ve tüm özütlerin derişimin artmasıyla antioksidant aktivitelerinin de arttığı görülmüştür.

Salvia pinnta bitkisinden elde edilen uçucu yağın ve sıralı ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen hekzan, etil asetat, metanol özütlerinin 200 μ g'nın inhibisyon değerleri incelendiğinde sırasıyla %27,40, %72,10, %78,08, %77,58 değerleri bulunmuş olup en yüksek inhibisyon değerine etil asetat özütü göstermektedir. Bu etil asetat özütü sentetik antioksidantlar olarak kullanılan BHA %96,76 ve α -tokoferol %95,64 ile karşılaştırıldığında yüksek bir aktivite değerine sahip olduğu görülmektedir.

Salvia bracteata bitkisinden elde edilen uçucu yağın ve hekzan, etil asetat, metanol özütlerinin 200 µg'nın inhibisyon değerleri incelendiğinde sırasıyla %14,07, %73,10, %73,47, %68,12 değerleri bulunmuş ve en yüksek inhibisyon değerine yine etil asetat özütü sahiptir. Etil asetat özütünün göstermiş olduğu inhibisyon değeri sentetik antioksidantlarımızdan düşük olmakla birlikte, sentetik antioksidantlarla yarışır durumdadır. Bu veriler ışığında bitki etil asetat özütlerinin sentetik antioksidantlar gibi yüksek aktivite değerine sahip olması sebebiyle gıda katkı (koruyucu) maddesi olarak kullanılabileceğini söyleyebiliriz.

5.5. Toplam Fenolik Madde Miktarı Bulguları

Salvia pinnata ve *Salvia bracteata* bitkileri özütlerinin toplam fenolik bileşik madde miktarı FCR reaktifi kullanılarak pirokatekol ekivalent olarak Tablo 4.6.'da verildi. Tabloda da görüldüğü üzere en yüksek değere iki bitkimizde de metanol özütü sahiptir (*Salvia pinnata* 48.63 µg PEs / mg ve *Salvia bracteata* 35.76 µg PEs / mg). Bununla beraber özütlerin DPPH serbest radikal giderim aktivitelerine bakılacak olursa en yüksek aktiviteye metanol özütlerinin gösterdiği görülmektedir. Bu sonuçlardan toplam fenolik madde miktarı fazla olan özütün DPPH serbest radikal giderim aktivitesinin de fazla olacağı sonucuna ulaşabiliriz. Daha önce yapılan bazı çalışmalarda araştırmacılar bitkilerdeki toplam fenolik madde miktarı ile DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri arasında böyle pozitif ilişki bulurken (Gülçin vd, 2002, Velioğlu vd, 1998, Vinson, 1998). bazıları ise bu iki değer arasında böyle bir ilişkinin olmadığını vurgulamaktadırlar (Maillard vd, 1995, Bocco vd 1998, Heinonen vd, 1998). Bizim bulgularımız ise serbest radikal giderim aktivitesi ile toplam fenolik madde miktarı arasında orantılı bir ilişki olduğu görüşünü doğrulamaktadır.

5.6. Toplam Flavanoid Madde Miktarı Bulguları

Bitki özütlerinin toplam flavanoid madde miktarları mikrogram quercetin ekivalent olarak aliminyum nitrat metodu ile belirlendi. (Park ve ark 1997). Tablo 4.7.'ye bakacak olursak iki bitkimizde de en yüksek değere etil asetat özütlerinin

sahip olduğu gör÷lmektedir (*Salvia pinnata* 469.59 µg QEs / mg ve *Salvia bracteata* 486.29 µg QEs / mg). Ayrıca tablo 4.4.'de tekrar bakacak olursak en yüksek toplam antioksidant aktivite değerine yine iki bitkimizde de etil asetat özütlerinin gösterdiği gör÷lecektir. Bu pozitif kralesyon bize bazı araştırmacıların belirttiği gibi (G÷lçin vd, 2002, Velioğlu vd, 1998, Vinson, 1998), toplam flavanoid madde miktarıyla, toplam antioksidant aktivite arasında pozitif bir uyum olduğu sonucuna ulaştırır.

Aynı zamanda, iki bitkininde tüm özüt verimleri ile aktivite değerleri ve de aktivite değerlerinin standart antioksidantların aktiviteleri ile karşılaştırıldığında; diğer araştırmacıların *Salvia* türleri üzerinde yaptıkları araştırmalarla uyum içindedir. Bitki özütlerinin ve uçucu yağlarının antioksidant değerleri etkili hidrojen verme yeteneklerine ve radikal giderimlerine bağlıdır. Buna bağlı olarak tablo 4.4-4.5. incelenecek olursa özütlerin aktivite testlerindeki etkinliği derişimlerine bağlıdır ve derişim arttıkça aktivite değerleri de artmaktadır.

Sonuç olarak bitkilerin uçucu yağ ve özütleri kolay elde edilebilir olması; doğal bir antioksidant kaynağı, muhtemel gıda katkı maddesi ile farmasotik ve eczacılık endüstrisinde kullanılabileceğini göstermektedir. Ancak bu çalışmada özütlerdeki antioksidant aktiviteden sorumlu bileşenler belli değildir. Bu sebeple daha sonraki çalışmalarda bu bileşenlerin belirlenmesi ve aktivite çalışmalarının in vivo şartlarda da yapılarak sonuçların in vitro sonuçlar ile bir kez daha paralel değerlendirilmesi önerilebilir.

KAYNAKLAR

Abuja, P. M., Murkovic, M., Pfannhauser, W., 1998. Antioxidant and prooxidant activities of Elderberry (*Sambucus nigra*) extract in Low-Density-Lipoprotein oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 4091-4096.

Abushita, A. A., Hebshi, E. A., Daood, H. G., Biacs, P. A., 1997. Determination of antioxidant vitamins in tomatoes. *Food Chemistry*, 60: 207-212.

Acar, M. İ., Gül, G. S., Örtel, E. 1996. Türkiye’de kızılçam ormanlarından akma reçine üretiminde asit-pasta tahrik tekniğinin uygulanması esasları üzerine araştırmalar. T. C. Orman Bakanlığı Ege Ormancılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Orman Bakanlığı yayın no: 25, teknik bülten no:5, İzmir.

Adams, R. P. 2001. Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. Illinois, USA: Allured Publishing Corporation.

Amarowicz, R., Shahidi, F., 1996. A rapid chromatographic method for separation of individual, catechins for green tea. *Food Res. Int.*, 29: 71-76.

Aruoma, O. I., 1997. Extracts as antioxidant prophylactic agents. *Inform*, 8: 1236-1242.

Aruoma, O. I., 1998. Free radicals, oxidative stress and antioxidants in human health and disease. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75: 199-212.

Aruoma, O. I., 1999. Antioxidant actions of plant foods, use of oxidative DNA damage as a tool for studying antioxidant efficacy. *Free Radical Res.*, 30: 419-427.

Aruoma, O. I., Spencer, J. P. E., Warren, D., Jenner, P., Butler, J., Halliwell, B., 1997. Characterization of food antioxidants, illustrated using commercial garlic and ginger preparations. *Food Chemistry*, 60: 149-156.

Aruoma, O. I., Cuppett, S. L., 1997. Antioxidant Methodology in vivo and in vitro Concept. AOCS Press, Champaign, Illinois, 241p.

Augusto, F., Leite e Lopes, A., Aşcarazzini, C. 2003. Sampling and sample preparation for analysis of aromas and fragranc. *Trends Anal. Chem.*, 22: 160-169.

Au-Yeung, C.Y., Macleod, A.J. 1981. A comparison of the efficiency of the Likens and Nickerson extractor for aqueous, lipid/aqueous, and lipid samples. *J.Agric. Food Chem.*, 29: 502-505.

Ayala, R.S., Luque de Castro, M.D. 2001. Continous subcritical water extraction as a useful tool for isolation of edible essential oils. *Food Chem.* 75: 109-113

- Balasinska, B., Troszynska, A., 1998. Total antioxidant activity of evening primrose (*Oenothera paradoxa*) cake extract measured in vitro by liposome model and murine L1210 cells. *J. of Agr. and Food Chem.*, 46: 3558-3563.
- Bartak, P., Frenkova, P., Cap, L. 2000. Determination of phenols using steam distillation-extraction. *J.Chromatogr. A*, 867:281-287.
- Başaran,A., (1984).*Stachys Iavandulifolia* Vahlvar, *Iavandulifolia* üzerinde Farmakognozik Araştırmalar, Hacattepe Üniv. Sağlık bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
- Başer, K. H. C., Demirçakmak, B., Duman, H., 1997. Composition of the essential oils of three *Teucrium* species from Turkey. *J. Essent. Oil Res.*, 9: 545-549.
- Başer, K. H. C., (1997), Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Endüstriyel Kullanımı, TAB Bülteni, TBAM, Eskişehir.
- Bauer, K., Garbe, D. 1985. Common Fragrance and Flavor Materials. Preparation, Properties and Uses. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, s. 213.
- Bauer, K., Garbe, D., Surburg, H. 2001. Common Fragrance and Flavor Materials: Preparation, Properties and Uses. Wiley-VCH, Weinheim, s.293.
- Baytop, T., 1984. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi, İstanbul Üniv. Yay. No. 3637, Eczacılık Fakültesi, No.40, İstanbul, 240-376p.
- Baytop, T., Öztekin, A. 1984. Türkiye bitkisel katran çeşitleri üzerinde araştırmalar. V. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Ankara, 15-17 Kasım.
- Baytop, T., 1986. Farmakognozi Ders Kitabı, Cilt I, 168-170, İstanbul Üniv. Yay. No. 3399. Ecz. Fak., 51p.
- Baytop, T. 1997. *Türkçe Bitki Adları Sözlüğü*. Atatürk Kültür, Dil ve Tarih Yüksek Kurumu. Türk Dil Kurumu Yayınları: 578, Ankara, 512 p.
- Baytop, T. 1999. *Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi Geçmişte ve Bugün*, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., İstanbul, 480 p.
- Beal, M. H., 1991. Biosynthesis of C₅-C₂₀ Terpenoid Compounds, *Nat. Prod. Rep.*, 441-454.
- Bellomaria, B., Arnold, N. 1992. Contribution to the Study of The Essential Oils from Three species of *Salvia* Growing Wild in the Eastern Mediterranean Region. *J. Essent. Oil Res.*, 4(6): 607-614.
- Blekas, G., Boskou, D., 1998. Antioxidative activity of 3,4-dihydroxyphenil acetic acid and a-tocopherol on the triglyceride matrix of olive oil. Effect of acidity. *Grasasy Aceites*, 49: 34-37.

Bocco, A., Cuvelier, M. E., Richard, H., Berset, C., 1998. Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 2123-2129.

Boiteau, P., Pasich, B., Ratsimamanga, R. Les., 1969. Triterpenoides. Gauthier-Villars Paris, 3-5p.

Bors, W., Saran, M., 1987, Radical scavenging by flavonoid antioxidants. *Free Radical Res. Commun.*, 2: 289-294.

Boyle, W. 1955. Spices and essential oils as preservatives. *The American Perfumer and Essential Oil Review*, 66: 25-28.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaftund Technologie*, 28: 25-30.

Burits, M., Asres, K., Bucar, F. 2001. The antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia afra*, *Artemisia abyssinica* and *Juniperus procera*. *Phytotherapy Research.*, 15: 103-108.

Bruno, T.J., Ely, J.P. 1991. Supercritical fluid technology: Reviews in modern theory and applications. Boca Raton, CRC Pres, FL, USA.

Camel, V. 2001. Recent extraction techniques for solid matrices-supercritical fluid extraction, pressurized fluid extraction an microwave-assisted extraction: Their potential and pitfals. *Analyst*, 126: 1182-1193.

Candan, F. 2001. Serbest Radikaller ve Etki Mekanizmaları. Yüksek Lisans Ders Notu. Sivas.

Carbonneau, M. A., Leger, C. I., Descomps, B., Michel, F., Monnier, L., 1998. Improvement in the antioxidant status of plasma and low-density lipoprotein in subjects receiving a red wine phenolics mixture. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75: 235-240.

Carson, C.F., Riley, T.V. 1993. Antimicrobial activity of the essential oil of *Melalucea alternifolia*. *Letters in Applied Microbiology*, 16: 49-55.

Ceylan, A., 1997. Tıbbi Bitkiler (Uçu Yağ Bitkileri) Cilt II, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayını No: 481, İzmir 114p.

Chambers, S. J., Lambert, N., Plumb, G. W., Williamson, G., 1996. Evaluation of the antioxidant properties of a methanolic extract from "Juice Plus fruit" and "Juice Plus vegetable" (dietary supplements). *Food Chemistry*, 57: 271-274.

Chen, Y., Zheng, R., Zhongjian, J., Yong, J., 1990. Flavonoids as superoxide scavengers and antioxidants. *Free Radicals Biol. Med.*, 9: 19-21.

Chen, X., Ahn, D. U., 1998. Antioxidant activities of six natural phenolics against lipid oxidation induced by Fe²⁺ or ultraviolet light. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75: 1717-1721.

Cheung, L. M., Cheung, P. C. K., Ooi, V. E. C. 2003. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chemistry*, 81: 249–255.

Cox, S.D., Mann, C.M., Markham, J.L., Bell, H.C., Gustafson, J.E., Warmingron, J.R., Wyllie, S.G. 2000. The mode of antimicrobial action of essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*, 88: 170-175.

Cook, N. C., Samman, S., 1996, Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *Nutr. Biochem.*, 7: 66-76.

Crosthwaite, D. 1998. UK trade within the flavour and fragrance industry. International Federation of Essential Oils and Aroma Trades-21st International Conference on Essential Oils and Aroma's. IFEAT, London, s.6-12.

Cuendet, M., Hostettmann, K., Potterat, O., 1997. Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. *Helv Chim Acta*, 80: 1144-1152.

Curtis, T., Williams, D. G., 1994. Introduction to perfumery. Ellis Horwood, New York., 220-221p.

Cutter, C.N. 2000. Antimicrobial effect of herb extracts against *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* associated with beef. *Journal of Food Protection*, 63(5): 601-607.

Dapkevicius, A., Venskutonis, R., Van Beek, T.A., Linssen, P.H., 1998. Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *J. of the Sci. of Food and Agr.*, 77: 140-146.

Das, N. P., Pereira, T. A., 1990. Effects of flavonoids on thermal autoxidation of palm oil structure-activity relationships. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 67: 255-258.

Davis, P. H., 1982. Flora of Turkey and the East Eagen Islands, Edinburgh, University Press, Edinburgh.

Dawes, H. W., Keene, J. B., 1999. Phenolic composition of kiwi fruit juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 2398-2403.

Delamare, A. P.L., Ivete T. M.P., Artico L., Serafini L.A., Echeverrigaray S. 2007. Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil. *Food Chemistry*, 100: 603–608.

De la Torre Boronat, M. C., Lopez Tamames, E., 1997. El papel de los antioxidantes. *Alimentaria*, 6: 19-27.

Demole, E., Enggist, P., Ohloff, G. 1982. 1-p-menthene-8-thiol: A powerful flavor impact constituent of grape fruit juice (*Critus paradise* Macfayden). *Helv. Chim. Acta*, 65: 1785-1794.

Diaz-Moreto, M.C., Perez-Coello, M.S., Cabezudo, M.D. 2002. Supercritical carbon dioxide extraction of volatiles from spices, comparison with simultaneous distillation-extraction. *J.Chromatogr.A*, 947:23-29

Devon, T. K., Scott, A. I., 1972. Handbook of Naturally Occuring Compounds, vol. 2, Terpenes, Academic pres, New York.

Di Giacomo, G., Brandani, V., Del Re, G., Mucciante, V. 1989. Solubility of essential oil compenents in compressed supercritical carbon dioxide. *Fluid Phase Equilib.*, 52:405-411.

Donovan, J. L., Meyer, A. S., Waterhouse, A. L., 1998. Phenolic composition and antioxidant activity of prunes and prune juice (*Prunus domestica*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 1247-1252.

Duh Pin-Der, Yen Gow-Chin., 1997. Antioxidative activity of three herbal water extracts. *Food Chemistry*, 60: 639-645.

Duh, P. D., Yen, W. J., Du, P. C., Yen, G. C., 1997. Antioxidant activity of mung bean hulls. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 74: 1059-1063.

Duru, M.E., Çakır, A. And Harmandar, M., (2002). Composition of the volatile Oils Isolated from the Leaves of *liquidambar orientalis* Mill. var. *orientalis* and *L. orientalis* var. *integriloba* from Turkey, *Flavour and fragrance Journal*, 17, pp.95-98

El-Gammal, S. Y., 1991. Extraction of volatile oils throughout history, *Hamdard*. Cilt 34, 57-80p.

Eriş, C., *Teucrium alyssifolium* Stapf. ve *Teucrium sandrasicum* O. Schwarz terpenik bileşikleri üzerinde çalışmalar, Doktora tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara, 1995.

Erol, M.K., Tuzlacı, E. Eğirdir (Isparta) Yöresinin Geleneksel Halk İlacı Olarak Kullanılan Bitkileri. 11. *Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*, 22-24 Mayıs 1996, Ankara, Bildiri Kitabı, 466-475.

Eskilsson, C.S., Björklund, E. 2000. Analytical scala microwave-assisted extraction. *J.Choramotogr A*. 902: 227-250.

Ewans, W.C., 1989. Trease and Evan's Pharmacognasy, 13. Baskı, Bailliere Tindall,London.

Farhat, G.N., Affara, N.I., Gali-Muhtasib, H.U. 2001. Seasonal changes in the composition of the essential oil extract of East Mediterranean sage (*Salvia libanotica*) and its toxicity in mice. *Toxicon*, 39:1601-1605.

Fogliano, V., Verde, V., Randazzo, G., Ritiene, A., 1999. Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 1035-1040.

Frankel, E. N., Huang, S. W., Kanner, J., German, J. B., 1994. Interfacial phenomena in the evaluation of antioxidants: bulk oils versus emulsions. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 42: 1054-1059.

Friedman, M., 1997. Chemistry, biochemistry, and dietary role of potato polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 1523-1540.

Furuta, S., Nishiba, Y., Suda, I., 1997. Fluorometric assay for screening antioxidative activity of vegetables. *Journal of Food Science*, 62: 526-528.

Gamiz-Gracia, L., Luque de Castro, M.D. 2000. Continous subcritical water extraction of medicinal plant essential oil. Comparison with convertional tecniques. *Talanta*. 51: 1179-1185.

Ganzler, K., Salgo, A., Valko, K. 1986. Microwave extraction: Anovel sample preparation method for chromatography. *J.Chtomatogr A*. 371: 299-306.

Ganthavorn, C., Hughes, J. S., 1997. Inhibition of soybean oil oxidation by extracts of dry beans (*Phaseolus vulgaris*). *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 74: 1025-1030.

Gil, M. I., Ferreres, F., Tomas-Barberan, F. A., 1999. Effect of postharvest storage and processing on the antioxidant constituents (Flavonoids and vitamin C) of fresh-cut spinach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 2213-2217.

Godefroot, M ., Sandra, P., Verzele, M. 1981. New method for quantitative essential oil analysis. *J.Choramatoqr.A*. 203: 325-335.

Goofarznia, I., Eikani, M. H. 1998. Supercritical carbon dioxide extraction of essential oils: Modelling and simulation. *Cehm. Eng. Sci.*, 53: 1387-1395.

Gökdil, G., Topcu, G.,Sönmez, U. and Ulubelen, A., Terpenoids and flavonids from *Salvia cyanescens*, *Phytochemistry*,1997, Vol. 46, No. 4, pp. 799-800.

Guenther, E., 1948. The essential oils. D. Van Nostrand, New York.

- Gülçin, İ., Oktay, M., Küfrevioğlu, Ö.İ., Aslan, A., 2002. Determination of antioxidant activity of lichen *Cetraria islandica* (L.) Ach. *Journal of Ethnopharmacology*, 79: 325-329.
- Hagerman, A. E., Riedl, K. M., Jones, G. A., Sovik, K. N., Ritchard, N. T., Hartzfeld, P. W., Riechel, T. L., 1998. High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 1887-1892.
- Haigh, R., 1986, Safety and necessity of antioxidants: EEC approach. *Food Chem. Toxicol.*, 24: 1031-1036
- Hanasaki, Y., Ogawa, S., Fukui, S., 1994. The correlation between active oxygen scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radicals Biol. Med.*, 16: 845-850.
- Hanson, J.R., 1982. Diterpenoids. *J. Nat. Prod. Rep.*, 12: 186.
- Hanson, J.R., 1984. Diterpenoids. *J. Nat. Prod. Rep.*, 1: 533.
- Hanson, J.R., 1984a. Diterpenoids. *J. Nat. Prod. Rep.*, 1: 171.
- Hanson, J.R., 1986. Diterpenoids. *J. Nat. Prod. Rep.*, 3: 307.
- Hanson, J.R., 1987. Diterpenoids. *J. Nat. Prod. Rep.*, 4: 399.
- Hanson, J.R., 1988. Diterpenoids. *J. Nat. Prod. Rep.*, 6: 347.
- Hanson, J.R., 1990. Diterpenoids. *J. Nat. Prod. Rep.*, 7: 149.
- Hartmans, K.J., Diepenhorst, P., Bakker, W., Gorris, L.G.M. 1995. The use of carvone in agriculture: sprout suppression of potatoes and antifungal activity against potato tuber and other plant diseases. *Industrial Crops and Products*, 4: 3-13.
- Hatano, T., Edamatsu, R., Mori, A., Fujita, Y., Yasuhara, E., 1989. Effect of interaction of tannins with co-existing substances. VI. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical and on DPPH radical. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 37: 2016-2021.
- Hawthorne, S.B., Rickkola, M.J., Screnius, K., Holm, Y., Hiltunen, R., Hartonen, K. 1993. Comparison of hydrodistillation and supercritical fluid extraction for the determination of essential oils in aromatic plants. *J.Chromatogr. A*. 634:297-308.
- Heinonen, M., Lehtonen, P. J., Hopia, A. L., 1998. Antioxidant activity of berry and fruit wines and liquors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 25-31.
- Henry, J. P., Stephens-Larson, P., 1984. Reduction of chronic psychosocial hypertension in mice by decaffeinated tea. *Hypertension*, 6: 437-444.

Hertog, M. G. L., Feskens, E. J. M., Hollman, P. C. H., Katan, M. B., Kromhout, D., 1993. Dietary antioxidant flavonoids and the risk of coronary heart disease: the Zutphen elderly study. *Lancet*, 342: 1007-1011.

Hertog, M. G. L., Feskens, E. J. M., Hollman, P. C. H., Katan, M. B., Kromhout, D., 1994. Dietary antioxidant flavonoids and the cancer risk in the Zutphen elderly study. *Nutr. Cancer*, 22: 175-184.

Hertog, M. G. L., Kromhout, D., Aravanis, C., Blackburn, H., Buzina, R., Fidanza, F., Giampaoli, S., Jansen, A., Menotti, A., Nedeljkovic, S., Pekkarinen, M., Simic, B. S., Toshima, H., Feskens, E. J. M., Hollman, P. C. H., Katan, M. B., 1995. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. *Arch. Intern. Med.*, 155: 381-386.

Heywood, V.D., 1979. Flowering Plant of the World, Oxford Univ. Pres., Oxford, 239-240p

Ho, C. T., Chen, Q., Shi-Zhang, K. Q., Rosen, R. T., 1992. Antioxidative effect of polyphenol extract prepared from various Chinese teas. *Prev. Med.*, 21: 520-525.

Ho, C. T., Ferraro, T. Chen, Q., Rosen, R. T., 1994. Phytochemical in teas and rosemary and their cancer-preventive properties. *Food Phytochemicals for Cancer Prevention II. Tea, Spices and Herbs*, Ho, C.-T., Osawa, T., Huang, M.-T., Rosen, R.T. (Ed.), ACS Symposium Series 547, American Chemical Society: Washington, DC, 2-9p.

Ho, C. T., Chen, C. W., Wanasundara, U. N., Shahidi, F., 1997. Natural antioxidants from tea. *Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects and Applications*, Shahidi, F. (Ed.), AOCS Press: Champaign, IL, 213-223p.

Hudson, B. J. F., Lewis, J. I., 1983. Polyhydroxy flavonoid antioxidants for edible oils Structural criteria for activity. *Food Chemistry*, 47: 47-55.

Husain, S. R., Cillard, J., Cillard, P., 1987. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. *Phytochemistry*, 26: 2489-2491.

İçlim, A., Nacar, Ş., Uğuz, M.T. 2001. *Salvia tomentosa*, *Micromeria fruticosa* subsp. *brachycalyx* ve *Rhus coriaria* Türlerinin Antimikrobiyal Aktiviteleri. *Ot Sistematik Botanik Dergisi*, 8,2: 121-125.

İlisulu, K., 1992. İlaç ve Baharat Bitkileri, Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yay. No.1256, Ankara, 1-6p.

Jimenez-Carmano, M. M., Ubera, J.I., Luque de Castro, M.D. 1999. Comparison of continous subcritical water extraction and hydrodistillation of marjoram essential oil. *J.Chromatogr. A*, 855: 625-632.

Kalt, W., Forney, C. F., Martin, A., Prior, R. L., 1999. Antioxidant capacity, vitamin C, Phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 4638-4644.

Kamatou, G.P.P., Viljoen, A.M., Figueiredo, A.C., Tilney, P.M., Van Zyl, R.L., Barroso, J.G., Pedro, L.G., Van Vuuren, S.F. 2007 Trichomes, essential oil composition and biological activities of *Salvia albicaulis* Benth. and *S. dolomitica* Codd, two species from the Cape region of South Africa. *South African Journal of Botany*, 73: 102–108.

Karadoğan, T., Baydar, H., Özçelik, H. 2003. *Göller Yöresinde Lamiaceae Familyasına Dahil Bitki Türlerinin Tesbiti ve Tıbbi ve Aromatik Değerlerinin Belirlenmesi*, Proje No: TOGTAG-2599, Isparta.

Katiyar, S. K., Agarwal, R., Wood, G. S., Mukhtar, H., 1992. Inhibition of 12-*O*-tetradecanoylphorbol-acetate-caused tumor promotion in 7, 12- dimethyl benz(a)anthracene-initiated SENCAR mouse skin by a polyphenolic fraction isolated from green tea. *Cancer Res.*, 52: 6890-6897.

Kaur, H., Perkins, J., 1991. The free radical chemistry of food additives. *In Free Radicals and Food Additives*; Aruoma, O.I., Halliwell, B., Eds.; Taylor and Francis: London, U.K., 17-35p.

Kirby, A. J., Schmidt, R. J., 1997. The antioxidant activity of Chinese herbs for eczema and of placebo herbs. *J. of Ethnopharmacology* 56: 103-108.

Kitagaki, H., Tsugawa, M., 1999. 1,1-Diphenil-2-picrylhydrazyl radical (DPPH) scavenging ability of sake during storage. *Journal of Bioscience & Bioengineering*, 87: 328-332.

Kırimer, N., Cingi, M.I., Öztürk, N., Aydın, S., Özkul, H., Başer, K.H.C. *Salvia sclarea*, *Salvia fruticosa* ve *Dorystoechas hastata* Uçucu Yağlarının Farmakolojik etkileri. 9. *Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*, 16-19 Mayıs 1991. Eskişehir. 382-388.

Knekt, P., Järvinen, R., Reunanen, A., Maatela, J., 1996. Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. *Br. Med. J.*, 312: 478-481.

Koga, T., Moro, K., Nakamori, K., Yamakoshi, J., Hosoyama, H., Kataoka, S., Ariga, T., 1999. Increase of antioxidative potential of rat plasma by oral administration of proanthocyanidin-rich extract from grape seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 1892-1897.

Koleva, I. I., van Beek, T. A., Linssen, J. P. H., de Groot, A., Evstatieva, L. N., 2002. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis*, 13: 8-17.

Kuo, J. M., Yeh, D. B., Pan, B. S., 1999. Rapid photometric assay evaluating antioxidant activity in edible plant material. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 3206-3209.

Lapidot, T., Harel, S., Akiri, B., Granit, R., Kranner, J., 1999. pH-Dependent forms of red-wine anthocyanins as antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 67-70.

Lawrence, B. M., 1995. The isolation of aromatic materials from natural plant products. K. Tuley de Silva (ed.). A manual on the essential oil industry, Eskişehir.
Luque de Castro, M.D., Jimenez-Carmona, M.M., Fernandez-Perez, V., 1999. Towards more rational techniques for the isolation of valuable essential oils from plants. *Trends Anal. Chem.* 18: 708-716.

Luo, M., Kannar, K., Wahlqvist, M. L., O'Brien, R. C., 1997. Inhibition of LDL oxidation by green tea extract. (comment, letter) *Lancet*, 349: 360-361.

Maillard, M. N., Berset, C., 1995. Evolution of antioxidant activity during kilning, role of insoluble bound phenolic acids of barley and malt. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43: 1789-1793.

Manitto, P., 1981. Biosynthesis of natural products, Ellis Harwood Ltd., Connecticut, 255-262p.

McPhail, D. B., Gardner, P. T., Duthie, G. G., Steele, G. M., & Reid, K., 1999. Assessment of the antioxidant potential of scotch whiskeys by electron spin resonance spectroscopy, relationship to hydroxyl-containing aromatic components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 1937-1941.

Meyer, A. S., Heinonen, M., Frankel, E. N., 1998a. Antioxidant interactions of catechin, cyanidin, caffeic acid, quercetin, and ellagic acid on human LDL oxidation. *Food Chemistry*, 61: 71-75.

Meyer, A. S., Jepsen, S. M., Sørensen, N. S., 1998b. Enzymatic release of antioxidants for human low-density lipoprotein from grape pomace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 2439-2446.

Milic, B. L. J., Djilas, S. M., & Canadanovic-Brunet, J. M., 1998. Antioxidative activity of phenolic compounds on the metal-ion breakdown of lipid peroxidation system. *Food Chemistry*, 62: 443-447.

Müller, J. K. S., Madsen, H. L., Aaltonen, T., Skibsted, L. H., 1999. Dittany (*Origanum dictamnus*) as a source of water-extractable antioxidants. *Food Chemistry*, 64: 215-219.

Nieto, S., Garrido, A., Sanhueza, J., Loyola, L. A., Morales, G., Leighton, F., Valenzuela, A., 1993. Flavonoids as stabilizers of fish oil, an alternative to synthetic antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 70: 773-778.

Nunez, A.J., Bemelmans, J.M.H. 1984. Recoveries from an aqueous model system using a semi-micro steam distillation-solvent extraction procedure. *J.Chromatogr.*, 294: 361-365.

Ogata, M., Hoshi, M., Shimotohno, K., Urano, S., Endo, T., 1997. Antioxidant activity of magnolol, honokiol and related phenolic compounds. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 74: 557-568.

Okada, Y., Okada, M., 1998. Scavenging effect of water soluble proteins in broad beans on free radicals and active oxygen species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 401-406.

Oosterhaven, K., Poolman, B., Smid, E.J. 1995. S-carvone as a natural potato sprout inhibiting, fungistatic and bacteristatic compound. *Industrial Crops and Products*, 4: 23-31.

Ozel, M.Z., Gogus, F., Lewis, A.C. 2003. Subcritical water extraction of essential oils from *Thymbra spicata*. *Food Chem.* 82: 381-386.

Papas, A. M., 1996. Determinants of antioxidant status in humans. *Lipids*, 31, 77-82.

Park, Y.K., M.H. Koo, M. Ikegaki, J.L. Contado, 1997. Comparison of the flavonoid aglycone contents of *Apis mellifera* propolis from various regions of Brazil. *Arquivos de Biologia e Tecnologia*, 40(1), 97-106.

Pekkarinen, S. S., Stockmann, H., Schwarz, K., Heinonen, M., Hopia, A. I., 1999. Antioxidant activity and partitioning of phenolic acids in bulk and emulsified methyl linoleate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 3036-3043.

Plumb, G. W., Garcia, C. M. T., Kroon, P. A., Rhodes, M., Ridley, S., Williamson, G., 1999. Metabolism of chlorogenic acid by human plasma, liver, intestine and gut flora. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79: 390-392.

Pollien, P., Ott, A., Fat, L.B., Maignial, L., Chaintreau, A. 1998. Simultaneous distillation-extraction: Preparative recovery of volatiles under mild conditions in batch or continuous operations. *Flavour and Fragr. J.*, 13:413-423.

Ponginebbi, L., Nawar, W. W., Chinachoti, P., 1999. Oxidation of Linoleic acid in emulsions, effect of substrate, emulsifier,, and sugar concentration. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76: 131-138.

Poole, C.F., Schuette, S.A. 1984. Contemporary practice of chromatography, Elsevier Science Publisher B.V., Amsterdam.

Porter, W. L., Black, E. D., Drolet, A. M., 1989. Use of polyamide oxidative fluorescence test on lipid emulsions: contrast in relative effectiveness of antioxidants in bulk versus dispersed systems. *J. Agric. Food Chem.*, 37: 615-624.

Reverchon, E. 1997. Supercritical fluid extraction and fractionation of essential oils and related products. *J.Supercrit. Fluid*, 10:1-37.

Roedig-Penman, A., Gordon, M. H., 1998. Antioxidant properties of myricetin and quercetin in oil and emulsions. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 75, 169-179.

Roberts, J. S., 1971. Terpenoids and Steroids. Burlington House, London, vol: 1, 51p.

Romani, A., Mulinacci, N., Pinelli, P., Vincieri, F. F., Cimato, A., 1999. Polyphenolic content in five Tuscany cultivars of *Olea europaea* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 964-967.

Rovio, S., Hartonen, K., Holm, Y., Hiltunen, R., Riekkola, M.L. 1999. Extraction of clove using pressurized hot water. *Flavour Fragr. J.*, 14: 399-404.

Saint-Cricq de Gaulejac, N., Provost, C., Vivas, N., 1999. Comparative study of polyphenol scavenging activities assessed by different methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 425-431.

Saleh, M. M., Hashem, F. A. E.-M., Glombitza, K. W., 1998. Study of *Citrus aitensis* and radical scavenger activity of the flavonoids isolated. *Food Chem.*, 3: 397-400.

Samaranayake, G., Neidigh, K. A., Kingston, D. G., 1993. Modified taxols 8-deacetylation and reacylation of Baccatin III. *J. Nat. Prod.*, 56, (6): 884-898.

Sanbongi, C., Osakabe, N., Natsume, M., Takizawa, T., Gomi, S., Osawa, T., 1998. Antioxidative polyphenols isolated from *Theobroma cacao*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 454-457.

Savaş Tetik, Ş., *Cistus Laurifolius* L. ve *Cistus Parviflorus* Lam. Uçucu yağlarının bileşimi, Yüksek lisans tezi, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir, 1996.

Senatore, F., Arnold, N.A., Piozzi, F., Formisano, C. 2006. Chemical composition of the essential oil of *Salvia microstegia* Boiss. et Balansa growing wild in Lebanon. *Journal of Chromatography A*, 1108:276-278.

Sezik, E., Yeşilada, E. Uçucu Yağ Taşıyan Türk Halk İlaçları. 14. *Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*, 29-31 Mayıs 2002, Eskişehir, Bildiri Özetleri: 98-123.

Sherwin, E. R., 1978. Oxidation and antioxidants in fat and oil processing. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 55: 809-814.

Sherwin, E. R., 1990. Antioxidants. In A. L. Branen, P. M. Davidson, S. Salminen, Food antioxidants. New York: Marcel Dekker Inc.

Shi, S. T., Wang, Z. Y., Smith, T. J., Hong, J. Y., Chen, W. F., Ho, C. T., Yang, C. S., 1994. Effects of green tea and black tea on 4-(methylnitrosamine)-1-(3-pyridyl)-

1-butanone bioactivation, DNA methylation and lung tumorigenesis in A/J mice. *Cancer Res.*, 54: 4641-4647.

Simandi, B., Oszagyan, M., Lemberkovicz, E., Kery, A., Kaszacs, J., Thyron, F., Matyas, T. 1998. Supercritical carbon dioxide extraction and fractionation of oregano oleresin. *Food Re. Int.*, 31: 723-728.

Simmonds, M. S. V., Blaney, W. M., Ley, S. V., Savona, G., Bruno, M., Rodriguez, B., 1989. The antifeedant activity of clerodane diterpenoids from *Teucrium*. *Phytochemistry*, 28, (4) : 1069-1071.

Smid, E.J., Gorris, L.G.M. 1999. Natural antimicrobials for food preservation. In: Rahman, M.S. (Ed.), Handbook of Food Preservation. Marcel Dekker, New York, s. 285-308.

Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventös, R. M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Met. Enzymol.*, 299: 152-178.

Smith, R. C., Reeves, J. C., Dage, R. C., Schnettler, R. A., 1987. Antioxidant properties of 2-imidazolones and 2-imidazolthiones. *Biochemical Pharmacology*, 36: 1457-1460.

Smith, R.M. 2003. Before the injection-modern methods of sample preparation for separation techniques (review). *J.Chromatogr. A*, 1000: 3-27.

Tanaka, M., Kuei, C. W., Nagashima, Y., Taguchi, T., 1998. Application of antioxidative maillrad reaction products from histidine and glucose to sardine products. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54: 1409-1414.

Tanker, M., Tanker, N., 1990. Farmakognozi, Cilt 2, 269-278, Ankara Üniv. Basımevi, Ankara.

Tepe, B., Daferera, D., Somken, A., Somken, M., Polissiou, M., 2005. Antimicrobial and antioxidant activities of essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae), *Food Chemistry*, 90: 333-340.

Tepe, B., Donmez, E., Unlu, M., Candan, F., Daferera, D., Vardar-Unlu, G., Polissiou, M., Somken, A. 2004. Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* (Montbret et Aucher ex Benth.) and *Salvia multicaulis* (Vahl). *Food Chemistry*, 84: 519-525.

Thapa, B. B., 1989. Extraction of essential oil, national workshop on chemical investigation and processing of aromatic plants. Adhikary, S. R., Amatya, K. R., Thapa, B. B. (eds.). Nepal. s. 71-81.

Tognolini, M., Barocelli, E., Ballabeni, V., Bruni, R., Bianchi, A., Chiavarini, M., Impicciatore, M. 2006. Comparative screening of plant essential oils: Phenylpropanoid moiety as basic core for antiplatelet activity. *Life Sciences*, 78:1419-1432.

Tuley de Silva, K. (Ed.), 1996. A Manual on the Essential Oil Industry. United Nations Industrial Development Organization, Vienna.

Tyler, V. E., Brady, L. R., Robbers, J. E., 1988. Pharmacognosy, 9. Baskı, Lea and Febriger, Philadelphia, 103-137p.

Ulubelen, A. ve Tuzlacı E., (1987). Terpenoids from *Salvia potentillifolia*, *Planta medica*, s. 578.

Ulubelen, A., Öksüz, S., Topcu, G., Gören, A.C., Bozok-Johansson, C., Çelik, C., Kökdil, G. and Voelter W., A New Antibacterial Diterpene From The Roots of *Salvia caespitosa*, 2001, *Natural Product Letters*, Vol. 15(5), pp. 307-314.

Ulubelen, A., Tan, N., Sönmez, U. and Topcu, G., Diterpenoids and Triterpenoids from *Salvia multicaulis*, *Phytochemistry*, 1998, Vol. 47, No. 5, pp. 899-901.

Ulubelen, A., Sönmez, U. and Topcu, G., Diterpenoids From the Roots of *Salvia sclarea*, *Phytochemistry*, 1997, Vol. 44, No. 7, pp. 1297-1299.

Ulubelen, A., Miski, M. 1984. *Salvia tomentosa* Bitkisinin Kimyasal ve Farmakolojik İncelenmesi, *Doğa Seri C*, 8(1). 109-115.

Umar, B., 1982. Türkiye halkının ilkçağı tarihi 1, İzmir, 2p.

Van de Braak, S.A.A.J., Leijten, G.C.J.J. 1999. Essential Oils and Oleoresins: A Survey in the Netherlands and other Major Markets in the European Union. CBI, Centre for the Promotion of Imports from Developing Countries, Rotterdam, s.116.

Van Esch, G. J., 1986, Toxicology of tert-butyl-hydroquinone (TBHQ). *Food Chem. Toxicol.*, 24: 1063-1066.

Van Krimpen, M.M., Binnendijk, G.P. 2001. Ropadiarr as alternative for antimicrobial growth promoter in diets of weanling pigs. *Lelystand, Praktijkonderzoek Veehouderij*, May 2001. ISSN 0169-3689, s.14.

Van Welie, R.T.H. 1997. Alle cosmetica ingredienten en hum functies. *Nederlandse Cosmetica Vereniging*, Nieuwegein, s.126.

Varshney, S. C., 1993. Efficiency of steam distillation system for herbs. *Indian perfumer*, 37: 63-67.

Velioğlu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., Oomah, B. D., 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 4113-4117.

Vinson, J. A., Dabbagh, Y. A., Serry, M. M., Jang, J., 1995. Plant flavonols, are powerful antioxidants using an in vitro oxidation model for heart disease. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43: 2800-2802.

Vinson, J. A., Hao, Y., Su, X., Zubik, L., 1998. Phenol antioxidant quantity and quality in food: Vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chem.*, 46: 3630-3634.

Vinson, J. A., Hang, J., Yang, J., Dabbagh, Y., Liang, X., Serry, M., Proch, J., Cai, S., 1999. Vitamins and especially flavonoids in common beverages are powerful in vitro antioxidants which enrich lower density lipoproteins and increase their oxidative resistance after ex vivo spiking in human plasma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 2502-2504.

Visioli, F., Romani, A., Mulinacci, N., Zarini, S., Conte, D., Vincieri, F. F., Galli, C., 1999. Antioxidant and other biological activities of olive mill waste waters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 3397-3401.

Von Gadow, A., Joubert, E., Hansmann, C. F., 1997. Comparison of the antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of rooibos tea (*Aspalathus linearis*), α -tocopherol, BHT and BHA. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 632-638.

Wanasundara, U. N., Shahidi, F., 1998. Antioxidant and pro-oxidant activity of green tea extracts in marine oils. *Food Chemistry*, 63: 335-342.

Wang, Z. Y., Huang, M. T., Lou, Y. R., Xie, J. G., Reuhl, K. R., Newmark, H. L., Ho, C. T., Yang, C. S., Conney, A. H., 1994. Inhibitory effects of black tea, green tea, decaffeinated black tea and decaffeinated green tea on ultraviolet B light-induced skin carcinogenesis in 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-initiated SKH-1 mice. *Cancer Res.*, 54: 3428-3435.

Wang, H., Cao, G., Prior, R. L., 1996. Total antioxidant capacity of fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44: 701-705.

Wang, H., Nair, M. G., Strasburg, G. M., Chang, Y. C., Booren, A. M., Gray, J. I., DeWitt, D. L., 1999. Antioxidant and antiinflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries. *Journal of Natural Products*, 62: 294-296.

Wen, L., Wrolstad, R. E., Hsu, V. L., 1999. Characterization of sinapyl derivatives in pineapple (*Ananas comosus*) and sage (*Salvia officinalis*) by enzyme-assisted ensiling (ENLAC). *J. of Agr. and Food Chem.*, 47: 2959-2962.

WHO, 2002a. Food safety and foodborne illness. World Health Organization Fact sheet 237, revised January 2002. Geneva.

WHO, 2002b. World health report 2002: Reducing risks, promoting healthy life. Geneva, World Health Organization, 30 October 2002. ISBN 92 4 156207 ISSN 1020-3311, s.248.

Wijsekera, R. O. B., 1992. Pratical manual on: The essential oil industry, agrotechnology, processing, quality assesment. Thailand Institute of Scientific and Technological Research Pres. Viyana, Avusturya.

Yalçındağ, O. N., 1965. Eczacılıkta ekstraksiyon metotları ve bunlarla hazırlanan farmasötik preparatlar, Berksoy Matbaası, İstanbul.

Yamaguchi, F., Yoshimura, Y., Nakazawa, H., Ariga, T., 1999. Free radical scavenging activity of grape seed extract and antioxidants by electron spin resonance spectrometry in an H₂O₂/NaOH/DMSO system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 2544-2548.

Yen, G. C., Duh, P. D., Tsai, C. L., 1993. Relationship between antioxidant activity and maturity of peanut hulls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41: 67-70.

Yi, O. S., Han, D., Shin, H. K., 1991. Synergistic antioxidative affects of tocopherol and ascorbic acid in fish oil/lecithin/water system. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 68: 881-883.

Zeybek, N., Zeybek, U., 1994. *Farmasötik Botanik Kapalı Tohumlu Bitkiler (Angiospermae) Sistematiği ve Önemli Maddeleri*, Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayını, İzmir, 436 p.

Zhang, H. Y., 1999. Theoretical methods used in elucidating activity differences of phenolic antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76: 745-748.

EKLER

Ek 1. *Salvia pinnata* bitkisinin çiçeklenme dönemi



Ek 2. *Salvia bracteata* bitkisinin çiçeklenme dönemi.

ÖZGEÇMİŞ

23.06.1978 tarihinde Acıpayam / DENİZLİ’de doğdu. İlkokul ve ortaokulu Acıpayam’da; liseyi Denizli’de bitirdi. 1997-2002 yılları arasında Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünü bitirdi. 2002-2003 yılları arasında askerlik görevini yerine getirdi. 2003-2006 yıllarında Ayyem A.Ş.’de laboratuvar şefi olarak çalıştı. 2006 yılında yüksek lisans eğitimini Muğla Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Ana Bilim dalında başladı. Yabancı dili İngilizcedir ve ÜDS’den 65 aldı.