

**GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**GAZIANTEP İLİNDE YETİŞEN *PINUS* TÜRLERİNİN  
ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

**BİYOLOJİ**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**HACI OSMAN YENER**  
**HAZİRAN 2012**

**Gaziantep İlinde Yetişen *Pinus* Türlerinin Antioksidan  
Aktivitelerinin Belirlenmesi**

**Gaziantep Üniversitesi**

**Biyoloji Bölümü**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Danışman**

**Prof. Dr. Saadet D. SAYGIDEĞER**

**Hacı Osman YENER**

**Haziran 2012**

©2012 [Hacı Osman YENER].

T.C.  
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ  
ANA BİLİM DALI

Tezin Adı: Gaziantep İlinde Yetişen *Pinus* Türlerinin Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi

Öğrencinin, Adı Soyadı: Hacı Osman YENER

Tez Savunma Tarihi: 13/06/2012

Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

  
Prof Dr. Ramazan KOÇ

FBE Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

  
Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN

Enstitü ABD Başkanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

  
Prof. Dr. Saadet D. SAYGIDEĞER

Tez Danışmanı

Bu tez tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği/~~oy çokluğu~~ ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmzası

Prof. Dr. Saadet D. SAYGIDEĞER



Doç. Dr. Canan CAN




Doç. Dr. Hüsniye AKA SAĞLIKER

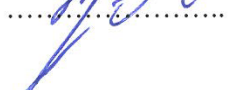


Doç. Dr. Abuzer ÇELEKLİ



Öğr. Gör. Dr. Muhittin DOĞAN





## **BEYAN**

**İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek ilgili tezde yer aldığını beyan ederim.**

**Hacı Osman YENER**

## ÖZET

### GAZİANTEP İLİNDE YETİŞEN *PINUS* TÜRLERİNİN ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

YENER, Hacı Osman  
Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Bölümü  
Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Saadet D. SAYGIDEĞER  
Haziran 2012  
62 sayfa

Bu çalışmada Gaziantep ilinde yayılış gösteren dört farklı *Pinus* türünün antioksidan aktiviteleri ile bu türlere ait uçucu yağ bileşenleri ve metanol özütlerinin fenolik bileşikleri tespit edilmiştir. Metanol ve uçucu yağ özütleri konsantrasyona bağlı olarak DPPH, metal şelatlama ve demir indirgeme gücü deneyleri ile antioksidan aktiviteleri için taranmıştır. Yapılan analizler sonucunda metanol özütlerinin uçucu yağlardan daha yüksek aktivite sergilediği tespit edilmiştir. DPPH deneyinde *Pinus halepensis* 1 mg/ml konsantrasyonda % 93,91 ile en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Demir indirme gücünde ise en yüksek aktiviteyi yine *P. halepensis* sergilemiştir (0,8 mg/ml konsantrasyonda 0,914 nm). Metal şelatlama deneyinde en yüksek aktiviteyi % 94.30 ile *Pinus brutia*'nın uçucu yağı sergilemiştir. Total fenoliklerin tayininde en yüksek fenolik içeriği *Pinus nigra*'da hesaplanmıştır (303.3 mg GAE/g). Bununla birlikte uçucu yağlar GC-MS ile analiz edilmiştir. GC-MS sonuçlarına göre uçucu yağların ana bileşenleri *P. brutia* için  $\beta$ - pinene (% 40,03), *P. halepensis* için  $\beta$ -caryophyllene (% 25,98), *P. nigra*  $\alpha$ - Pinene (% 34,45) ve *Pinus pinea* için Limonene (% 40,73) olarak belirlenmiştir. Yapılan analizler sonucunda bu türlerin doğal antioksidanlar olarak yeni kaynaklar olacağını söyleyebiliriz.

**Anahtar Kelimeler:** *Pinus*, antioksidan aktivite, fenolik, GC-MS, uçucu yağ

## ABSTRACT

### DETERMINATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF *PINUS* SPECIES GROWING IN GAZIANTEP

YENER, Hacı Osman

M.Sc. in Biology

Supervisor: Prof. Dr. Saadet D. SAYGIDEĞER

June 2012

62 pages

In this study, it was determined antioxidant activities, essential oil compounds and total phenolic contents of four different *Pinus* species growing in Gaziantep. Methanol and essential oil extracts were screened for antioxidant activities by using DPPH, metal chelating and power reducing assays. As a result of analysis, methanol extracts was exhibited more antioxidant activities than essential oils. The methanol extract of *Pinus halepensis* showed the highest activity with value of 93.30 % at concentration of 1.0 mg/ml in DPPH assay. Also, this plant exhibited the highest activity in power reducing assay (0.914 nm at concentration of 0.8 mg/ml). The essential oil of *Pinus brutia* showed the highest activity with value of 94.30 % in metal chelating assay. The highest total phenolic content was calculated in methanol extract of *Pinus nigra* (303.3 mg GAE/g). Moreover, the essential oil was analysed by GC-MS. According to result of GC-MS,  $\beta$ - pinene (% 40,03),  $\beta$ -caryophyllene (% 25,98),  $\alpha$ - Pinene (% 34,45) and Limonene (% 40,73) were determined as main components in essential oils of *P. brutia*, *P. halepensis*, *P. nigra* and *Pinus pinea*, respectively. We can say that these species may be new natural antioxidant sources.

**Key Words:** *Pinus*, antioxidant activity, phenolic, GC-MS, essential oil

## TEŞEKKÜR

Çalıőmam süresince beni her zaman destekleyen, maddi ve manevi olarak kendisini her zaman yanımda gördüğüm Sayın Danıőmanım Prof. Dr. Saadet D. SAYGIDEĞER'e,

Deneyleirim hazırlanması ve yapımı sırasında her zaman desteğini gördüğüm Sayın Hocam Yrd. Doç. Dr. Önder YUMRUTAŐ'a,

Engin bilgi ve görüşlerini benden esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Cengiz SARIKÜRKCÜ'ye,

Yardımlarından dolayı Sayın Öğr. Gör. Dr. Muhittin DOĞAN'a, Sayın Uzman Biyolog Mustafa PEHLİVAN'a, Sayın Uzman Biyolog Medet KORKUNÇ'a ve Sayın Yüksek Lisans Öğrencisi Serap ŐAHİN'e

Ve Canım Aileme;

...Sonsuz TEŞEKKÜR EDERİM.



## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT .....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
TABLolar LİSTESİ.....	VII
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VIII
SEMBOLLER/KISALTMALAR LİSTESİ.....	IX
BÖLÜM 1.....	1
GİRİŞ.....	1
1.1.    Spermatophyta (Tohumlu	
Bitkiler).....	2
1.1.1 <i>Pinus</i> .....	3
1.1.1.1 <i>Pinus brutia</i> Ten. (Kızılçam).....	4
1.1.1.2 <i>Pinus halepensis</i> Mill. (Halep çamı).....	6
1.1.1.3 <i>Pinus nigra</i> (Karaçam).....	7
1.1.1.4 <i>Pinus pinea</i> L. (Fıstık çamı).....	9
1.1.1.5 <i>Pinus slyvestris</i> L. (Sarıçam).....	10
1.2    Uçucu Yağlar.....	11
1.3    Sekonder Metabolitler.....	13
1.3.1    Sekonder Metabolitlerin Sınıflandırılması.....	13
1.3.1.1    Terpenler.....	13
1.3.1.2    Fenolik Bileşikler.....	14
1.3.1.3    Azotlu Bileşikler.....	15
1.3.2    Sekonder Metabolitlerin Ekonomideki Yeri .....	15
1.4    Antioksidanlar.....	16
1.4.1    Enzimsel Antioksidanlar.....	17
1.4.2    Enzimsel Olmayan Antioksidanlar.....	17
BÖLÜM 2.....	19
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	19
BÖLÜM 3.....	22

MATERYAL VE METOT.....	22
3.1 Bitki Örneklerinin Toplanması.....	22
3.2 Metanol Özütlerinin Hazırlanması.....	22
3.3 Uçucu Yağların Elde Edilmesi.....	22
3.4 Antioksidan Aktivite Testleri.....	23
3.4.1 DPPH Temizleme Deneyi.....	23
3.4.2 Demir İndirgeme Gücü Aktivitesi.....	24
3.4.3 Metal Şelatlama Aktivitesi.....	24
3.5. Total Fenolik Miktarı Belirleme.....	25
3.6. GC/MS Analizleri.....	26
BÖLÜM 4.....	27
BULGULAR.....	27
4.1. Antioksidan Aktivitelerin Belirlenmesi.....	27
4.1.1. DPPH Temizleme Deneyi.....	27
4.1.2. Demir İndirgeme Gücü Aktivitesinin Belirlenmesi.....	28
4.1.3. Metal Şelatlama Aktivitesinin Belirlenmesi.....	29
4.2. <i>Pinus</i> Türlerine Ait Total Fenolik Miktarlarının Belirlenmesi.....	30
4.3. Uçucu Yağların GC/MS Analiz Bulguları.....	30
4.3.1. <i>Pinus brutia</i> 'nın Uçucu Yağ Bileşenleri.....	30
4.3.2. <i>Pinus halepensis</i> 'in Uçucu Yağ Bileşenleri.....	33
4.3.3. <i>Pinus nigra</i> 'nın Uçucu Yağ Bileşenleri.....	35
4.3.4. <i>Pinus pinea</i> 'nın Uçucu Yağ Bileşenleri.....	37
BÖLÜM 5.....	40
TARTIŞMA.....	40
5.1. Antioksidan Aktivitelerin Belirlenmesi.....	40
5.1.1. DPPH Serbest Radikal Yakalama Aktivitesi.....	40
5.1.2. Demir İndirgeme Gücü Aktivitesinin Belirlenmesi.....	41
5.1.3. Metal Şelatlama Aktivitesinin Belirlenmesi.....	42
5.2. Total Fenoliklerin Belirlenmesi.....	43
5.3. Uçucu Yağ Bileşenlerinin Belirlenmesi.....	44
BÖLÜM 6.....	47
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	47

KAYNAKLAR.....	49
EKLER.....	59
EK .1 <i>P. brutia</i> 'nın yaprak görüntüsü.....	59
EK .2 <i>P. brutia</i> 'nın kozalak görüntüsü.....	59
EK .3 <i>P. halepensis</i> 'in yaprak görüntüsü.....	60
EK .4 <i>P. halepensis</i> 'in kozalak görüntüsü.....	60
EK .5 <i>P. nigra</i> 'nın yaprak görüntüsü.....	61
EK .6 <i>P. nigra</i> 'nın kozalak görüntüsü.....	61
EK .7 <i>P. pinea</i> 'nın yaprak görüntüsü.....	62
EK. 8 <i>P. pinea</i> 'nın kozalak görüntüsü.....	62

<b>TABLolar LİSTESİ</b>	<b>SAYFA</b>
Tablo 1.1 Terpenlerin sınıflandırılması.....	12
Tablo 4.1 <i>Pinus</i> türlerine ait metanol ve uçucu yağ özütlerinin DPPH serbest radikal yakalama aktiviteleri.....	27
Tablo 4.2 <i>Pinus</i> türlerine ait metanol ve uçucu yağ özütlerinin demir indirgeme gücü aktiviteleri.....	28
Tablo 4.3 <i>Pinus</i> türlerine ait metanol ve uçucu yağ özütlerinin metal şelatlama aktiviteleri.....	29
Tablo 4.4 <i>Pinus</i> türlerine ait total fenolik içerikleri.....	30
Tablo 4.5 <i>P. brutia</i> 'nın uçucu yağ kompozisyonu.....	32
Tablo 4.6 <i>P. halepensis</i> 'in uçucu yağ kompozisyonu.....	34
Tablo 4.7 <i>P. nigra</i> 'nın uçucu yağ kompozisyonu.....	36
Tablo 4.8 <i>P. pinea</i> 'nın uçucu yağ kompozisyonu.....	38

## ŞEKİLLER LİSTESİ

## SAYFA

Şekil 1.1	<i>Pinus brutia</i> 'nın genel görünüşü.....	5
Şekil 1.2	<i>Pinus halepensis</i> 'in genel görünüşü.....	7
Şekil 1.3	<i>Pinus nigra</i> 'nın genel görünüşü.....	8
Şekil 1.4	<i>Pinus pinea</i> 'nın genel görünüşü.....	10
Şekil 3.1	Uçucu yağların ve metanol özütlerinin elde edilmesi.....	23
Şekil 3.2	DPPH radikalinin oluşturduğu mor rengin ortamda bulunan antioksidan bir maddeyle etkileşime girdikten sonra sarı renge dönüşmesi.....	24
Şekil 3.3	Metal şelatlama aktivitesinde renk değişimi.....	25
Şekil 4.1	<i>P. brutia</i> 'nın ana bileşiği $\beta$ - pinene'nin kimyasal yapısı.....	33
Şekil 4.2	<i>P. halepensis</i> 'in uçucu yağ ana bileşeni $\beta$ -Caryophyllene'nin kimyasal yapısı.....	35
Şekil 4.3	<i>P. nigra</i> 'nın uçucu yağ ana bileşeni $\alpha$ - Pinene 'in kimyasal yapısı.....	37
Şekil 4.4	<i>P. pinea</i> 'nın uçucu yağ ana bileşeni limonen'in kimyasal yapısı.....	39

## SEMBOLLER/KISALTMALAR LİSTESİ

BHA	Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	Bütillenmiş hidroksitoluen
°C	Santigrat derece
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
Fe <sup>+2</sup>	+2 değerlikli demir
FeCl <sub>3</sub>	Demir 3 klorür
FeCl <sub>2</sub>	Demir 2 klorür
g	Gram
GAE	Gallik asit eşdeğerliği
GC	Gaz kromatografisi
µm	Mikrometre
mg	Miligram
ml	Mililitre
M	Molar
mM	Milimolar
MS	Kütle spektrometresi
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Sodyum karbonat
Na <sub>2</sub> EDTA	Sodyum Etilendiamintetra asidik asit
nm	Nanometre
OH	Hidroksil
rpm	Dakikadaki devir sayısı
TCA	Trikarboksilik asit
TBHQ	Tert-butilhidroquinon
WHO	Dünya Sağlık Teşkilatı

## BÖLÜM 1

### GİRİŞ

Yer küre üzerinde yaklaşık olarak beş yüz binden fazla bitki türünün yetiştiği varsayılmaktadır (Baytop, 1999). Bitkiler fotosentez reaksiyonları sonucunda yaşam gereksinimleri için ATP ve glikoz oluşturmakla birlikte ayrıca her türlü patojen, herbivor vb. canlıya karşı ürettikleri bir takım fitokimyasallar aracılığıyla kendilerini korumayı başarırlar. Bitkiler bu kimyasalları üretirken insanoğlu da bu bitkileri kendi yaşamlarında kullanmayı ilk çağlardan itibaren öğrenmişlerdir ve bu bitkileri besin, parfümeri ve tıp alanında kullanıma hazır hale getirmiş ve ticaret yollarına da gidilmiştir.

1979 yılında WHO tarafından yapılan bir araştırmanın sonuçlarına göre, farmakopelerde kayıtlı olan, beşden fazla ülkede kullanılan ve ticareti yapılan bitkisel drogların miktarı 1900 olarak tespit edilmiştir. Aynı kurumun 91 ülkenin farmakopeleri ve tıbbi bitkileri üzerinde yapılmış olan bazı yayınlara dayanarak hazırlanmış olduğu bir araştırmaya göre de tedavi amacıyla 20.000 civarında tıbbi bitki kullanılmaktadır. Şüphesiz ki bu sayı gerçek miktarı göstermemektedir. Mesela G. Penso'nun araştırmasında Türkiye için kaydettiği tıbbi bitki miktarı 140 kadardır. Bunlar 1948 ve 1974 Türk kodekslerinde kayıtlı bitkilerden oluşmaktadır. Oysa ki Türkiye'de tedavi amacıyla kullanılan 500 civarında tıbbi bitki bulunmaktadır. Bu durumun diğer ülkeler için de geçerli olabileceği düşünüldüğünde, gerçekte kullanılan tıbbi bitki miktarının 100000 civarında olması gerektiği düşünülmektedir (Baytop, 1999).

Anadolu insanının bitkileri tedavi amacıyla kullanması Yontma taş (Paleolitik) çağında (Yaklaşık M.Ö. 50.000 yılları) başlamıştır. Hakkari'nin hemen güneyinde yer alan "Şanidar mağarası'nda ortaya çıkartılan Neanderthal mezarları içinde

bulunan gül hatmi, sığır kuyruğu vb. bitki örnekleri bu varsayım için sağlam kanıt oluşturmaktadır (Steward, 1963; Solecki, 1975).

Hekimliğin babası olarak kabul edilen Hippocrate'ın eserlerinde bulunan drogların miktarı 400 kadar olup bunların çoğunu bitkisel kökenli droglar oluşturmaktadır.

Türkiye'nin değişik iklim ve ortam koşullarına sahip olması ve üç floristik bölgenin birleştiği bir kesimde bulunması, Avrupa ülkelerine göre bitki türü bakımından daha zengin olmasını sağlamıştır. Bugün Türkiye'de 9.000 civarında bitki türü bulunmaktadır. Türkiye'de gıda, baharat veya ilaç olarak kullanılan yabancı bitkilerin sayısı 500 civarındadır. Bu miktar Avrupa da kullanılan tıbbi bitkilere oranla oldukça düşüktür. Mesela Fransa da 1500 kadar tıbbi bitki bilinmektedir. Türkiye'de yetiştirilmekte olan bitkilerin çoğunluğu yöresel fayda sağlamakta olup, 30 civarında drog ise ekonomik bir değer gösterecek miktarlarda elde edilip dış ülkelere satılmaktadır (Baytop, 1999).

### **1.1 Spermatophyta (Tohumlu Bitkiler)**

Büyük bir bitki grubunu oluşturan Spermatophyta, yaklaşık olarak 300 familya ve 250.000 bitki türüne sahiptir. Spermatofitlerin tamamı dişi üreme organlarında tohum taslağı taşımakta olup, karpellerin açık veya kapalı olma durumlarına göre Gymnospermae ve Angiospermae olmak üzere iki alt bölüme ayrılır. Gymnospermlerde daima tohum taslağı ve tohum açıkta bulunur. Hiçbir otsu bitki türü içermeyen bu alt bölüm, tamamen ağaç ve ağaççıklardan oluşur. Emberger'e göre Gymnospermler Bennettitinae ve Coniferae olmak üzere iki alt bölümden oluşur. Gymnospermlerin önemli bir alt bölümünü oluşturan Koniferler (Kozalaklı bitkiler) 5 ordoya ayrılır. Pinales ordosu içerisinde yer alan Pinaceae familyası Coniferae'lerin en geniş ve en yaygın grubunu oluşturur. Bugün yaşayan 9 cins ve 300'e yakın türe sahiptir. Ülkemizde ise *Pinus*, *Cedrus*, *Abies* ve *Picea* olmak üzere dört cinsi vardır (Akman ve Güney, 2006).

Çamgillere ait bitkilerde kısa ve uzun sürgünler yer alır. Kısa sürgünler uzun ömürlü olup, birkaç yıl yaşayabilir ve yapraklarla birlikte dökülür. Uzun sürgünler uç kısımlarda birçok tomurcuk içermekle birlikte, sınırsız bir büyümeye sahiptir.



Çamgillerde kışın genellikle yaprak dökülmesi görülmez (Akman ve Güney, 2006). Bir evcikli her dem yeşil ve nadiren yaprak döken ağaç ve çalılardan oluşur. Yapraklar demetlerde veya çevresel dizilişli, iğnemsî şekle sahip olup, reçine kanalları bulunur (Seçmen vd., 2000). Erkek kozalaklar bir eksen üzerinde balık pulları gibi dizilmiş mikrosporofillere sahiptir. Her mikrosporofil Angiospermlerdeki stamene karşılık gelir. Pul ya da kalkan şeklinde olan mikrosporofillerin üzerinde genellikle 2 bazen 4 mikrosporangium (polen kesesi) yer alır. Dişi kozalak, erkek kozalak gibi bir eksen etrafında sarmal olarak dizilmiş makrosporofillerden (kozalak pulu) meydana gelir. Makrosporofillerin üst tarafında 2 tohum taslağı yer alır. Tohum taslaklarında ise makrosporangiumlar bulunmaktadır (Akman ve Güney, 2006).

Nisan-Mayıs aylarında tozlaşma meydana gelir. Bu aşamada dişi kozalaklar polenleri kabul etmek için dikey bir konum alırlar. Aşağı doğru sarkmaları ise (Bazı türler hariç) döllenmeden sonra meydana gelir. Dişi gametofit tozlaşmadan bir yıl sonra olgunlaşır ve döllenme olayı meydana gelir. Tohumun oluşabilmesi için ise bir yıl daha süreye ihtiyaç vardır. Bu nedenden dolayı bir Pinaceae üyesinde aynı anda hem yeni oluşmuş dişi kozalaklar, hem yeni döllenmiş dişi kozalaklar ve hem de olgunlaşmış dişi kozalaklar bulunmaktadır (Seçmen vd., 2000).

### **1.1.1. *Pinus***

*Pinus* L.( Çam ) cinsi genellikle her dem yeşil ağaçlardan oluşmakla birlikte, nadiren çalılardan oluşabilmektedir. Dalların gövdeden çıkışı yataydır, yaşlandıkça dalların dizilişi ve tacın yapısı düzensizleşir. Kısa ve uzun sürgünlere sahiptir. Fidecik halinde iken oluşan ilk yapraklar, gövdede tek tek dizilmiş halde bulunur. En fazla 4 yıl yaşayabilen bu yapraklardan sonra, uzun sürgünler üzerindeki pulu yapıların koltuğunda bulunan oldukça küçük kısa sürgünlerden 2-3 veya 5 tane iğne yaprak meydana geldiği görülmüştür. Yörenin iklim özelliklerine göre yaprakların boyu farklılık gösterir. Sıcak iklim bölgelerinde yayılış gösteren *Pinus* türlerinin yaprakları uzun, soğuk iklim bölgelerinde yetişen *Pinus* türlerinin yaprakları kısa boyludur (Seçmen vd., 2000).

Genç sürgünlerin dip taraflarında bulunan erkek kozalakların olgunlaşması İlkbahar sonu ile yaz başlarındadır. Dişi kozalaklar ise genç sürgünlerin uçlara yakın kısımlarındadır. Bu kozalaklar genellikle oval olup, sarmal olarak dizilmiş pulların alt yüzeyinde 2 tane atop tohum taslağına sahiptir. Dişi kozalakların olgunlaşabilmesi için 2-3 yıl zamana ihtiyaç vardır (Seçmen vd., 2000). Örtü pulu çok küçük olması nedeniyle kısa sürede ortadan kalkar. Bu nedenle *Pinus*'un kozalakları sadece tohum pulu taşır (Akman ve Güney, 2006). Tozlaşma ilk baharda olur ve döllenmenin gerçekleşmesi için bir yıl geçmesi gerekir. Tohumlar 4-5 çenekli olup, kolayca tohumdan ayrılan büyük bir kanat taşırlar. Fıstık çamı gibi büyük çamların tohumları ise körelmiş kanatlara sahiptir (Seçmen vd., 2000).

*Pinus* türleri genellikle güçlü bir kök sistemine sahip olup, bu türlerin ekolojik hoşgörüsü oldukça geniştir. Gymnosperm'lerin en büyük cinsi olan çamlar, Kuzey Yarıküre'den Tropikler'e kadar yayılış gösterir. Günümüzde 80 türü bulunan çamların, ülkemizde 5 türü yayılış göstermektedir. Bu türler şunlardır;

- 1- *Pinus brutia*
- 2- *P. halepensis*
- 3- *P. nigra*
- 4- *P. pinea*
- 5- *P. sylvestris* (Seçmen vd., 2000).

#### **1.1.1.1. *Pinus brutia* Ten. (Kızılçam):**

*Pinus brutia* yaklaşık 15-20 m boylanabilir ve ülkemizin önemli orman ağaçları arasında yer alır. Bu türün kızılçam olarak adlandırılmasının nedeni yeni sürgünlerinin kızıl renkte olmasıdır. Dalları gövdeye dik olarak bağlanmıştır ve oldukça kalındır. 6-11 cm uzunluğunda olan kozalaklar çok kısa saplı yumurta veya topaç şeklinde olup, dala dik olarak bağlanmıştır. Kozalak rengi parlak, kırmızımtıraktır (Akman ve Güney, 2006). Açık yeşil renkte olan yaprakları 18 cm. kadar büyüyebilir (Seçmen vd., 2000). Kızılçamın genç yaşlarda piramit görünümündeki tepe yapısı, ileri yaşlarda yayvanlaşır. Kabuk genç iken düzgün boz renkli olup ileri yaşlarda esmer kırmızı bir renk alır ve kalınlaşarak derin yarıklar oluşturur. Kızılçamın her türlü toprak üzerinde yetişmesi, çok hızlı büyüme yeteneği

göstermesi, yaz kuraklığına oldukça dayanıklı olması, bu türün ülkemiz için önemini artırmıştır (Çatal, 2009).

Kızılçam asıl yayılışını yazları sıcak ve kurak, kışları ılık ve yağışlı olan tipik Akdeniz iklimi bölgelerinde göstermektedir (Tanrıverdi, 2004). Kuraklığa karşı dayanıklı olup, Toprak ve kayaç seçicilikleri yoktur (Seçmen vd., 2000). Tipik bir ışık ağacı olan türün gelişip olgunlaşabilmesi için ışık entansitesinin %70-80'in üzerinde olması gerekir (Tanrıverdi, 2004).

Kızılçam ülkemiz ormanları arasında en fazla yayılışa sahip olup, 3 milyon hektardan fazla alanda yayılış göstermektedir. Akdeniz Bölgesinde %47, Ege Bölgesinde %40, Marmara Bölgesinde %10 oranında yayılışa sahiptir (Çatal, 2009).

Ülkemizde kızılçamın en yoğun yayılış gösterdiği yerler Muğla, Antalya, Mersin, Adana, Antakya'dır. Buralarda deniz seviyesinden başlayarak 1300 m yükseltiye kadar yayılış gösterir (Çatal, 2009). Bu türün Karadeniz Bölgesinde Akdeniz iklimi gösteren bölgelerinde de yayılış gösterdiği görülmüştür (Tanrıverdi, 2004). Yurdumuzda kömürleşmiş odun fosillerine, Karadeniz kıyısındaki Ağaçalı kömür yataklarında rastlanmıştır (Seçmen vd., 2000).



**Şekil 1.1.** *Pinus brutia*'nın genel görünüşü (Gaziantep Üniversitesi Kampüsü).

### 1.1.1.2. *Pinus halepensis* Mill. ( Halep çamı ):

*Pinus halepensis* 15 m kadar boylanabilir. Gövdesi eğri ve dallar seyrek. Genç ağaçlarda düzgün olan kabuk, başlangıçta yeşilimsi renkte olup, daha sonra yarılar ve kırmızımsı esmer bir görüntü alır. 6-10 cm uzunlukta olan iğne yapraklar, fırça gibi dalın ucunda birikmiş, parlak ve açık yeşil renktedir (Gökmen, 1970). Kozalaklar aşağı doğru sarkık, saplı ve yumurta şeklindedir (Akman ve Güney, 2006).

Odun kalitesi düşüktür ve bu ağacın ticari getirisi yoktur. Ancak bu türün verimsiz taşlık arazileri verimli hale getirmek için yapılacak ağaçlandırma çalışmalarında kullanılmasının son derece uygun olacağı ifade edilmiştir. Halep çamı kuraklığa dayanıklı bir tür olup, Akdeniz havzasında kalkerli ve kurak alanlarda kullanılmaktadır (Akdoğan, 2007).

Ülkemizde doğal olarak yetişen beş çam türünden biride Halep çamıdır. Halep çamı bu türler içerisinde en az yayılışa sahiptir. Ülkemizde saf Halep çamı meşceresi 2900 ha'dır (Akdoğan, 2007).

*Pinus brutia* Ten.'ya çok yakın bir genetik yakınlığı olmakla birlikte, bu türden yayılış alanının farklı olması ile ayırt edilir. Genellikle Batı Akdenizde yayılış göstermekte olup, ülkemizde Güney Anadolu'nun doğusunda ve Toroslar'ın eteğinde kızılçamla karışık halde yayılış gösterir. Kumlu topraklarda iyi gelişim göstermektedir (Seçmen vd., 2000). Ilıman iklimi seven Halep çamının toprak isteği fazla değildir. Hemen her çeşit toprak üzerinde yayılış gösteren bu türden; fakir ve kurak arazilerin ağaçlandırılmasında faydalanılır (Kayacık, 1965).

Akdeniz Havzasının çalı ve ormanlarla karışık alanlarının yaklaşık %10'unda hakim olan Halep çamı, bu havzada geniş bir yayılış alanına sahiptir (Akdoğan, 2007).

Akdeniz'in sahil kesimleri Halep çamının doğal yayılış alanlarıdır. Nitekim Adana'nın Sarıçam ormanında, Kadirli'nin Kızıyusuflu köyü çevresinde, Karatepe'de kızılçamlarla karışık olarak yayılış göstermektedir. Bununla birlikte, Güneybatı Anadolu'da Milas Bodrum arası, Güvercinlik körfezi dolaylarında saf veya kızılçamla karışık meşcereler yapmaktadırlar (Akdoğan, 2007).



**Şekil 1.2.** *Pinus halepensis*'in genel görünüşü (Gaziantep Üniversitesi Kampüsü).

### **1.1.1.3 *Pinus nigra* (Karaçam)**

*Pinus nigra* 30-40 m'ye kadar boylanabilen bir türdür. Gövde üzerinde kalın bir kabuk ve derin yarıklar bulundurmakta olup, dalları kalındır (Akman ve Güney, 2006). 7-18 cm. boyunda olan yapraklar sert ve koyu yeşildir (Seçmen vd., 2000). Bol reçineli büyük tomurcukların uçları sivridir. Bu tomurcukların ucu aniden sivrilir ve kaidesi geniştir. Tomurcukların bu özelliği karaçamlara özgüdür. İğne yaprakların sürgün uçlarında tomurcuğun etrafında çanağa benzeyen bir boşluk meydana getirmektedir. Bu durum karaçamın diğer türlerden ayrılmasında son derece önemlidir. Bu durum karaçam ile sarıçam arasında önemli bir ayırt edici özelliktir (Semerci, 2005).

Karaçam, kurak ve yarı kurak alanlarda yapılacak ağaçlandırma çalışmalarında, toprağın derinlerine kadar inebilen kazık kök oluşturma özelliğine sahip olması, yetiştiği ortamın istekleri bakımında toleranslı bir tür olması nedeniyle bir çok araştırmacı tarafından önerilmektedir. Konya Karapınar yöresinde kuraklığın

yaşanması ve şiddetli rüzgar erozyonunun görülmesi nedeniyle ağaçlandırma çalışmaları yapılmış, bu çalışmalarda kullanılan karaçamlar tutma başarısı ve gelişim açısından başarı göstermiştir. Karaçam kuraklığa ve kış soğuklarına karşı dayanıklı bir tür olması nedeniyle, ülkemizde değişik yetişme ortamlarında geniş bir yayılış alanına sahip olup, yayılış bakımından ibrelî ağaç türlerimiz içerisinde kızılçamdan sonra ikinci sırada yer almaktadır (Ertekin ve Özel, 2010). Ormanlarımızın %6'sı (3.3 ha) Anadolu karaçamından meydana gelmektedir (Semerci, 2005). Karaçamın Çorum-Kargı, Adana-Pos, Kütahya-Tavşanlı, Kastamonu-Boyabat-Elekdağ, Karabük-Yenice'de değerli meşcereler kurduğu görülmüştür (Ertekin ve Özel, 2010).

Bu türün Bursa yakınlarında Uludağ etekleri gibi nemli alanlarında yayılış gösterdiği gibi, diğer taraftan Ankara'nın güneyi gibi kurak karasal alanlarda yayılış gösterdiği görülmüştür (Ertekin ve Özel, 2010). Bu türün asıl yayılışının 300-1800 m yükseltiler arasında olduğu görülmüştür (Semerci, 2005). Güneydoğu ve Doğu Anadolu bölgeleri dışındaki tüm bölgelerde karaçamın yayılış gösterdiği görülmüştür (Ertekin ve Özel, 2010).

*Pinus nigra* fosilleri yurdumuzda Karadeniz kıyısındaki ağaçlı kömür yataklarında görülmüştür (Seçmen vd., 2000).



Şekil 1.3. *Pinus nigra*'nın genel görünüşü (Gaziantep Üniversitesi Kampüsü).

#### 1.1.1.4. *Pinus pinea* L. (Fıstık çamı)

*Pinus pinea*'nın boyu 20-25 m kadar olup, tacının şemsiye şeklinde olması diğer çamlardan kolayca ayrılmasını sağlamaktadır. Tohumları reçinesiz ve yaprakları sert olmayıp açık yeşildir. Düzgün bir gövdeye sahip olup, dalların gövdeye bağlanması diktir ve kalın kabuklar taşır. Oldukça büyük olan kozalaklar çok kısa saplı olup genellikle tek veya küre şeklindedir. Fıstık çamlarının derin ve kuvvetli bir kök sistemi bulundurmaları; kuvvetli rüzgarlara ve fırtınalara dayanıklı olmalarını sağlamıştır (Akman ve Güney, 2006).

Fıstıkçamı Akdeniz Bölgesi'ndeki diğer çamlara göre hastalık ve zararlılara karşı daha dayanıklıdır. Yüksek sıcaklığa ve kuraklığa iyi adapte olan bu tür, derin kökleri sayesinde su stresine önemli oranda dayanıklıdır. Ayrıca fıstıkçamı, kumul stabilizasyonunda yaygın bir şekilde kullanılmakta ve buraları rüzgar erozyonuna karşı korumaktadır. Bazı fıstık çamı türleri 200-250 yıl yaşayabilmektedir (Yılmaz vd., 2010).

Ülkemizde fıstık çamlarının genel olarak granit anataşından oluşan kum oranı fazla (%60-90), organik madde içeriği yüksek, havalanması iyi, balçıklı kum ve kum toprağı gibi topraklarda iyi geliştiğı belirtilmiştir (Yılmaz vd., 2010). Odunu fazla değerli olmayan fıstık çamı 20 yılda olgunlaşmaktadır (Akman ve Güney, 2006).

Ülkemizin bir çok bölgesinde kültüre alınan fıstık çamı bir Akdeniz bitkisidir. Ülkemizde doğal olarak Bergama, Muğla, Aydın, Gemlik körfezi, Trabzon, Çoruh, Maraş ve Antalya yörelerinde yayılış göstermektedir (Seçmen vd., 2000).



**Şekil 1.4.** *Pinus pinea*'nın genel görünüşü (Gaziantep Üniversitesi Kampüsü).

#### **1.1.1.5. *Pinus sylvestris* L. ( Sarıçam ):**

*Pinus sylvestris* 20-40 m'ye kadar boylanabilir ve tacı yayvandır (Seçmen vd., 2000). Tepesi sivri, gövdesi silindir ve dalları ince bir türdür (Akman ve Güney, 2006). Yapraklar tırtıklı olup genellikle 3-7 cm. uzunluğa sahiptir (Seçmen vd., 2000). En iyi gelişim gösterdiği alanlar kışı soğuk geçen ve yaz yağışı fazla olan karasal iklim bölgeleridir. -40 °C sıcaklıklara kadar dayanabilen Sarıçam ülkemizde oldukça soğuk bölgelerde geniş yayılış göstermektedir (Akman ve Güney, 2006).

Sarıçam toprak ve iklim özellikleri bakımından çok farklı alanlarda yayılışa sahiptir. Başka bir deyişle, Sarıçam kireçli, kumlu ve killi topraklardan, kuru ve ıslak topraklara; deniz ikliminden karasal iklimine kadar değişen ortam şartlarında yayılış gösterip gelişebilmektedir. Ancak, nem değişimlerine karşı duyarlıdır ve iyi gelişmesi için toprağın nemli olması gerekmektedir. İri kum taneli topraklar ve turbalıklarda sığ kök sistemi oluşturmakla beraber, çoğunlukla kazık kök sistemi meydana getirmektedirler (Gezer vd., 2002).



Türkiye’de Sarıçam Karadeniz ardı orman alanlarında toplanmış ve Orta Anadolu’ya kadar sokulmuştur. Akdeniz iklimini sevmeyen bu tür özellikle ılıman iklimlerde fazla yayılış göstermez. Işıklı ortamlarda iyi bir büyüme ve gelişme gösteren bu türün ışık ihtiyacı yetiştiği ortamın fakirliği oranında artış göstermektedir. Ülkemizde önemli ağaç türlerimizden olan Sarıçam, 738 192 hektarlık yayılışa sahip olup, ülkemiz ormanları arasında %5,5 alana sahiptir (Ercanlı vd., 2007). Sarıçamın Türkiye’de başlıca yayılış alanlarını İç Anadolu Bölgesindeki bazı dağlık sahalar, Kuzey Anadolu Dağlarının iç sıraları, Kuzeydoğu Anadolu Platoları ve bu platolar üzerinde yükselen dağlar oluşturmaktadır (Tozlu vd., 2010 ).

Özuslu (2004)’nun Gaziantep Üniversitesi kampüs florasını tespit etmek amacıyla yapmış olduğu çalışmada kampüs içerisinde *Pinus brutia*, *Pinus nigra* ve *Pinus pinea*’nın bulunduğu ifade edilmiştir.

*Pinus* türlerinin dünyanın her bölgesinde odun ve tohumlarından dolayı ekonomik olarak büyük bir öneme sahip olduğu bilinmektedir (Gernandt vd., 2005). Finlandiya gibi bazı Avrupa ülkelerinde bu bitkinin yaprakları ağrı kesici olarak kullanılmaktadır. Çamlardan elde edilen Pycnogenol bileşiğinin pek çok biyolojik aktivitesinin olduğu yapılan deneylerde belirlenmiştir (Rohdewald, 2002; Ansari vd., 2008; Khan vd., 2010; Maimoona vd., 2011). *Pinus* türlerinin yapısında pek çok fitokimyasal bileşiğin bulunduğu analizlerde tespit edilmiştir. Özellikle de sekonder metabolitler olan fenolik ve terpeni bileşikler bu fitokimyasalların en önemlileri arasında yer almaktadır.

## **1.2 Uçucu Yağlar**

Bitkilerin salgı hücreleri, salgı tüyleri ve salgı cepleri tarafından oluşturulan uçucu yağların işlevleri tam belli değildir. Ancak bu yağların böceklere karşı cezbedici, tozlaşmaya yardımcı ve koruyucu roller üstlendikleri tahmin edilmektedir. Bitkilerin coğrafik yayılışı düşünüldüğünde Akdeniz gibi sıcak iklim bölgelerinde yetişen bitkilerin uçucu yağ oranları yüksektir. Bu nedenle sıcak iklim bölgelerinde uçucu yağların su kaybını önledikleri düşünülmektedir (Tyler vd.,1981).

Çeşitli bitki türlerinden çözücü ekstraksiyonu, presyon ve buhar destilasyonu ile elde edilen uçucu yağlar, özellikle aroma kullanan ve üretenler için son derece önemli bir ham maddedir. Uçucu yağların meydana getirdiği kokular bitki türüne göre farklılık gösterir ve bu durum bitkilerin teşhis edilmesine yardımcı olur. Kokuların türlere göre farklılık göstermesinde çevre koşulları, iklim ve toprak şartları, hasat zamanı gibi faktörler etkilidir (Bayrak, 2006).

Uçucu yağların bitkilerdeki çeşitli işlevleri araştırmacıların merak konusu olmakla birlikte, farmakolojik özellikleri de incenmiş tıp, endüstriyel ve kozmetik alanlarda kullanılmasının faydalı sonuçlar doğurabileceği ifade edilmiştir ( Kırbağ ve Bağcı, 2000). Yapılan çalışmalar, uçucu yağların bazı mantar ve bakteri türleri üzerinde antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Bu nedenle uçucu yağların çeşit ve miktarını belirlemek için günümüzde pek çok bitki üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. Bu bağlamda Gymnospermler içerisinde yer alan Pinaceae familyasına ait türlerin uçucu yağ içeriği ile ilgili yapılan çalışmalarda, bu yağların reçine ile birlikte bulunduğu ifade edilmiştir (Bağcı ve Dığrak, 1997).

Uçucu yağların meydana gelmesinde dört grup kimyasal madde rol oynar. Bunlar genel formülü(C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>)<sub>n</sub> olan terpenler, oksijenli terpenoit türevleri, Benzenoit yapıdaki bileşenler ve Azot içeren bileşiklerdir. Özellikle terpenler uçucu yağların bir çoğunun yapısında yer alır. Terpenleri aşağıda verildiği gibi içerdikleri izopren ünitesi sayısına göre gruplandırmak mümkündür (Bayrak, 2006).

**Tablo 1.1** Terpenlerin sınıflandırılması

Sınıflandırma	İzopren üniteleri	Karbon atom numaraları
Monoterpenler	2	C <sub>10</sub>
Seskiterpenler	3	C <sub>15</sub>
Diterpenler	4	C <sub>20</sub>
Sesterterpenler	5	C <sub>25</sub>
Triterpenler	6	C <sub>30</sub>

### **1.3 Sekonder Metabolitler**

Bitkisel kimyasallar genel olarak primer ve sekonder metabolitler olmak üzere iki grupta incelenir.

Primer metabolitler (Karbonhidratlar, yağlar, proteinler vb.) doğada oldukça fazla miktarda bulunmakta olup, yüksek yapılı bitkilerin tohum ve vejetatif kısımlarında yoğun olarak bulunurlar (Oskay ve Oskay, 2009).

Sekonder metabolitler, Primer metabolitlerden biyosentetik yollarla üretilmekle birlikte, bitki metabolizmasındaki işlevleri kesin olarak bilinmemektedir. Ancak genelde tozlaşmada, çevresel koşullara uyumda, mikroorganizmada, böcek ve diğer predatörlere karşı kimyasal olarak savunmada görev alabilecekleri ifade edilmiştir (Oskay ve Oskay, 2009).

#### **1.3.1 Sekonder Metabolitlerin Sınıflandırılması**

Bitkisel kökenli sekonder metabolitler, terpenler, fenolik ve azotlu bileşikler olmak üzere üç sınıfta incelenir.

##### **1.3.1.1 Terpenler**

Terpenler sekonder metabolitlerin en geniş sınıfı olup, bitki büyüme ve gelişmesinde önemli işlevlere sahiptirler. Örneğin önemli bir bitkisel hormon olan gibberellinler diterpenler içerisinde yer alır. Diğer bir bitkisel hormon grubu olan, ABA, bir karotenoit öncülün parçalanması sonucu oluşan seskiterpen türevidir. Steroller hücre yapısında yer alan temel bileşen olup, triterpenlerden oluşmuşlardır. Fotosentezde yardımcı pigment işlevi gören ve fotosentetik dokuları fotooksidasyondan koruyan kırmızı, turuncu ve sarı renkli karotenoitler ise tetraterpenlerden oluşmuşlardır. Sonuç olarak çeşitli terpenler bitkilerde birincil derecede önemli görevler üstlenmişlerdir. Ancak bitkiler tarafından üretilen farklı terpen yapılarının büyük çoğunluğu sekonder metabolitlerdir ve bitki savunmasında önemli görev aldıkları düşünülmektedir (Taiz ve Zeiger, 2008).

Bitkilerde bulunan terpenlerin önemli bir işlevi de herbivorlara karşı savunmada görev almalarıdır. Çam ve köknar gibi konifer (kozalaklı) bitkilerin iğne yaprak, dal ve gövdelerinde bulunan reçine kanallarında biriken monoterenler, tüm dünyada konifere ciddi zararlar veren kabuk böcekleri (koşniller) de dahil çok sayıda böceklere toksik etki gösterirler ve böylece bitkiler zararlı böceklerden kendilerini korurlar (Trap ve Croteau, 2001).

### **1.3.1.2 Fenolik Bileşikler**

Bir veya daha fazla hidroksil grubunu içeren aromatik bir halkaya sahip bileşikler fenolik bileşik olarak adlandırılmaktadır (Shahidi ve Naczki, 1995). Fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteleri fenol halkasında bulunan –OH grubu sayısı arttıkça artmaktadır (Saldamlı, 2007).

Bitkisel fenoliklerin en büyük sınıfını flavonoidler oluşturmakta olup, dört ana flavonoid grubundan söz edilebilir. Bunlar antosiyaninler, flavonlar, flavonoller ve izoflavonlardır. Antosiyaninler pigment oluşturan flavonoidlerin en yaygın grubu olup, görsel ve kokusal sinyaller yayarlar. Çiçeklerde bulunan flavonlar ve flavonoller de önemli flavonoid grupları arasında yer alır. Bu flavonoidler, genellikle ışığın daha kısa dalga boylu olan spektrumunu soğururlar bu nedenle gözle görülmeleri mümkün değildir. Ancak arılarda olduğu gibi, insanlara göre daha kısa dalga boylu UV ışınlarını algılayabilen böcekler çekici işaretler olarak flavon ve flavonollerini algılayabilirler. Çiçek üzerinde yer alan flavonoller çoğu kez çizgiler, benekler veya iç içe daireler halinde simetrik desenler meydana getirir. Oluşan bu desenler böceklerin dikkatini çekmekte ve böylelikle polen veya nektarın yerini göstermede önemli role sahip oldukları ifade edilmektedir. Çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olan izoflavonoidlere ise baklagillerde bol miktarda rastlanmaktadır. Bu bileşiklerden bazıları (örneğin rotenoidler) böcek öldürücü, bazıları ise anti-östrojenik etki gösterirler. İzoflavonoidlerce zengin yonca yiyen koyunlarda kısırlık vakalarının fazla görüldüğü ifade edilmiştir (Taiz ve Zeiger, 2008).

### 1.3.1.3 Azotlu Bileşikler

Bu bileşikler arasında ilk akla gelenler alkaloitler, siyanojenik glikozitler, glukozinolatlar ve proteinlerde yer almayan (nonprotein) aminoasitler gibi çeşitli azotlu sekonder metabolitlerdir. Alkaloitlerin büyük bir kısmı bazik özellikte olup, toksisiteleri ve caydırıcı yetenekleri nedeniyle bir çok alkaloitin avcılara karşı savunmada önemli görevler üstlendiği düşünülmektedir. Otlatma sırasında fazla miktarda tüketilen acı bakla (*Lupinus*), hezaran (*Delphinium*) ve kanarya otu (*Senecio*) gibi alkaloit içeren bitkilerin Amerika Birleşik Devletlerinde çiftlik hayvanlarının önemli bir kısmında zehirlenmelere neden olduğu ifade edilmiştir. Tıpta kullanılan bitkisel kökenli alkaloitlere örnek olarak morfin, kodein ve skopolamin verilebilir (Taiz ve Zeiger, 2008).

Siyanojenik glikozitleri içeren bitkiler çeşitli tarım alanlarında yetiştirilmekte olup, hayvanlar tarafından aşırı miktarda tüketildiklerinde zehirlenmelere ve ölümlere neden olurlar (Conn, 1980). Siyanojenik glikozitlerin kendileri toksik olmamakla birlikte, üzerinde buldukları bitki ezildiği zaman parçalanarak toksik uçucu zehirler meydana getirirler. Zehirli gaz olan hidrojen siyanit (HCN)'in yayılmasını siyanojenik glikozitler sağlar (Taiz ve Zeiger, 2008).

### 1.3.2 Sekonder Metabolitlerin Ekonomideki Yeri

Sekonder metabolitler ekonomik açıdan düşünüldüğünde;

- 1-İlaç olarak kullanılan sekonder metabolitler,
- 2-Besin katkı maddeleri olarak kullanılan sekonder metabolitler,
- 3-Parfümeride kullanılan sekonder metabolitler,
- 4-Zirai mücadelede kullanılan sekonder metabolitler olmak üzere dört grupta incelenebilirler

**İlaç olarak kullanılan sekonder metabolitler:** Bitkiler ile ilgili erişilen ilk yazılı kaynaklardan da anlaşıldığı gibi ilk çağlardan buyana çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. Bugün dahi dünyanın bir çok ülkesinde bitkilerin ilaç ham maddesi olarak kullanıldığı görülmektedir. Bir bitkinin ilaç olarak adlandırılabilmesi için kontrollü ve yasal sınırlar dahilinde kullanılması gerekmektedir. Örneğin,

*Erytroxylum coca* 'dan elde edilen kokain, lokal anestezi için kullanılmakla beraber aynı zamanda yasa dışı olarak uyuşturucu ticaretinde de sıklıkla kullanılmaktadır (Taiz ve Zeiger, 2008).

**Besin katkı maddesi olarak kullanılan sekonder metabolitler:** Sentetik katkı maddelerinin mutajenik, karsinojenik ve teratojenik etkilerinin ortaya çıkışı ile birlikte büyük önem kazanmıştır. Et, süt, meyve, sebze, deniz ürünleri ve meşrubat sektörlerinde doğal ürünlere duyulan talepte artış gözlenmiştir. (Taiz ve Zeiger, 2008).

**Parfümeride kullanılan sekonder metabolitler:** Bitkisel kökenli ürünlerden özellikle parfüm olarak yararlanılması da çok eski tarihlere dayandığı düşünülmektedir. Örneğin, *Rosa* (gül) bitkisi türlerinden gül yağı, Lavandula bitkisinden lavanta ve *Jasminum* türlerinden yasemin ilk çağlardan beri bilinen ve bugün bile parfüm ve kozmetik sanayinde önemli yere sahip ürünler arasında yer almaktadır (Türküsay ve Onoğur, 1998; Oskay ve Oskay, 2009).

**Zirai mücadelede kullanılan sekonder metabolitler:** Bitkisel kökenli doğal ürünlerin son yıllarda zirai mücadele amacıyla da kullanıldığı görülmektedir. Bunlar içerisinde *Chrysanthemum cinerariaefolium* çiçeklerinden elde edilen ve insektisit olarak kullanılan piretrinler dikkat çekici sekonder metabolitler olarak akla gelmektedir (Türküsay ve Onoğur, 1998; Taiz ve Zeiger, 2008; Oskay ve Oskay, 2009).

#### **1.4 Antioksidanlar**

Serbest radikaller, dış atomik orbitallerinde bir veya daha fazla çift oluşturmamış elektron içeren yüksek enerjili, stabil olmayan bileşiklerdir. Bu çiftlenmemiş elektron serbest radikallere büyük bir reaktivite kazandırarak protein, lipid, DNA ve nükleotid koenzimler gibi birçok biyolojik materyale zarar vermelerine neden olmaktadır. Bununla birlikte bu bileşikler kendi başlarına zararlı olmakla birlikte oksijen ile reaksiyona girerek daha zararlı olan hidroksil radikali, süperoksit radikali ve radikal olmayan ancak oksijen radikallerinin oluşumunda önemli rol oynayan hidrojen peroksit gibi bileşikleri meydana getirirler. Oksijen canlıların yaşamı için gerekli

olan en önemli maddedir ancak normal metabolizma sırasında üretilen bazı reaktif oksijen türleri canlı dokusuna zarar verme potansiyeline sahiptirler (Diplock 1998). Bu radikaller bitkilerde bazı fizyolojik olayların gerçekleşmesi için çoğu durumda uyarıcı roller üstlenirler. Bitkilerde tohumun çimlenmesi, kökün saçak oluşumun uyarılması ve patojenlere karşı yapılan savunma bu olaylara örnek gösterilebilir. Buna ek olarak bazı durumlarda mitokondriden oksijen sızmaları durumunda da tehlikeli oksijen radikalleri meydana gelebilir. Bu bileşiklerin dokularda sentezlenmesinin yanı sıra bunların dokulara vereceği zararların önlenmesi için bunların hemen ortamdaki kaldırılması esastır. Bunun için canlı dokularda bir takım savunma molekülleri sentezlenmektedir. Bu bileşikler “Antioksidan bileşikler” olarak isimlendirilirler. Antioksidan bileşikler enzimsel ve enzimsel olmayan bileşikler olarak iki ana grupta incelenirler;

#### **1.4.1 Enzimsel Antioksidanlar**

Canlılarda serbest oksijen radikallerinin ortamdaki temizlenmesini sağlayan protein kökenli bileşiklerdir. Bu enzimler Süperoksit dismutaz, Monodehidroksi askorbat redüktaz, Aspartat peroksidaz, Glutatyon redüktaz, ve katalaz şeklinde sıralanabilir (Noctor ve Foyer, 1998).

#### **1.4.2 Enzimsel Olmayan Antioksidanlar**

Bu grupta yer alan bileşikler, askorbat, tokoferol, fenolik bileşikler (fenolik asitler, flavonoid flavanoller, flavonlar vb.) ve terpenler (karoten) şeklinde sıralanabilir. Bu bileşikler içerisinde antioksidan aktivite anlamında en etkili grup fenolik bileşiklerdir.

Hem enzimatik hem de enzimatik olmayan antioksidan bileşikler serbest radikalleri aşağıdaki yollarla etkisiz hale getirirler;

- 1- Serbest radikallerin ortamdaki doğrudan temizlenmesi (süpürücü etki),
- 2- Metallerin şelatlanması yoluyla serbest radikallerin oluşumunda önemli rol oynayan Fenton ve Haber-Weis reaksiyonlarına ket vurma yoluyla,

- 3- Lipit peroksitlerin oluşmasını engellemek için başlangıç lipit radikallerinin ortamdaki uzaklaştırılması,
- 4- Zincir reaksiyonlarına ket vurma ve baskılama yolu (Dorman vd., 2003).

Günümüzde bitkilerin antioksidan aktiviteleri üzerine pek çok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalar 20. yüzyılın ilk yarısında başlamakla birlikte, özellikle BHT, BHA ve TBHQ gibi sentetik antioksidanların üretilmesi ve besin maddelerinde kullanılması sonucunda insan sağlığına zararlı etkilerin oluşması ile doğal kökenli antioksidanlara ilgi büyük oranda artmıştır. Bunun için pek çok bitki ailesine ait türlerden bu bileşikler elde edilme yoluna gidilerek kullanılmaya başlanmıştır.

Bu bağlamda çalışmamızda, Gaziantep ilinde yetişen *P. brutia*, *P. halepensis*, *P. nigra* ve *P. pinea* olmak üzere dört farklı çam türünün antioksidan aktiviteleri ve bu aktivitelerden sorumlu bileşiklerinin tespiti yapılmıştır. Antioksidan testler için DPPH yakalama, demir indirgeme gücü ve metal şelatlama aktivite testleri yapılmıştır. Çam türlerinden elde edilen özütlerin total fenolik içerikleri hesaplanmış ve uçucu yağların GC-MS analizleri ile yağ bileşenleri belirlenmiştir. Bu sayede aktiviteye sahip alternatif doğal ürünlerin belirlenmesi ve literatüre sunulması açısından önemli bir boşluğun doldurulması amaçlanmaktadır.



## BÖLÜM 2

### ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Üstün vd. (2012)'nin yaptıkları çalışmada *Pinus* türlerinin (*P. brutia*, *P. halepensis*, *P. nigra*, *P. pinea*, ve *P. sylvestris*) özüt ve uçucu yağlarının antioksidan ve asetilkolinesteraz aktiviteleri ile kimyasal kompozisyonları tespit edilmiştir. Bitki örnekleri aseton, etil asetat ve etanol ile özütleme işlemine tabi tutulmuştur. Antioksidan aktiviteler DPPH radikal yakalama, demir indirgeme gücü, metal şelatlama ve DMPD yakalama deneyleri ile belirlenmiştir. Buna ek olarak total fenolik ve flavonoid içerikleri de tespit edilmiştir. Yapılan metanol şelatlama deneyinde en yüksek aktiviteyi *P. nigra*'nın aseton özütü sergilemiştir. Uçucu yağlar içerisinde en yüksek aktiviteyi *P. sylvestris* sergilemiştir. En yüksek fenolik içeriği yine bu bitkinin etanol özütünde tespit edilmiştir. En yüksek flavonoid içeriği *P. halapensis*'de tespit edilmiştir. DPPH radikal yakalama deneyinde en yüksek aktivite *P. sylvestris*'in etanol özütünde belirlenmiştir. DMNP yakalama deneyinde en yüksek aktivite yine bu bitkinin aseton özütünde belirlenmiştir.

Hui-Chen vd. (2011)'nin yaptığı çalışmada *Pinus morrisonicola*'nın antioksidan aktivitesi ve mutajenitesi tespit edilmiştir. Bu deneyler için bitkinin yaprakları toz haline getirilmiş ve % 95'lik etanol ile 25 °C'de özütleme işlemi yapılmıştır. *Salmonella typhimurium*'ın DNA'sı üzerine yapılan Ames testinde bu bitki özütünün toksik ya da mutajenik bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Antioksidan testler için DPPH radikal yakalama testi ve demir indirgeme gücü testi kullanılmıştır. Bu deneylerde kontrol olarak kullanılmış ve bitki özütünün yapılan antioksidan deneylerde kontrolden daha yüksek seviyede aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

Yu-Su vd. (2009) *Pinus koraiensis*'in tohum özütlerinin *in vivo* ve *in vitro* antioksidan radikal yakalama aktivitelerini çalışmışlardır. *In vivo* testler için rat

ciğerlerinde lipit peroksidasyonunun inhibisyonu ve rat kanlarında eritrositlerin hemolisis'in inhibisyonunu ve in vitro testler için OH yakalama, süperoksit radikal yakalama, DPPH süpürücü ve demir indirgeme gücü deneylerini uygulamışlardır. Bu türün tohumlarının total fenolik içeriği 264 mg/g GAE olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte bu özütün oldukça yüksek in vitro antioksidan aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Buna ek olarak bu tohum özütünün *in vivo* deneylerde önemli baskılayıcı etkiler sergilediği de yapılan testlerde bulunmuştur.

Jerez vd. (2007)'nin *Pinus pinaster* ve *Pinus radiata*'nın özütlerinin antioksidan aktiviteleri ve kimyasal kompozisyonları üzerine yaptıkları çalışmada, bu türlerin etanol özütlerinin su ve etil asetat fraksiyonlarının antioksidan aktiviteleri değerlendirilmiştir. Yapılan fenolik bileşik belirleme testinde *P. radiata*'nın total fenoliklerinin diğer türün etanol özütünden yüksek olduğu belirlenmiştir. Buna paralel olarak antiradikal yakalama aktivitesinin de *P. radiata*'da daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte *P. radiata*'nın alt fraksiyonlarının total fenolik içerikleri ve antiradikal yakalama aktivitelerinin *P. pinaster*' den daha yüksek olduğu rapor edilmiştir.

Dob vd. (2007)'nin Cezayirde yetişen bir çam türü olan *P. halepensis*'nin uçucu yağ bileşiklerini belirleme testinde GC-MS analizleri sonucunda 41 bileşik tespit edilmiştir. Analiz edilen yağın ana bileşenleri % 19,8–25,8  $\beta$ -caryophyllene, %6,2  $\alpha$ -humulene ve % 8,5 aromadendrene olarak tespit edilmiştir.

Pinelo vd. (2004)'nin yaptığı çalışmada *Prunus amygdalus* ve *Pinus pinaster*'in antioksidan aktivitesi tespit edilmiştir. Bu bitkilerin aktiviteler için yaprakları asitlendirilmiş su, etanol ve metanol ile özütleme işlemine tabi tutulmuşlardır. Yapılan total fenolik belirleme testinde en yüksek fenolik içeriğinin solventler arasında metanol özütünde olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte DPPH radikal yakalama testinde etanol ve metanol özütleri aktivite sergilerken asitlendirilmiş su özütünün aktivite sergilemediği belirlenmiştir. Ek olarak metanol özütünün etanol özütünden daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. *Prunus*'un radikal yakalama aktivitesinin *Pinus*'dan daha yüksek olduğu da bu raporda bildirilmiştir.

Gülçin vd. (2003a)'nin *Pinus nigra* subsp. *Pallasiana* üzerine yaptıkları çalışmada bu türün antioksidan ve analjezik aktivitelerini tespit yoluna gitmişlerdir. Antioksidan aktivitelerin belirlenmesi için total antioksidan kapasitesi, demir gücü indirgeme, hidroksil peroksit süpürücü aktivitesi, metal şelatlama ve süperoksit anyon radikal yakalama testleri kullanılmıştır.  $\alpha$ -tokoferol gibi antioksidan kapasitesi yüksek olan bir bileşikten daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Özellikle konsantrasyon artışlarında aktivitelerin de paralel olarak arttığı rapor edilmiştir. Ayrıca bu deneylerin tümü arasında pozitif şekilde bir korelasyon tespit etmişlerdir. Yine bu deneyde bu bitki türüne ait özütün güçlü analjezik aktiviteye sahip olduğu da belirlenmiştir.

Packer vd. (1999) yaptıkları derleme çalışmasında *Pinus maritima*'nın antioksidan aktivitelerini ve biyolojik özelliklerini belirtmişlerdir. Bu bitkinin pek çok flavonoid bileşiği bünyesinde bulundurduğu ve başta antioksidan aktivite olmak üzere pek çok biyolojik aktiviteye sahip olduğu da raporda bildirilmiştir.

## BÖLÜM 3

### MATERYAL VE METOT

#### 3.1 Bitki Örneklerinin Toplanması

Bu çalışmada kullanılan *Pinus* cinsine ait 4 tür 2011 Şubat ayı içerisinde Gaziantep Üniversitesi Kampüsünden toplanmıştır. Toplanan bitkilerin yaprakları dallarından ayrılarak; yapraklar oda sıcaklığında, güneş görmeyen hava akımının olduğu aydınlık bir ortamda 10 gün boyunca kurutulmuştur. Kurutulan örnekler makas aracılığı ile küçük parçalara ayrılıp toz haline getirilmiştir.

#### 3.2 Metanol Özütlerinin Hazırlanması

Kurutulan çam yaprakları toz haline getirildikten sonra selülozdan yapılmış olan ekstraksiyon kartuşuna doldurulmuştur. Bu kartuş da soxhlet cihazının ekstraksiyon kolunun içine yerleştirilmiştir. İçine metanol konulan cam balonlar ekstraksiyon koluna bağlanmıştır. Örnekler 6 saat 60°C'de metanol ile özütleme işlemine maruz bırakılmıştır. Özütler elde edildikten sonra, özütlerin metanolleri evaporatör (50 °C'de) cihazında uzaklaştırılmıştır. Son olarak metanol özütleri oda sıcaklığında ve karanlıkta testler için 7 gün beklemeye alınmıştır.

#### 3.3 Uçucu Yağların Elde Edilmesi

Gölge ortamda kurutulan çam yaprakları toz haline getirilmiş ve erlenmayer içerisine doldurulmuştur. Erlenmayer üzerine saf su ilave edildikten sonra Clevenger-tipi alet kullanılarak bitki örnekleri 4 saat süresince su distilasyonuna tabi tutulmuştur. Örneklerden elde edilen yağların içerisindeki su sodyum sülfat kullanılarak alınmıştır. Uçucu yağlar kimyasal kompozisyonları belirlenene kadar +4 °C'de bekletilmiştir.



**Şekil 3.1.** A) Total fenoliklerin belirlenmesi; B) Clevenger ile uçucu yağların elde edilmesi; C) *Pinus* metanol özütlerinin evaporatör ile yoğunlaştırılması; D) *Pinus* yapraklarının Soxhlet cihazı ile özütlenmesi

### 3.4 Antioksidan Aktivite Testleri

#### 3.4.1 DPPH Temizleme Deneyi

Uçucu yağlar ve metanol özütlerinin DPPH radikal yakalama aktivitesi Hatano vd. (1988)'nin metoduna göre belirlenmiştir. Çeşitli konsantrasyonlarda hazırlanan örneklerin (0,2-1,0 mg ml<sup>-1</sup>) 1 ml'si ile DPPH solüsyonunun 1 ml'si karıştırılmıştır. (DPPH'in final konsantrasyonu 0,2 mM olacak şekilde hazırlanmıştır). Kuvvetlice çalkalanan karışım 30 dakika bekletildikten sonra 517 nm de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Pozitif kontrol olarak BHT ve BHA kullanılmıştır (0,2 mg/ ml).



**Şekil 3.2.** DPPH radikalinin oluşturduğu mor rengin ortamda bulunan antioksidan bir maddeyle etkileşime girdikten sonra sarı renge dönüşmesi.

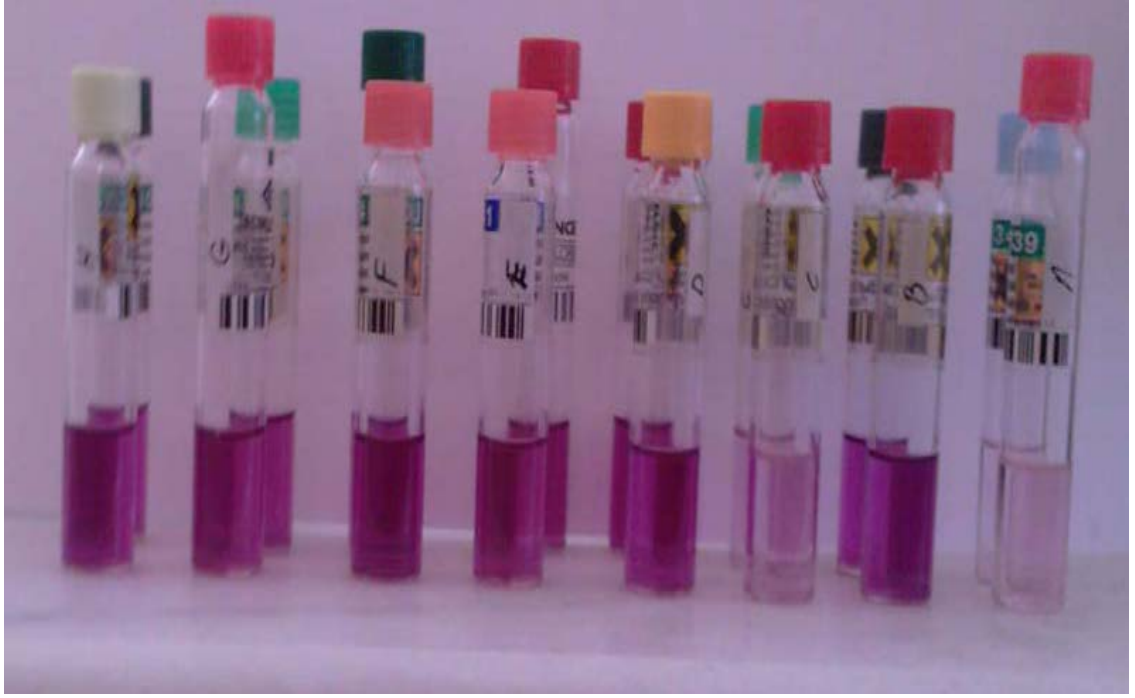
### 3.4.2 Demir İndirgeme Gücü Aktivitesi

Uçucu yağ ve metanol özütlerinin demir indirgeme gücü aktivitesi Oyaizu (1986)'nin metoduna göre belirlenmiştir. Bu metoda göre her bir örneğin (0,2-0,8 mg/ml) 0,5 ml'si 200 mM sodyum fosfat tamponu (pH 6,6) ve % 1'lik potasyum ferrisiyanat'ın 0,5 ml'si ile karıştırılmış ve 20 dakika 50 °C'de inkübe edilmiştir. Daha sonra % 10'luk trikloroasetik asit'in 2,5 ml eklenmiş ve 2,5 ml distile su ile 0,4 ml % 1'lik ferrik klorit ile reaksiyon oluşturulmuştur. Sonuç olarak 700 nm'de spektrofotometrede okunmuştur. BHT ve BHA aynı konsantrasyonlarda kontrol olarak kullanılmıştır.

### 3.4.3 Metal Şelatlama Aktivitesi

Özütlerin metal şelatlama aktiviteleri Dinis vd. (1994)'nin metoduna göre belirlenmiştir. 1 mg/ml konsantrasyondaki özütlerin 2 ml'si, 2 mM FeCl<sub>2</sub> (0,05 ml)

ile karıştırılmıştır. 5 mM ferrozin'in 0,2 ml'si reaksiyonun başlatılması için bu karışıma eklenmiştir. Daha sonra, iyice çalkalanan karışım 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bekletilen karışım 562 nm'de bir blank (ferrozin içermeyen reaksiyon ortamı=2ml metanol, 2 mM 0,05 ml FeCl<sub>2</sub> ve 0,2 ml distile su)'a karşı okutulmuştur . Kontrol olarak Na<sub>2</sub>EDTA kullanılmıştır.



Şekil 3.3.Metal şelatlama aktivitesinde renk değişimi

### 3.5. Total Fenolik Miktarı Belirleme

Total fenolik miktarı Yu ve ark (2002)'nin metodu kullanılarak belirlenmiştir. Deneyde 100 µl bitki özütü 1 ml saf su ile tamamlanmıştır. Üzerine 0,5 ml Folin–Ciocalteu (1:1) ajanı eklenip iyice karıştırılmıştır. Daha sonra üzerine 1,5 ml % 20'lik sodyum karbonat (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) çözeltisi eklenmiştir. Karışıma 10 ml distile su eklendi ve oda sıcaklığında 2 saat beklemeye alınmıştır. Daha sonra 765 nm de okunmuştur. Hesaplama Gallik asit standart eğrisinden bulunmuş ve sonuçlar mg/g olarak belirlenmiştir.

### **3.6. GC/MS Analizleri**

Uçucu yağ özütlerinin kimyasal bileşenleri GC/MS-hp 6890/5972 cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Enjektör ve dedektör sıcaklıkları sırasıyla 250°C ve 280°C olarak ayarlanmıştır. Taşıyıcı gaz olarak akış hızı 1 ml/dk olan helyum kullanılmıştır. Kolon başlangıç sıcaklığı 50°C iken 2°C/dak. hızla 210°C'ye kadar yükseltilmiştir (Adams, 2007).



## BÖLÜM 4

### BULGULAR

Materyal ve metot kısmında bahsedilen metotlar kullanılarak *Pinus* türlerinden özütler elde edilmiş ve ilgili parametreler ile hem antioksidan aktiviteler hem de bu aktivitelerden sorumlu/sorumlu olmayan bileşiklerin tanımlaması yoluna gidilmiştir.

#### 4.1. Antioksidan Aktivitelerin Belirlenmesi

##### 4.1.1. DPPH Temizleme Deneyi

Tez kapsamında çalışılan bitkilerden elde edilen metanol ve uçucu yağ özütlerinin DPPH anyon radikal yakalama aktiviteleri ölçülmüştür. Özütlerin konsantrasyona bağlı DPPH anyon radikal yakalama aktiviteleri Tablo 4.1’de verilmektedir.

**Tablo 4.1.** *Pinus* türlerine ait metanol ve uçucu yağ özütlerinin DPPH serbest radikal yakalama aktiviteleri.

Bitkiler	Özüt tipi	Konsantrasyon		
		0,2 mg/ml	0,5 mg/ml	1,0 mg/ml
<i>Pinus brutia</i>	uçucu yağ	1,79±0,69	3,41±0,23	4,22±0,00
<i>Pinus halepensis</i>	uçucu yağ	1,79±0,23	2,01±0,05	3,41±1,15
<i>Pinus nigra</i>	uçucu yağ	2,68±0,11	3,41±0,23	12,18±11,71
<i>Pinus pinea</i>	uçucu yağ	1,62±0,46	2,11±0,23	3,41±1,15
<i>Pinus brutia</i>	Metanol	27,52±0,44	53,73±1,15	85,02±0,80
<i>Pinus halepensis</i>	Metanol	43,15±3,17	93,31±0,37	93,91±0,02
<i>Pinus nigra</i>	Metanol	34,09±2,11	68,88±0,71	92,53±0,46
<i>Pinus pinea</i>	Metanol	27,95±0,87	62,92±0,55	91,49±0,55
BHT		77,82±0,14		
BHA		97,18±0,18		

Sonuçlar % değer üzerinden konsantrasyona bağlı olarak hesaplanmıştır. Konsantrasyonlar uçucu yağlar için µl/ml ve metanoller için mg/ml’dir.

DPPH yakalama aktivite deneyi sonucunda en yüksek aktivitenin konsantrasyona bağılı olarak metanol özütlerinde olduğu görülmektedir. Konsantrasyon arttıkça antioksidan aktivitenin arttığı gözlenmiştir. Bununla birlikte metanol özütleri içerisinde en yüksek yakalama aktivitesi *P. halepensis*'de (% 93,91±0,02) tespit edilmiştir. Tabloya bakıldığında diğer türlerin yakalama aktivitelerinin de bu türe yakın olduğu görülmektedir. Ayrıca bu değer kontrol olarak kullanılan BHA'ya en yakın değerdir. Buna ek olarak en düşük aktivite *P. brutia* tarafından sergilenmiştir. Uçucu yağ özütleri incelendiğinde en yüksek aktivitenin *P. nigra*'da olduğu belirlenmiştir. Fakat bu değer kontrol olarak kullanılan BHT ve BHA ya göre düşük aktiviteler sergilemişlerdir.

#### 4.1.2. Demir İndirgeme Gücü Aktivitesinin Belirlenmesi

Tablo 4.2 metanol özütlerinin ve uçucu yağların demir indirgeme gücü aktivitelerini göstermektedir. Tablo incelendiğinde yine DPPH deneyinde olduğu gibi en yüksek aktivitenin metanol özütlerinde olduğu görülmektedir.

**Tablo 4.2.** *Pinus* türlerine ait metanol ve uçucu yağ özütlerinin demir indirgeme gücü aktiviteleri

Bitkiler	Özüt tipi	Konsantrasyonlar		
		0,2 mg/ml	0,4 mg/ml	0,8 mg/ml
<i>Pinus brutia</i>	uçucu yağ	0,046±0,000	0,059±0,002	0,088±0,005
<i>Pinus halepensis</i>	uçucu yağ	0,022±0,006	0,035±0,005	0,042±0,000
<i>Pinus nigra</i>	uçucu yağ	0,046±0,009	0,075±0,002	0,174±0,008
<i>Pinus pinea</i>	uçucu yağ	0,019±0,002	0,024±0,001	0,032±0,003
<i>Pinus brutia</i>	metanol	0,119±0,009	0,228±0,001	0,438±0,008
<i>Pinus halepensis</i>	metanol	0,236±0,010	0,496±0,000	0,914±0,008
<i>Pinus nigra</i>	metanol	0,163±0,002	0,320±0,005	0,586±0,008
<i>Pinus pinea</i>	metanol	0,154±0,016	0,296±0,006	0,542±0,031
BHT		1,608±0,004	2,621±0,006	>4,000
BHA		2,013±0,018	3,434±0,005	>4,000

Sonuçlar absorbans (700 nm) değer üzerinden konsantrasyona bağılı olarak hesaplanmıştır. Konsantrasyonlar uçucu yağlar için µl/ml ve metanoller için mg/ml'dir.

Metanol özütlerinin aktiviteleri kendi aralarında sıralandığında sıralama *P. halepensis*>*P. nigra*>*P. pinea*>*P. brutia* şeklinde olmaktadır. Konsantrasyon artışına gidildikçe aktivitenin buna bağlı olarak arttığı görülmektedir.

Uçucu yağ özütleri içerisinde en yüksek aktivite *P. nigra* tarafından sergilenmiştir. En düşük aktivite ise *P. pinea*'da gözlenmiştir. Buna ek olarak kontrollere göre kıyaslandığında uçucu yağların çok düşük aktivite sergilediği görülmektedir. Her DPPH ve demir indirgeme gücü aktivite deneylerinde kontrol olarak kullanılan sentetik antioksidan BHA diğer kontrol BHT'ye göre daha yüksek aktivite sergilemiştir.

#### 4.1.3. Metal Şelatlama Aktivitesinin Belirlenmesi

Metal şelatlama aktivitesi *in vitro* olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular Tablo 4.3'de verilmektedir. DPPH ve demir indirgeme gücü deneyinin aksine metanol özütlerinin bu deneyde daha düşük aktivite sergilediği görülmektedir. Bununla birlikte bu deneyde en yüksek metal şelatlama aktivitesini *P. brutia*'ya ait uçucu yağ özütü (% 94,30) sergilemiştir. Bu değer kontrol olarak kullanılan Na<sub>2</sub>EDTA'ya en yakın değerdir. Uçucu yağlar arasında en düşük aktivite *P. pinea*'da gözlenmiştir.

**Tablo 4.3.** *Pinus* türlerine ait metanol ve uçucu yağ özütlerinin metal şelatlama aktiviteleri

Bitkiler	Özüt tipi	% Şelatlama aktivitesi
<i>Pinus brutia</i>	uçucu yağ	94,30±0,23
<i>Pinus halepensis</i>	uçucu yağ	18,01±0,32
<i>Pinus nigra</i>	uçucu yağ	88,05±0,59
<i>Pinus pinea</i>	uçucu yağ	17,69±0,05
<i>Pinus brutia</i>	Metanol	21,59±0,46
<i>Pinus halepensis</i>	Metanol	5,57±0,87
<i>Pinus nigra</i>	Metanol	21,33±2,19
<i>Pinus pinea</i>	Metanol	1,22±0,46
Na <sub>2</sub> EDTA		99,01±0,17

Sonuçlar % değer olarak hesaplanmıştır. Konsantrasyonlar uçucu yağlar için 1µl/ml ve metanoller için 1mg/ml'dir.

Tablo incelendiğinde metanol özütleri içerisinde en yüksek aktivitenin yine *P. brutia* tarafından sergilendiği görülmektedir. Ancak kontrol ve uçucu yağla kıyaslandığında düşük bir aktivite sergilediği anlaşılmaktadır. Ayrıca tüm özütler arasında en düşük aktiviteyi *P. pinea*'nın metanol özütünün sergilediği görülmektedir.

#### 4.2. *Pinus* Türlerine Ait Total Fenolik Miktarlarının Belirlenmesi

Folin–Ciocalteu ajanı total fenolikleri belirlemek için kullanılmıştır. Fosfomolibdik ve fosfotungstik heteropoli asitlerden biçimlenmiş kompleks polimer iyonları içeren sarı asidik bir solüsyon olan bu ajan fenolikler ile etkileşime girdiğinde reaksiyon ortamında molibden-tungsten mavisi meydana getirir. Kuru bitkilerdeki total fenolik içeriği gallik asit eşitliğinin kullanılmasıyla belirlenmiştir (mg GAE/g).

Bu metoda göre metanol özütlerinin total fenolik içerikleri 303,3 mg GAE/g'den 200,5 mg GAE/g aralığında belirlenmiştir. En yüksek total fenolik miktarı *P. nigra*'da tespit edilirken en düşük içerik *P. halepensis*'te gözlenmiştir. Total fenoliklerin içeriği Tablo 4.4'de verilmektedir.

**Tablo 4.4.** *Pinus* türlerine ait total fenolik içerikleri

Metanol özütü	Toplam fenolik içerikler mg GAE/g
<i>Pinus brutia</i>	215,7
<i>Pinus halepensis</i>	200,5
<i>Pinus nigra</i>	303,3
<i>Pinus pinea</i>	248,5

#### 4.3. Uçucu Yağların GC/MS Analiz Bulguları;

Hidro-distilasyon metodu ile Clevenger cihazında elde edilen uçucu yağların bileşikleri GC-MS cihazı ile belirlenmiş ve bu bileşiklerin terpen gruplarına göre sınıflandırılması yapılmıştır.

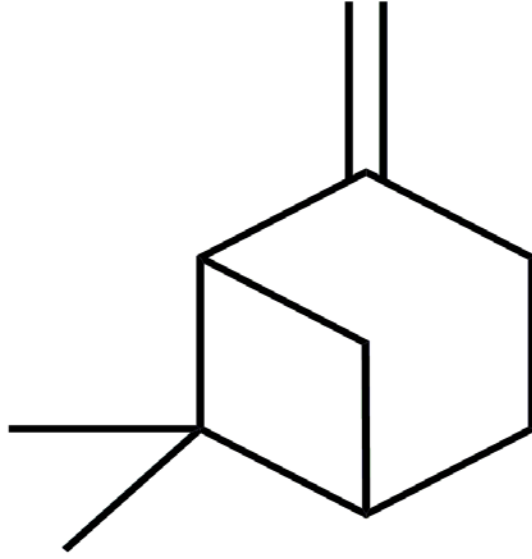
##### 4.3.1. *Pinus brutia*'nın Uçucu Yağ Bileşenleri

*P. brutia*'nın uçucu yağ analizleri sonucunda uçucu yağın toplam % 98,15'i tanımlanmıştır. Bu yağa ait toplam 30 bileşik tespit edilmiş ve bu bileşikler Tablo

4.5'de verilmiştir. Bu uçucu yağın oran olarak en büyük kısmını % 61,91 ile monoterpen hidrokarbonlar oluşturmaktadır. Bu bileşenleri % 30,5 ile seskiterpen hidrokarbonlar oluşturmaktadır. Yağın ana bileşenlerini  $\beta$ - pinene (% 40,03),  $\alpha$ - pinene (%15,42),  $\beta$ -caryophyllene (% 12,05) ve Germacrene-d (% 8,88) olarak sıralamak mümkündür.

**Tablo 4.5.** *P. brutia*'nın uçucu yağ kompozisyonu

No	Alınma Zamanı	Bileşğin Adı	Kompozisyon( % )
1	7.57	$\alpha$ -pinene	15,42
2	8.12	Camphene	0,3
3	9.79	$\beta$ - pinene	40,03
4	10.56	$\beta$ -Myrcene	1,64
5	11.37	$\delta$ -3-carene	0,64
6	12.49	$\beta$ - phellandrene	2,5
7	13.87	Trans- $\beta$ -ocimene	1,38
8	16.12	Terpinolene	0,39
9	17.79	Linalool	0,23
10	27.82	Linalyl acetate	3,94
11	29.32	(-)-Bornyl acetate	0,38
12	31.76	(+)-2-Carene	1,82
13	32.31	$\alpha$ -copaene	0,19
14	32.52	$\beta$ -bourbonene	0,33
15	32.76	$\beta$ - elemene	0,28
16	32.95	Junipene	0,45
17	33.38	$\beta$ -caryophyllene	12,05
18	33.51	Germacrene d	0,28
19	34.01	$\beta$ -selinene	2,79
20	34.14	Trans- $\beta$ -farnesene	0,1
21	34.26	Cis-caryophyllene	0,65
22	34.56	Germacrene-d	8,88
23	34.84	$\alpha$ -muurolene	0,29
24	34.92	Germacrene a (Cas)	0,35
25	35.06	$\gamma$ -cadinene	0,2
26	35.21	$\delta$ -cadinene	0,41
27	35.50	Cis- $\alpha$ -bisabolene	1,43
28	36.10	Caryophyllene oxide	0,35
29	39.09	Farnesol isomer b	0,28
30	43.92	9-Hexadecenoic acid (Cas)	0,17
<b>Bileşik grupları</b>			
		Monoterpen hidrokarbonlar	61,91
		Oksijenlenmiş monoterpenler	4,94
		Seskiterpen hidrokarbonlar	30,5
		Oksijenlenmiş seskiterpenler	0,35
		Diğer	0,45
<b>TOPLAM</b>			<b>98,15</b>



**Şekil 4.1.** *P. brutia*'nın ana bileşiği  $\beta$ - pinene'nin kimyasal yapısı (tr.wikipedia.org).

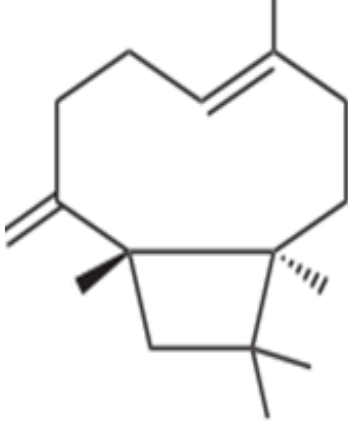
#### **4.3.2. *Pinus halepensis*'in Uçucu Yağ Bileşenleri**

Yapılan uçucu yağ analizleri sonucunda *P. halepensis*'e ait toplam 35 bileşik tespit edilmiş ve bu bileşikler toplam yağın % 95,32'sini oluşturmaktadır (Tablo 4.6). Bu uçucu yağın oran olarak en büyük kısmını % 42,66 ile monoterpen hidrokarbonlar oluşturmaktadır. Bu bileşik grubunu % 39,57'lik oran ile seskiterpen hidrokarbonlar takip etmektedir. Bileşik grupları içerisinde en düşük yüzdeyi oksijenli seskiterpenler oluşturmaktadır. Yağın ana bileşenleri  $\beta$ -Caryophyllene (% 25,98), Myrcene (% 15,46),  $\alpha$ - Pinene (% 11,08) ve Sabinene (% 10,23) olarak sıralanmıştır.

**Tablo 4.6.** *P. halepensis*'in uçucu yağ kompozisyonu

No	Altkonma Zamanı	Bileşğin Adı	Kompozisyon ( % )
1	7.10	$\alpha$ - Phellandrene	0,3
2	7.39	$\alpha$ - Pinene	11,08
3	7.98	Camphene	0,1
4	9.34	Sabinene	10,23
5	10.51	Myrcene	15,46
6	11.26	$\delta$ -3-Carene	2,64
7	11.65	$\alpha$ -terpipene	0,18
8	12.34	$\beta$ -Phellandrene	1,47
9	13.76	Trans- $\beta$ -Ocımene	0,88
10	14.23	$\gamma$ -Terpinene	0,32
11	16.11	Terpinolene	9,14
12	22.24	Terpinonene-4-ol	0,16
13	31.23	$\delta$ -Elemene	0,1
14	31.59	$\alpha$ -Cubebene	0,1
15	32.27	$\alpha$ -Copaene	0,65
16	33.37	$\beta$ -Caryophyllene	25,98
17	33.69	Cis-Caryophyllene	0,11
18	33.79	$\alpha$ -Muurolene	0,2
19	33.99	$\alpha$ -Humulene	5,65
20	34.09	(Z) - $\beta$ -Farnesene	0,44
21	34.24	Trans-Caryophyllene	0,26
22	34.42	Naphthalene	0,28
23	34.49	Germacrene-d	1,75
24	34.67	(-)-Isoledene	0,41
25	34.75	Phenylethyl 2-Methylbutyrate	1,32
26	34.83	$\alpha$ -Muurolene	1,16
27	35.05	$\alpha$ -Amorphene	0,22
28	35.21	$\delta$ -Cadinene	0,66
29	35.49	Cis- $\alpha$ -Bisabolene	0,28
30	36.12	Caryophyllene Oxide	0,4
31	36.79	Guaiol	0,58
32	37.58	Calarene	0,21
33	40.30	Cembrene	0,22
34	42.79	Thunbergol	0,7
35	44.08	9-Octadecenoic acid(Z)-(CAS)	1,68
<b>Bileşik grupları</b>			
		Monoterpen hidrokarbonlar	42,66
		Oksijenlenmiş monoterpenler	9,3
		Seskiterpen hidrokarbonlar	39,57
		Oksijenlenmiş seskiterpenler	1,41
		Diğer	2,38
<b>TOPLAM</b>			<b>95,32</b>





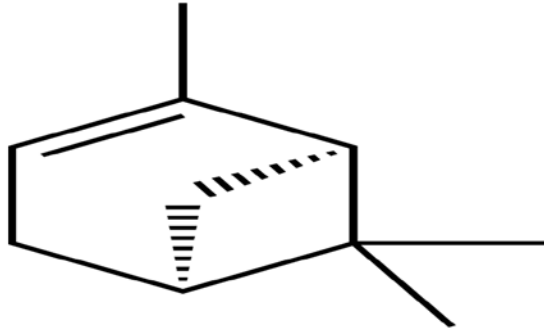
**Şekil 4.2.** *P. halepensis*'in uçucu yağ ana bileşeni  $\beta$ -Caryophyllene'nin kimyasal yapısı (tr.wikipedia.org).

#### 4.3.3. *Pinus nigra*'nın Uçucu Yağ Bileşenleri

*P. nigra*'nın uçucu yağ analizleri sonucunda uçucu yağın toplam % 92,57'si tanımlanmıştır. Bu yağta ait toplam 29 bileşiğin olduğu tespit edilmiş ve bu bileşikler Tablo 4.7 de verilmiştir. Bu uçucu yağın oran olarak en büyük kısmını % 49,28 ile seskiterpen hidrokarbonlar oluştururken en düşük yüzdesini oksijenlenmiş seskiterpenler (% 0,55) meydana getirmektedir. Seskiterpen hidrokarbonlar'ı % 41,44 ile monoterpen hidrokarbonlar izlemiştir.  $\alpha$ - Pinene (% 34,45), Germacrene-d (% 18,85) ve  $\beta$ -Caryophyllene (% 18,48) uçucu yağın ana bileşenleri olarak tespit edilmiştir.

**Tablo 4.7.** *P. nigra*'nın uçucu yağ kompozisyonu

No	Alınma Zamanı	Bileşğin Adı	Kompozisyon ( % )
1	7.62	$\alpha$ - Pinene	34,45
2	8.09	Camphene	0,67
3	9.46	$\beta$ -Pinene	2,28
4	10.47	Myrcene	1,02
5	11.01	$\alpha$ - Phellandrene	0,1
6	12.42	$\beta$ -Phellandrene	2,92
7	13.79	cis-Ocimene	0,37
8	16.09	$\alpha$ -Terpinolene	0,31
9	27.71	Linalyl Acetate	0,26
10	29.33	Bornyl Acetate	0,34
11	31.36	$\alpha$ -Terpinene	0,19
12	31.65	$\alpha$ -Cubebene	0,18
13	32.21	$\alpha$ -Ylangene	0,16
14	32.31	$\alpha$ -Copaene	0,39
15	33.41	$\beta$ -Caryophyllene	18,48
16	33.53	Germacrene d	0,61
17	34.02	$\alpha$ -Humulene	3,99
18	34.17	Trans- $\beta$ -Farnesene	0,4
19	34.28	Trans-Caryophyllene	0,18
20	34.60	Germacrene d	18,85
21	34.86	$\alpha$ -Muurolene	0,86
22	35.08	$\alpha$ - amorphene	1,55
23	35.23	$\delta$ -Cadinene	3,19
24	35.43	$\alpha$ -Cadinene	0,25
25	36.11	Caryophyllene oxide	0,35
26	36.25	Endo-1-bourbonanol	0,2
27	38.62	Dehydroaromadendrene	0,08
28	42.72	A-podocarpene	0,11
29	43.93	Oleic Acid	0,2
<b>Bileşik grupları</b>			
Monoterpen hidrokarbonlar			41,44
Oksijenlenmiş monoterpenler			0,91
Seskiterpen hidrokarbonlar			49,28
Oksijenlenmiş seskiterpenler			0,55
Diğer			0,39
<b>TOPLAM</b>			<b>92,57</b>



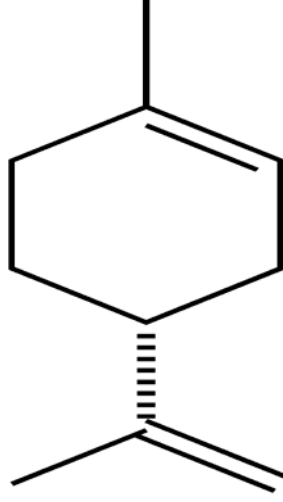
**Şekil 4.3.** *P. nigra*'nın uçucu yağ ana bileşeni  $\alpha$ - Pinene'in kimyasal yapısı (tr.wikipedia.org).

#### 4.3.4. *Pinus pinea*'nın Uçucu Yağ Bileşenleri

*P. pinea*'nın uçucu yağ analizleri sonucunda uçucu yağın toplam %91,13'ü tanımlanmıştır. Bu türe ait toplam 35 bileşiğin olduğu tespit edilmiş ve bu bileşikler Tablo 4.8 de verilmiştir. Bu uçucu yağın oran olarak en büyük kısmını % 45,68 ile Monoterpen hidro karbonlar oluşturmaktadır. Bu bileşik grubunu % 17,21'lik oran ile seskiterpen hidrokarbonlar takip etmiştir. Yağın ana bileşinleri Limonene (% 40,73), 9-Octadecenoic acid (Z) (% 13,44) ve  $\beta$ -caryophyllene (% 8,75) olarak belirlenmiştir.

**Tablo 4.8.** *P. pinea*'nın uçucu yağ kompozisyonu

No	Alıkonma Zamanı	Bileşiğin Adı	Kompozisyon( % )
1	7.32	$\alpha$ -pinene	2,38
2	9.34	1- $\beta$ -pinene	1,03
3	10.35	Myrcene	1,17
4	12.47	Limonene	40,73
5	13.71	Trans- $\beta$ -ocimene	0,37
6	15.97	Terpinolene	0,22
7	29.20	Bornyl acetate	0,1
8	31.46	(+) $\alpha$ -longipinene	0,25
9	32.24	$\alpha$ -copaene	0,16
10	32.89	Junipene	0,76
11	33.26	$\beta$ -caryophyllene	8,75
12	33.66	$\alpha$ -guaiene	0,1
13	33.75	3,7-Guaiadiene	0,3
14	33.85	$\alpha$ -elemene	0,13
15	33.94	$\alpha$ -humulene	1,99
16	34.06	$\beta$ -bisabolene	0,22
17	34.38	$\alpha$ -amorphene	0,15
18	34.45	Germacrene-d	1,54
19	34.63	Cadinene	0,56
20	34.71	Phenylethyl 2-methylbutyrate	0,99
21	34.79	$\alpha$ -muurolene	0,54
22	35.01	$\alpha$ -amorphene	0,15
23	35.17	$\delta$ -cadinene	0,47
24	35.45	Cis- $\alpha$ -bisabolene	0,15
25	36.08	Caryophyllene oxide	2,35
26	36.74	Guaiol	2,03
27	36.97	Valencene	0,48
28	37.50	(+)- $\beta$ -guaiene	1,43
29	38.35	Tetradecanoic acid	0,15
30	40.27	Cembrene	0,43
31	40.68	Hexadecanoic acid	3,91
32	42.87	Thunbergol	2,84
33	44.50	9-Octadecenoic acid (Z)	13,44
34	48.99	Methyl levopimarate	0,65
35	50.42	Dehydroabifitic acid	0,21
<b>Bileşik grupları</b>			
		Monoterpen hidrokarbonlar	45,68
		Oksijenlenmiş monoterpenler	0,32
		Seskiterpen hidrokarbonlar	17,21
		Oksijenlenmiş seskiterpenler	6,29
		Diğer	21,63
<b>TOPLAM</b>			<b>91,13</b>



**Şekil 4.4.** *P. pinea*'nın uçucu yağ ana bileşeni limonen'in kimyasal yapısı (tr.wikipedia.org).

## BÖLÜM 5

### TARTIŞMA

Tez kapsamında Gaziantep ilinde yetişen dört farklı *Pinus* türünün antioksidan aktiviteleri ve fitokimyasal bileşikleri değerlendirilmiştir. *Pinus* türlerinin metanol ve uçucu yağ özütleri Soxhlet ve Clevenger cihazları kullanılarak çıkarılmış ve antioksidan aktiviteler ve kimyasal bileşiklerinin tayini için analiz edilmiştir. Antioksidan aktiviteler için güncel olarak kullanılan DPPH serbest radikal yakalama, demir indirgeme gücü ve demir şelatlama aktivite testlerinden yararlanılmıştır. Total fenoliklerin tayini için Folin–Ciocalteu deneyi ve uçucu yağların bileşenlerinin belirlenmesi için GC-MS cihazı kullanılmıştır.

#### 5.1. Antioksidan Aktivitelerin Belirlenmesi

Serbest radikaller oksijenli solunum sırasında hayvanlar ve bitkiler tarafından yoğun olarak oluşturularak, lipit peroksidasyonu, protein ve DNA hasarı ile hücrelere zarar vermektedirler. Bununla birlikte insanlarda oksidatif strese bağlı olarak Alzheimer, Parkinson, romatoid artirit, diabetes mellitus gibi rahatsızlıklar oluşabilmektedir (Çaylak, 2011). Bu radikallerin olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak için yapılmış olan pek çok çalışma bulunmaktadır (Packer vd., 1999; Wood vd., 2002; Jung vd., 2003; Yu- Su vd., 2009; Liu vd., 2012 ).

##### 5.1.1. DPPH Serbest Radikal Yakalama Aktivitesi

DPPH yakalama testi (antioksidan aktiviteleri belirlemek için kullanılan organik bir radikaldir) bir anyon radikali kullanılarak yapılan basit, hızlı, hassas ve pratik bir spektrofotometrik yöntem olarak bilinmektedir (Miller vd., 1993; Brand-Williams vd., 1995; Moure vd., 2000; Peng vd., 2000; Siriwardhana ve Shahidi 2002). Serbest radikalının yakalanması üzerine yapılan bu yöntem radikalın oluşturduğu mor renkli

solüsyonun renginin antioksidan maddelerle reaksiyona girerek elektron almasıyla renginin açılması esasına dayanır.

DPPH yakalama aktivite testinde metanol ve uçucu yağ özütleri serbest radikal yakalama aktiviteleri bakımından değerlendirilmiş ve en yüksek DPPH serbest radikal yakalama aktivitesinin *P. halepensis*'in metanol özütünde olduğu belirlenmiştir. Aktiviteler büyükten küçüğe sıralandığında metanol özütleri için bu sıralama *P. halepensis*> *P. nigra*> *P. pinea*> *P. brutia* şeklinde olmaktadır. Uçucu yağlar sıralandığında bu sıralama *P. nigra*> *P. brutia*> *P. halepensis*> *P. pinea* şeklinde sıralamıştır. Yu-Su vd. (2009)'nin yaptıkları antioksidan aktivite çalışmasında *P. koraiensis* bitkisi kullanılarak etanol özütü elde edilmiş ve bu özütün DPPH yakalama aktivitesinin konsantrasyona bağlı olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir. Hui-Chen vd. (2011)'nin yaptığı çalışmada *P. morrisonicola*'nın etanol özütlerinin güçlü DPPH serbest radikal yakalama aktivitesi sergilediği rapor edilmiştir. Pinelo vd. (2004) *P. amygdalus*'un metanol, etanol ve asitlendirilmiş su özütleri kullanarak DPPH yakalama aktivitesini değerlendirmiş ve metanol özütünün diğer solventlerden daha güçlü antioksidan aktivite sergilediği tespit etmişlerdir. Üstün vd. (2012)'nin yaptıkları çalışmada Ankara, Bolu ve Adana'dan topladıkları *Pinus* türlerinin (*P. brutia*, *P. halepensis*, *P. nigra*, *P. pinea* ve *P. sylvestris*) özüt ve uçucu yağlarının antioksidan ve asetilkolinesteraz aktiviteleri ile kimyasal kompozisyonları tespit edilmiştir. Bitki örnekler aseton, etil asetat ve etanol ile özütleme işlemine tabi tutulmuştur. Yapılan bu çalışmada özütlerin DPPH radikal yakalama aktiviteleri ılımlı şekilde tespit edilmiştir. Çam türleri arasında en yüksek aktiviteyi *P. sylvestris* göstermiştir. Solvent özütlerinin aktivitelerine rağmen uçucu yağlar hiç aktivite göstermemiştir.

### **5.1.2. Demir İndirgeme Gücü Aktivitesinin Belirlenmesi**

Bir bileşiğin indirgeme kapasitesi onun potansiyel antioksidan aktivitesine sahip olduğunu gösterir (Meir vd., 1995). Bu deneyde mavi-yeşil reaksiyon rengi indirgenme gücüne sahip bir ajanla karşılaşırsa sarı renge dönüşür (Barros vd., 2007). İndirgeme gücü olan bileşikler elektron taşırlar ve antioksidan potansiyelin önemli bir yansıması olarak işlev görürler (Gülçin vd., 2003b).

Yaptığımız çalışmada *Pinus* türlerinin demir indirgeme gücü aktivitesi kendi aralarında kıyaslandığında, metanol özütlerinin demir indirgeme gücünün uçucu yağlara oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Yine bu deneyde de DPPH deneyinde olduğu gibi metanol özütlerinin aktivite değerlerine göre sıralaması *P. halepensis* > *P. nigra* > *P. pinea* > *P. brutia* şeklinde olmuştur. Bu sonuca bakılarak DPPH ve demir indirgeme gücü deneyleri arasındaki paralel bir ilişki olduğu söylenebilir. Yu -Su vd. (2009)'e göre *P. koraiensis*'in % 40'lık etanol özütlerinin 0,12-0,2 mg/ml konsantrasyonda güçlü indirgeme gücü aktivitesi göstermektedir. Gülçin vd. (2003a)'nin *Pinus nigra* Arn. subsp. *pallasiana* (Lamb.)'ın türbentinin etil alkol özütü üzerine yaptığı çalışmada bu özütün konsantrasyona bağlı olarak indirgeme gücü kapasitesinin arttığı belirlenmiştir. Hui-Chen vd. (2011)'nin yaptığı çalışmada *P. morrisonicola*'nın antioksidan aktivitesi ve mutajenitesi üzerine yaptıkları çalışmada % 95'lik etanol özütünün kontrole göre daha yüksek indirgeme gücü aktivitesi gösterdiği rapor edilmiştir.

### 5.1.3. Metal Şelatlama Aktivitesinin Belirlenmesi

Demir ve bakır gibi metalleri şelatlayan ajanlar, metalleri stabilize hale dönüştürerek Fenton ve Haber-Weis reaksiyonlarına ket vurulmasında ve radikal oluşumunun engellenmesine yardımcı olurlar. Bu bağlamda test bitkilerinin şelatlama aktivitesini tespit etmek için her bir *Pinus* türünün metanol ve uçucu yağ özütleri  $Fe^{+2}$ 'ye karşı test edilmiştir.

Yapılan bu deneyde DPPH ve demir indirgeme gücü deneyinin aksine metanol özütleri uçucu yağlara ve kontrole göre zayıf aktiviteler göstermiştir. En yüksek aktiviteyi *P. brutia*'nın uçucu yağı gösterirken bu yağı *P. nigra*'nın uçucu yağı takip etmiştir. Bu sonuç antioksidan aktivitelerin farklı metotlarda farklılık gösterebileceği şeklinde yorumlanabilir. Bununla birlikte komponentlerin farklı fonksiyonel yan gruplara sahip olmalarından dolayı bu deneylerin aktivitelerinde farklılığa yol açabileceğini söylemek mümkündür. Gülçin vd. (2003a)'nin *P. nigra* subsp. *pallasiana*'nın terebentini üzerine yaptıkları çalışmada konsantrasyona bağlı olarak metal şelatlama aktivitesinin de arttığı rapor edilmiştir. Yine Üstün vd. (2012)'nin yaptıkları çalışmada *Pinus* türlerinin metal şelatlama aktiviteleri arasında en yüksek



aktivitenin *P. nigra*'nın iğne yaprağına ait aseton özütünde olduğu belirlenirken etanol ve etil asetat özütleri bu aktivitede daha zayıf aktiviteler sergilemiştir.

Bitkiler tarafından üretilen antioksidan bileşiklerin etki mekanizmaları ile ilgili araştırmaların sayısında sürekli artış gözlenmektedir. Ayrıca bu bileşiklerin insan hastalıklarını önlemedeki rolü de bilim insanlarını bu konu ile ilgili araştırma yapmaya yöneltmiştir. Pek çok Araştırmacı tarafından Antioksidan madde bakımından zengin besinlerin başta kanser olmak üzere birçok hastalığı önlediği ifade edilmiştir (Steinmetz ve Potter 1996; Nees ve Powles 1997; Aruoma 1998).

## 5.2. Total Fenoliklerin Belirlenmesi

*Pinus* türlerinden elde edilen metanol özütlerinin total fenolik içeriklerini tayin etmek için Folin-Ciocalteu ajanı kullanılmıştır. Bu ajan fosfomolibdik ve fosfotungstik heteropoli asitlerden biçimlenmiş kompleks polimerik iyonlardan meydana gelmiştir (Singleton ve Rossi, 1965). Ortamda fenolik bileşiklerin bulunması durumunda bu ajan onlarla reaksiyona girer ve beyazdan mavi-siyaha bir renk dönüşümü meydana gelir. Bu deneyde total fenoliklerin belirlenmesi için Yu vd. (2002)'nin metodu kullanılmıştır.

Yaptığımız deneyde en yüksek total fenolik içeriği (303 mg/g) *P. nigra*'da tespit edilmiştir. Bu bitkiyi miktar olarak *P. pinea* izlemektedir. Yu- Su vd. (2009) *P. koraiensis*'in total fenolik içeriğini 264 mg/g olarak tespit etmişlerdir. Üstün vd. (2012)'nin yaptıkları çalışmada *Pinus* türlerinin fenolik miktarları hesaplamışlardır. *P. halepensis*'in total fenolik içeriğini aseton, etil asetat ve etanol özütlerinin tümünde diğer türlere göre daha yüksek olarak belirlemişlerdir. Gülçin vd. (2003a)'nin *P. nigra* subsp. *pallsiana*'nın terebentin özütünün total fenolik içeriğini 43 mikro gram pirokateşol olarak hesaplamıştır.

Fenolik bileşikler antioksidan aktiviteden sorumlu olan ana bileşikler arasında yer almaktadır (Rice-Evans vd. 1996). Araştırmacılar fenolik bileşikler ve antioksidan aktiviteler arasındaki ilişkinin anlaşılması için çok sayıda çalışma yapmışlardır (Kyselova vd., 2006; Silva vd., 2007). Bizim çalışmamızda en yüksek total fenolik içeriği *P. nigra*'nın metanol özütünde belirlenmiş olup, yapılan antioksidan aktivite

testlerinde *P. halepensis* bu bitkiden daha yüksek aktivite sergilemiştir. Bu durum, özütlerde bulunan fenolik bileşikler dışındaki sekonder ya da primer yapıların varlığına, özütleme metoduna ve Folin ajanının spesifikliğine bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir. Folin-Ciocalteu ajanı sadece fenolik bileşiklere bağlanmaz ve bu ajanın fenol ajanı tarafından okside olabilen diğer bileşiklere de bağlanabileceği ifade edilmiştir (Singleton vd., 1999).

### 5.3. Uçucu Yağ Bileşenlerinin Belirlenmesi

Uçucu yağlar genellikle güzel kokan, bitkilerin savunma ve üremesinde rol alan önemli kimyasallardır. İlk olarak orta çağda Araplar tarafından geliştirilmiş buhar ya da hidrodistilasyon sistemi ile elde edilmekte olan bu yağlar eterik yağlar olarak da isimlendirilmektedirler. Bu bileşikler güçlü kokularıyla karakterize olmuş uçucu, doğal, kompleks bir yapıya sahiptir. Bu yağlar antiviral, antibakteriyal ve antifungal özellik göstermekte olup, bitkilerin savunmalarında çok önemli işlevlere sahiptirler. Özellikle Akdeniz ve tropikal ülkelerden elde edilmekle birlikte ve renksiz ya da sarı renkli bir görüntü oluştururlar. Uçucu yağ özütlerinin miktarı ve kompozisyonu bitkinin bulunduğu bölgenin iklimine, toprak kompozisyonuna, bitki türüne, bitki organına, bitkinin yaşına ve vejetatif devresine bağlı olarak farklılık gösterebilir (Masotti vd., 2003; Angioni vd., 2006; Bakkali vd. 2008). Bitkilerden elde edilen uçucu yağlar çoğunlukla 3 ya da 4 ana bileşen sahiptirler (Berka vd., 2008; Tenore vd., 2011).

Yaptığımız çalışmada *P. brutia*'nın uçucu yağı GC-MS ile analiz edilmiş olup bu uçucu yağa ait ana bileşenler sırasıyla  $\beta$ - pinene,  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -caryophyllene ve Germacrene-d olarak tespit edilmiştir. Loizzo vd. (2008) Doğu Akdeniz Bölgesinin ekosistemlerinde yetişen *P. brutia*'nın uçucu yağ analizini yapmıştır. Bu yağın ana bileşenleri  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene ve  $\delta$ -3 carene olarak bulmuşlardır.

Hidrodistilasyon sonucunda elde edilen *P. halepensis*'e ait uçucu yağın ana bileşenleri  $\beta$ -Caryophyllene, Myrcene,  $\alpha$ - Pinene ve Sabinene olarak belirlenmiştir. Roussis vd. (2011) Yunanistan'da yetişen *P. halepensis* ve *P. brutia*'nın yağ kompozisyonlarını belirlemişlerdir. Bileşenlerin çoğunun monoterpen ve seskiterpen olduğu bildirilmiştir. *P. halepensis*'in uçucu yağ bileşenleri sırasıyla  $\beta$ -

caryophyllene,  $\alpha$ -pinene, 8-3-carene ve limonene olduğu tespit edilmiştir. *P. brutia*'nın uçucu yağ bileşenlerinin  $\beta$ -pinene,  $\alpha$ -pinene,  $\delta$ -3-carene ve  $\beta$ -caryophyllene olduğu tespit edilmiştir. Dob vd. (2007) Cezayir'in üç farklı bölgesinden aldıkları *P. halepensis*'in uçucu yağ kompozisyonlarının ana bileşenini  $\beta$ -caryophyllene olarak belirlemişlerdir.

*P. nigra*'nın uçucu yağ ana bileşenleri  $\alpha$ -Pinene, Germacrene d ve  $\beta$ -Caryophyllene olarak tespit edilmiştir. Sezik vd. (2010) *P. nigra*'nın çeşitli aylarda farklı illerden alınan örneklerinin uçucu yağlarını GC-MS ile analiz etmiş olup, yağın ana bileşenleri  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene ve Germacrene- d olduğunu belirlemişlerdir.

*P. pinea*'nın uçucu yağ analizleri sonucunda bu türe ait toplam 35 bileşiğin olduğu tespit edilmiş ve bu yağın ana bileşenleri Limonene, 9-Octadecenoic acid (Z), ve  $\beta$ -caryophyllene olarak belirlenmiştir. Nasri vd. (2011) *P. pinea*'nın Hidrodistilasyonu sonucunda elde ettikleri uçucu yağların ana bileşenlerini limonene ve  $\alpha$ -pinene olarak belirlemişlerdir. Macchioni vd. (2003) İtalya'dan topladıkları *P. pinea*, *P. halepensis*, *P. pinaster* ve *P. nigra*'nın uçucu yağ analizlerini yapmışlardır. *P. pinea*'nın uçucu yağına ait ana bileşeni limonene olarak tespit etmişlerdir. *P. halepensis*'te  $\alpha$ -pinene ve myrcene, *P. nigra*'da ise  $\alpha$ -pinene belirlemişlerdir.

GC-MS analizi yapılan *Pinus* türleri ve aynı bitkiler hakkında daha önce yapılmış çalışmalar arasındaki kıyaslamalardan da anlaşılacağı gibi GC-MS ile tespit edilen uçucu yağ bileşenleri aynı türler için bile farklılıklar göstermektedir. Uçucu yağ kompozisyonundaki bu değişimler iklimik, mevsimsel, coğrafik ve jeolojik faktörlere bağlı olarak farklılık göstermektedir (Perry vd., 1999; Sezik vd, 2010). Ayrıca bitkinin yağ kompozisyonundaki değişimler; bitkinin türü, toplanma zamanı ve genetik özelliklere bağlı olarak da değişebilmektedir (Boulila vd. 2008). Ayrıca farklı biyolojik aktiviteye sahip aynı tür uçucu yağların bileşenlerinin farklı olduğu ifade edilmiştir (Bounatirou vd., 2007).

Canlılarda çeşitli işlevlere sahip serbest radikaller bulunmaktadır (sinir iletimi, bitkilerde savunma vs. gibi). Fakat önemli olan bu bileşiklerin etkisiz hale getirilmesidir. Özellikle radikal yakalama aktiviteleri, biyolojik sistemlerde ve besinlerde serbest radikallerin zararlı etkilerini ortadan kaldırmada büyük önem arz

etmektedir. Fenolik bileşikler gibi çeşitli fitokimyasallar serbest radikallerin meydana getirdiği zararları ortadan kaldıracaktır.

Aromatik ve tıbbi bitkiler sekonder metabolitlere sahiptirler. Bu nedenle doğal antioksidanların asıl kaynağı olarak bilinirler (Singer vd., 2003). Antioksidan kaynağı bitkilerin insanoğlu tarafından keşfedilmesi pek çok önemli sektörde (tıp, ilaç, gıda, parfümeri vs.) ham madde olarak kullanılmalarına olanak sağlamıştır.

Bu çalışmanın sonucunda, Gaziantep de yetişen *P. brutia*, *P. halepensis*, *P. nigra* ve *P. pinea* türlerinden elde edilen metanol ve uçucu yağ özütlelerinin *in vitro* antioksidan aktiviteleri tespit edilmiştir. Bununla birlikte bu aktivitelerden sorumlu olabilecek sekonder bileşiklerin tespiti yapılmıştır. Test edilen özütleler arasında metanol özütlelerinin yüksek antioksidan aktiviteleri ve yüksek fenolik madde içerikleri oldukça dikkate değer olduğu belirlenmiştir. Buna ek olarak fenolik içeriklerinden ve uçucu yağ bileşenlerinden dolayı bu bitkilerin önemli birer doğal bileşik kaynağı oldukları söylenebilir. Bu bilgiler doğrultusunda farmakoloji, kozmetik ve gıda gibi pek çok önemli alanlardaki fonksiyonları bakımından, bu bitki özütlelerinin doğal antioksidan kaynağı olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte literatüre bildirilen Pinaceae türlerine ait antioksidan aktivitelere ve fitokimyasal içeriklere ülkemizden de yeni verilerin katılacağı düşünüldüğünde literatür için oldukça önemli bir yer teşkil etmektedir.

## BÖLÜM 6

### SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez kapsamında yapılan floristik çalışmalar sonucunda Gaziantep ilinde Pinaceae familyasına ait olarak yayılış gösteren 4 tür tespit edilmiştir. Bu güne kadar yetişen bitkilerden elde edilen fitokimyasal bileşikler ve onların antioksidan aktiviteleri adı altında yapılan çalışmalarda genellikle otsu bitkiler üzerinde durulmuştur. Fakat bu bitkilerin bir çoğu yaz mevsiminde büyüyüp gelişmekte ve bunlarla ilgili her zaman çalışma yapmak mümkün olamamaktadır. Ancak *Pinus* türlerine ait bitkiler her dem yeşildir ve biyokütleleri otsu bitkilere göre oldukça fazladır. Bununla birlikte bu bitkiler üzerinde literatürde çok az çalışma bulunmaktadır.

Bu bağlamda yapmış olduğumuz deneysel çalışmalarda araziden toplanan *Pinus* türlerinin metanol özütleri hazırlanmış, Clevenger ile uçucu yağları elde edilmiş, antioksidan aktivite testleri yapılmış, total fenolik miktarı belirlenmiş ve uçucu yağların GC/MS analizleri yapılmıştır.

Elde edilen özütlerin antioksidan aktive testleri yapılmış, DPPH temizleme deneyi ve demir indirgeme gücü aktivitesi deneyinde metanol özütlerinin yüksek oranda antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Özellikle DPPH temizleme deneyinde *P. halepensis*'in yakalama aktivitesinin kontrol olarak kullanılan BHA'ya yakın olması, gerekli çalışmalar yapıldığında *P. halepensis* özütlerinin çeşitli sektörlerde BHA yerine kullanılabileceğini göstermektedir.

Metal şelatlama deneyinde en yüksek metal şelatlama aktivitesini *P. brutia*'ya ait uçucu yağ özütü sergilemiştir. Bu değer kontrol olarak kullanılan Na<sub>2</sub>EDTA'ya oldukça yakındır. Bu nedenle *P. brutia* uçucu yağ özütlerinin Haber-Weiss ve Fenton gibi serbest radikallere neden olan reaksiyonları engelleyebileceği akla gelmektedir.

Total fenolik miktarını belirlemek amacıyla yapılan deneyde en yüksek total fenolik miktarı *P. nigra*'da tespit edilmiştir. *Pinus* türlerinin total fenolik miktarının fazla olması yüksek antioksidan aktivite gösterdiklerini ispatlar niteliktedir.

Yağ analizleri sonucunda *P. brutia*'nın 30, *P. halepensis*'in 35, *P. nigra*'nın 29 ve *P. pinea*'nın toplam 35 bileşiğe sahip olduğu tespit edilmiştir. Uçucu yağların idrar söktürücü, öksürüğü azaltıcı, iltihaplanmaları engelleyici etkileri düşünüldüğünde *Pinus* türlerinin uçucu yağları tıbbi çalışmalar için önemli bir kaynak teşkil edeceği düşünülmektedir.

Yapılan çalışmalar doğrultusunda elde edilen verilerin sonraki yapılacak ya da yapılması düşünülen çalışmalara ışık tutacağı ve bu türler hakkındaki aktivite ve sekonder metabolitler anlamında önemli bir yeri dolduracağı düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

Adams, R.P. (2007). In Identification of essential oils components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy, 4<sup>th</sup> ed.; *Allured publishing corporation*: Illinois, USA.

Akman Y. ve Güney K. (2006): Bitki Biyolojisi Botanik. Palme Yayıncılık. 359-370.

Akdoğan, H. (2007). Adana-Sarıçam Orman İşletme Şefliğindeki Halep Çamı (*Pinus halepensis* Mill.) Meşcerelerinde Kuruluş Özellikleri ve Silvikültürel Öneriler, Kahraman Maraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Orman Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.

Angioni, A., Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S. and Cabras, P. (2006). Chemical composition, seasonal variability and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L.ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. **54**, 4364-4370

Ansari, M.A., Keller, J.N. and Scheff, S.W. ( 2008 ). Protective effect of pycnogenol in human neuroblastoma SH-SY5Y cells following acrolein-induced cytotoxicity. *Free Radic. Biol. Med.* **45**, 1510–1519.

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

Bağcı, E. ve Dığrak, M. (1997). Bazı Gök nar türleri uçucu yağlarının in vitro antimikrobiyal etkileri. *Turkish Journal of Biology*. **21**, 273-281.

Bakkali, F., Averbeck S., Averbeck, D. and Idaomar, M.(2008). Biological effects of essential oils-a review. *Food and Chemistry Toxicology*. **46**, 446-475.

Barros, L., Baptista, P. and Ferreira, I. C. F. R. (2007). Effect of *Lactarius piperatus* fruiting body maturity stage on activity measured by several biochemical assays. *Food and Chemical Toxicology*, **45**, 1731–1737.

Bayrak, A. (2006). Gıda Aromaları. Baran ofset. 253-266.

Baytop, T. (1999). Türkiye’de Bitkiler İle Tedavi. Nobel Tıp Kitap Evleri. 3-13-16-101-102.

Berka, B., Hassani, A., Allaf, K. and Chemat, F. (2008). Analysis by Gas Chromatography- Mass Spectrometry of the Essential Oil of *Rhamnus Alaternus* L. ( Rhamnaceae), an Aromatic and Medicinal Plant Growing in Algeria. *Journal of Essential Oil Bearing*. **11**, 563-570.

Boulila, A., Bejaoui, A., Messaoud, C. and Boussaid, M. (2008). Variation of volatiles in Tunisian populations of *Teucrium polium* L. (Lamiaceae) *Chemistry&Biodiversity*. **5**, 1389-1400.

Bounatirou, S., Smiti, S., Miguel, M.G., Faleiro, L., Rejeb, M.N., Neffati, M., Costa, M.M., Figueiredo, A.C., Barroso, J.G. and Pedro, J.G. (2007). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. *Et Link Food Chemistry*. **105**, 146-155.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. and Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*. **28**, 25-30

Conn, E.E. ( 1980 ). Cyanogenic compounds. *Annual Review Plant Physiology*. **31**, 433-451.

Çaylak, E. (2011). Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi*. **9**, 73-83.



Çatal, Y. (2009). Batı Akdeniz Bölgesi Kızılcım (*pinus brutia* ten.) Meşcerelerinde Artım ve Büyüme, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Orman Mühendisliği Anabilim Dalı, Doktora Tezi.

Dinis,T.C.P., Madeira, V.M.C. and Almeida, L.M. (1994). Action of phenolic derivates (acetoaminophen, salycilate and 5-aminosalycilate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. **315**, 161–169.

Diplock, A. (1998). Healty lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. ILSI europe concise monograph series. 59.

Dob, T., Berramdane, T. and Chelghoum, C. ( 2007 ) Essential Oil Composition of *Pinus halepensis* Mill. from Three Different Regions of Algeria. *Journal of essential oil research*. **19**, 40-43.

Dorman, H.J., Kosar, M., Kahlos, K., Holm, Y. and Hiltunen, R. (2003). Antioxidant prosperities and composition of aqueous extracts from mentha species, hybrids, varieties and cultivars. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. **51**, 4563-4569.

Ercanlı, İ., Keleş, S., Sivrikaya, F., Çakır, G., Günlü, A., Karahalil, U., Kadioğulları, A.İ., Zeki Başkent, E. ve Köse, S. (2007). Sarıçam (*Pinus sylvestris* L.) Meşcereleri için yöressel(Yalnızçam ve Uğurlu Orman İşletme Şeflikleri) Sıklığa Bağlı Hasılat Tablosunun Düzenlenmesi, *Süleyman Demirel Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, Seri: A, Sayı: 2, ISSN: 1302-7085, 78-101.

Ertekin, M. ve Özel, H.B. (2010). Çorum Yöresi Erozyonla Mücadele Kapsamında Yapılan Karaçam (*Pinus nigra* arnold.) ve Sedir (*Cedrus libani* a. Rich.) Ağaçlandırmaları, *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, Cilt: 12, Sayı: 18, 77-85 ISSN: 1302-0943 EISSN: 1308-5875.

Gernandt, D.S., Geada López, G., Ortiz García, S. and Liston, A. (2005). Phylogeny and classification of Pinus. *Taxon* **54**, 29–42.

Gezer, A., Gülcü, S. ve Bilir, N. (2002). Isparta Göller Yöresi Sarıçam(*Pinus silvestris* L.)Orijin Denemeleri (İlk Aşama Sonuçları), *Süleyman Demirel Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, Seri: A, Sayı: 1, ISSN: 1302-7085, 1-18.

Gökmen, H. (1970). Açık Tohumlular (Gymnospermae). Orman Genel Müdürlüğü Yayınları.

Gülçin, İ., Büyükokuroğlu, M. E., Oktay, M. ve Küfrevioğlu, Ö.İ. (2003a). Antioxidant and analgesic activities of turpentine of *Pinus nigra* Arn. subsp. *pallasiana* (Lamb.) Holmboe. *Journal of Ethnopharmacology*. **86**, 51-58.

Gülçin, İ., Uguz, M.T., Oktay, M., Beydemir, S. ve Küfrevioğlu, Ö.İ. (2003b). Antioxidant and antimicrobial activities of *Teucrium polium* L. *Journal of Food Technology*. **1**, 9-17.

Hatano, T., Kagawa, H., Yasuhara, T. and Okuda, T., (1988). Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effects. *Chem. Pharm. Bull.* **36**, 1090-1097.

Hui –Chen, Y., Chuan -Hsieh P., Leun- Mau, J. and Chwen –Sheu, S. (2011) Antioxidant properties and mutagenicity of *Pinus morrisonicola* and its vinegar preparation. *LWT –Food Science and Technology*. **44**, 1477-1481.

Jerez, M., Selga, A., Sineiro, J., Torres., J.L. and Nunez, M.J.(2007). A comparison between bark extracts from *Pinus pinaster* and *Pinus radiata*: Antioxidant activity and procyanidin composition. *Food Chemistry*. **100**, 439–444.

Jung, M. J., Chung, H. Y., Choi, J.H. and Choi, J.S. (2003). Antioxidant principles from the needles of red pine, *Pinus densiflora*.**17**, 1064-1068.

Kayacık, H. (1965). Orman ve Park Ağaçlarının Özel Sistematiği (Gymnospermae, Açık Tohumlular). Cilt:1

Khan, M.M., Hoda, M.N., Ishrat, T., Ahmad, A., Khan, M.B., Khuwaja, G., Raza, S.S., Safhi, M.M. and Islam, F. (2010). Amelioration of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced behavioural dysfunction and oxidative stress by pycnogenol in mouse model of Parkinson's disease. *Behav. Pharmacol.* **21**, 563–571.

Kırbağ, S. ve Bağcı, E. (2000). *Picea abies* (L.) Karst. ve *Picea orientalis* (L.) Link. Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Aktivitesi Üzerine Bir Araştırma, *Journal of Qafqaz University.* **3**, 183-190.

Kyselova, Y., Ivanova, D., Chervenkov, T., Gerova, D., Galunska, B. and Yankova, T. (2006). Correlation between the in vitro antioxidant activity and polyphenol content of aqueous extracts from Bulgarian herbs. *Phytotherapy Research.* **20**, 961-965.

Liu, Z., Cheng, C. and Li, J. (2012). High genetic differentiation in natural population of *Pinus henryi* and *Pinus tabulaeformis* as revealed by nuclear microsatellites. *Biochemical systematics and ecology.* **42**, 1–9.

Loizzo, M.R., Saab, A. M., Tundis, R., Menichini, F., Bonesi, M., Statti, G.A. and Menichini, F. (2008). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from *Pinus brutia* ( Calabrian pine ) growing in Lebanon. *Chemistry of natural compounds.* **44**, 784-786.

Macchioni, F., Cioni, P.L., Flamini, G., Morelli, I., Maccioni, S. and Ansaldi, M. (2003). Chemical composition of essential oils from needles, branches and cones of *Pinus pinea*, *P. halepensis*, *P. pinaster* and *P. nigra* from central Italy. *Flavour and Fragrance Journal.* **18**, 139-142.

Maimoona, A., Naeem, I., Saddiqe, Z. and Jameel, K. ( 2011 ). A review on biological, nutraceutical and clinical aspects of French maritime pine bark extract. *J. Ethnopharmacol.* **133**, 261–277.

Masotti, V., Juteau, F., Bessie're, J.M. and Viano, J. (2003) Seasonal and phenological variations of the essential oil from the narrow endemic species *Artemisia molinieri* and its biological activities. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. **51**, 7115-7121.

Meir, S., Kanner, J., Akiri, B. and Hadas, S. P. (1995). Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. **43**, 1813-1819.

Miller, N. J., Rice-Evans, C.A., Davies, M. J., Gopinathan, V. and Milner, A. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science*. **84**, 407-12.

Moure, A., Franco, D., Sineiro, J., Dominguez, H., Nunez, M. J. and Lema, J. (2000). Evaluation of extracts from Guevina avellana hulls as antioxidants. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. **48**, 3890–3897.

Nasri, N., [Tlili, N.](#), [Triki, S.](#), [Elfalleh, W.](#), [Chéraif, I.](#) and [Khaldi, A.](#) (2011). Volatile Constituents of *Pinus pinea* L. Needles. *Journal of Essential Oil Research*. **23**, 15-19.

Nees, A.R. and Powles, J.W. (1997). Fruit and vegetables, and cardiovascular disease: A review. *International Journal of Epidemiology*. **26**, 1-13.

Noctor, G. and Foyer, C.H. (1998). Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. **49**, 249-279.

Oskay, D. ve Oskay, M. (2009). Bitki Sekonder Metabolitlerinin Biyoteknolojik Önemi. *e-Journal of New World Sciences Academy*. **4**, 32-41.

Oyaizu, M. ( 1986) . Studies on products of browning reactions: Antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*. **44**, 307–315.

Özuslu E. (2004). Gaziantep Üniversitesi Kampüs Florası. *Çevre Koruma Dergisi*. Sayı:53, 25-32.

Packer, L., Rimbach, G. and Virgili, F. (1999). antioxidant activity and biologic properties of a procyanidin-rich extract from pine (*pinus maritima*) bark, pycnogenol. *Free Radical Biology & Medicine*. **27**, 704–724.

Peng, C., Lin, Z. and Lin, G. (2000). Effect of light on scavenging capacity for organic free radical in leaves of four woody plants. *Zhiwu Xuebao*, **42**, 393–398.

Perry, N.B., Anderson, R.E., Brennan, N.J., Douglas, M.H., Heaney, A.J., Mcgimpsey, J.A. and Smallfield, B.M. (1999). Essential oils from Dalmation Segal (*Salvia officinalis* L.): variations among individuals, plant parts, seasons, and sites. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. **47**, 2048-2054.

Pinelo, M., Rubilar, M., Sineiro, J. and Nunez, M.J. (2004). Extraction of antioxidant phenolics from almond hulls (*Prunus amygdalus*) and pine sawdust (*Pinus pinaster*). *Food Chemistry*. **85**, 267–273.

Rohdewald, P. (2002). A review of the French maritime pine bark extract (Pycnogenol), a herbal medication with a diverse clinical pharmacology. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*. **40**, 158–168.

Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. and Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical and Biological Medicine*. **20**, 933-956.

[Roussis](#), V., [Papadogianni](#), K., [Vagias](#), C., [Harvala](#), C., [Petraakis](#), P. V. and [Ortiz](#), A. (2011). Volatile Constituents of Three *Pinus* Species Grown in Greece. *Journal of Essential Oil Research* **13**, 118-121.

Saldamlı, İ. (2007). Gıda Kimyası. 3. Baskı. Hacettepe üniversitesi yayınları. 464.

Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L. ve Leblebici, E. (2000). Tohumlu Bitkiler Sistematığı. 4. Baskı. Ege üniversitesi basımevi. 117- 126.

Semerci, H.,(2005). Farklı Islah Zonlarından Örneklenen Anadolu Karaçamı (*Pinus nigra* arnold subspecies *pallasiana* (lamb.) Holmboe) Orijinlerinin Soğuğa Dayanıklılıkları, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi.

Sezik, E., Üstün, O., Demirci, B. and Başer, K.H.C. (2010). Composition of the essential oils of *Pinus nigra* Arnold from Turkey. *Turkish Journal of Chemistry*. **34**, 313-325.

Shahidi, F. and Naczki, M. (1995). Food Phenolics: Sources, Chemistry, Effects and Applications. Technomic Publishing Company Inc. 331, U.S.A.

Singer, A.C., Crowley, D. and Thompson, I.P. (2003). Secondary plant metabolites in phytoremediation and biotransformation. *Trends Biotechnology*. **21**, 123-130.

Singleton, V. L. and Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. *American Journal of Enology and Viticulture*. **16**, 144-158.

Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Oxid Antioxidant*. **299**, 152-178.

Silva, E.M., Souza, J.N.S., Rogez, H., Rees, J.F. and Larondelle, Y.(2007). Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. *Food Chemistry*. **101**, 1012-1018.

Siriwardhana, S. and Shahidi, F. (2002). Antiradical activity of extracts of almond and its by-products. *Journal of the American Oil Chemists Society*, **79**, 903–908.

Solecki, R.S. ( 1975 ) Shanidar IV, a Neanderthal Flower Burial in Northern Iraq, *Science*. **190**, iss. 4217, 880-881.

Steinmetz, K.A. and Potter, J.D. (1996). Vegetables, fruit, and cancer prevention: a review *Journal of American Dietetic Association*. **96**, 1027-1039.

Stewart, T. D. ( 1963 ) Shanidar Skeletons IV and VI, *Sumer*. **19**, 8-26.

Taiz, L. ve Zeiger E.( 2008 ). Bitki Fizyolojisi-Üçüncü Baskı. Palme yayıncılık. 283- 307.

Tanrıverdi, H. (2004). Karaçam (*Pinus nigra* Arnold.) ve Kızılcım (*Pinus brutia* Ten.) Odunundaki Polisakkarit Karakterizasyonu ve Miktarı ile Lignin Miktarı Üzerine Kromatografik ve Spektrofotometrik Araştırmalar, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi.

Tenore, G.C., Ciampaglia, R., Arnold, N.A., Piozzi, F., Napolitano, F., Rigano, D. and Senatore, F. (2011). Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oil of *Salvia lanigera* from Cyprus. *Food and Chemical Toxicology*. **49**, 238-243.

Tozlu, G., Göktürk, T. ve Gültekin, L. (2010). Sarıkamış (kars) Ormanlarında Sarıçam (*Pinus sylvestris* L.) ve Titrek Kavak (*Populus tremula* L.)’da Zararlı Coleoptera Türleri, III. Ulusal Karadeniz Ormancılık Kongresi. Cilt: IV. 1377-1382.

Trap, S. and Croteau, R. (2001). Defensive resin biosynthesis in conifers. *Annual Reviews Plant physiol. Plant Molecular Biology*. **52**, 689- 724

Türküsay, H. ve Onoğur, E. (1998). Bazı Bitki Ekstraktlarının In Vitro Antifungal Etkileri Üzerine Araştırmalar. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. **22**, 267-271.

Tyler, V.E., Brady, L. R. and Robbers, J.E. (1981). Pharmacognosy, 8th ed. Lea & Febiger, Philadelphia. 50-51.

Üstün, O., Şenol, F.S., Kürkcüoğlu, M., Orhan, İ.E., Kartal, M. and Can Başer, K.H. (2012). Investigation on chemical composition, anticholinesterase and antioxidant activities of extracts and essential oils of Turkish Pinus species and pycnogenol. *Industrial Crops and Products*. **38**, 115– 123 .

Wood, J. E., Senthilmohan, S.T. and Peskin, A. V. (2002). Antioxidant activity of procyanidin- containing plant extracts at different. *Food Chemistry*. **77**, 155-161.

<http://tr.wikipedia.org/>

Yılmaz, M., Tonguç, F. ve Bozali, N. (2010). Kahramanmaraş-Önsen Doğal Fıstıkçamı Ormanı Üzerine Genel Bir Değerlendirme. III. Ulusal Karadeniz Ormancılık Kongresi. Cilt: III. 895-904.

Yu-Su, X., Yu-Wang, Z. and Ren -Liu, j. (2009) *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of *Pinus koraiensis* seed extract containing phenolic compounds. *Food Chemistry*. **117**, 681–686.

Yu, L., Haley, S., Perret, J., Harris, M., Wilson, J. ve Qian, M. (2002). Free radical scavenging properties of wheat extracts. *Journal of Agriculture and food Chemistry*. **50**, 1619-1624.



## EKLER



**EK 1.** *P. brutia*'nın yaprak görüntüsü (Gaziantep Üniversitesi Kampüsü).



**EK 2.** *P. brutia*'nın kozalak görüntüsü (Gaziantep Üniversitesi Kampüsü).



**EK 3.** *P. halepensis*'in yaprak görüntüsü (Gaziantep Üniversitesi Kampüsü).



**EK 4.** *P. halepensis*'in kozalak görüntüsü (Gaziantep Üniversitesi Kampüsü).



”””  
**EK 5.** *P. nigra*'nın yaprak görüntüsü (Gaziantep Üniversitesi Kampüsü).



**EK 6.** *P. nigra*'nın kozalak görüntüsü (Gaziantep Üniversitesi Kampüsü).



**EK 7.** *P. pinea*'nın yaprak görüntüsü (Gaziantep Üniversitesi Kampüsü).



**EK 8.** *P. pinea*'nın kozalak görüntüsü (Gaziantep Üniversitesi Botanik Bahçesi).