

Tıbbi Adaçayı (*Salvia officinalis* L.)'nda Farklı Hasat Zamanlarının Uçucu Yağ ve Fenolik Bileşikler ile Antioksidan Aktivite Üzerine Etkisi

Müge BAŞYİĞİT, Hasan BAYDAR*

Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, 32260, Isparta

(Alınış / Received: 21.06.2016, Kabul / Accepted: 30.09.2016, Online Yayınlanma / Published Online: 01.11.2016)

Anahtar Kelimeler
Salvia officinalis L.,
Hasat zamanı,
Uçucu yağ,
Fenolik bileşenler,
Antioksidan aktivite

Özet: Bu araştırma, bir yıl süreyle 12 ayı temsil edecek şekilde farklı zamanlarda hasat edilen tıbbi adaçayı (*Salvia officinalis* L.)'nin herba ve yaprak verimi, yaprakların taşıdığı uçucu yağ oranı ve kompozisyonu, ekstrede Folin-Ciocalteu kolorimetrik metodu kullanılarak toplam fenolik madde miktarı, fenolik bileşikleri, serbest radikal süpürücü aktivitesi (DPPH) ve demir iyonu indirgeme gücü (FRAP) yöntemlerine göre antioksidan aktivitelerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Tıbbi adaçayında taze herba verimi 500.0-961.0 kg/da, kuru herba verimi 223.4-556.6 kg/da, kuru yaprak verimi 129.6-367.2 kg/da, uçucu yağ oranı %0.83-3.33, toplam fenolik madde miktarı 14.54-30.83 mg/g arasında değişim göstermiştir. Yaz ve güz aylarında hasat edilen bitkilerin herba ve yaprak verimleri, uçucu yağ oranları ve verimleri ile toplam fenolik madde miktarları kış ve bahar aylarında hasat edilen bitkilere göre daha yüksek bulunmuştur. Tıbbi adaçayının uçucu yağ kompozisyonunu oluşturan en önemli bileşenlerin 1,8-sineol (%11.93-31.87), α -tuyon (%15.72-26.26), β -tuyon (%4.51-27.67) ve kamfor (%3.65-23.02) olduğu, 1,8-sineol ve kamfor oranları ilkbahar aylarında daha düşük oranlarda, α - ve β -tuyon oranları ise ilkbahar aylarında daha yüksek oranlarda bulunduğu tespit edilmiştir. Tıbbi adaçayının en önemli fenolik bileşenlerinin ise rosmarinik asit (15.15-100.57 mg/g), naringin (9.59-41.81 mg/g), hesperidin (9.80-53.26 mg/g) ve rutin (0.73-10.04 mg/g) olduğu, en yüksek antioksidan aktivite Mayıs ve Haziran aylarında biçilen ve en düşük antioksidan aktivite ise Mart ve Nisan aylarında biçilen tıbbi adaçayı yapraklarında gözlenmiştir.

Effects of Different Harvesting Time on Essential Oil, Phenolic Compounds and Antioxidant Activity in Sage (*Salvia officinalis* L.)

Keywords
Salvia officinalis L.,
Harvesting time,
Essential oil,
Phenolic compounds,
Antioxidant activity

Abstract: This research aimed to determine the effect of different harvest times representing 12 months of a year on the herba and leaf yields, leaves essential oil content and composition, extract of total phenols by the Folin-Ciocalteu colorimetric method, phenolic components, antioxidant activities according to Free radical scavenging activity DPPH and ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) methods in common sage (*Salvia officinalis* L.). Fresh herb yield between 500.0 and 961.0 kg/da, dry herb yield between 223.4 and 556.6 kg/da, dry leaf yield between 129.6 and 367.2 kg/da, essential oil content between 0.83 and 3.33%, total phenolics between 14.54 and 30.83 mg/g were changed in common sage during the harvest periods of growing season. Herb and leaf yields, essential oil contents and yields, and total phenolics were found higher in the summer and autumn harvests in comparison to the winter and spring harvests. The main components of common sage essential oil were 1,8-cineole (11.93-31.87 %), α -thujone (15.72-26.26%), β -thujone (4.51-27.67%), and camphor (3.65-23.02%). While the ratios of 1,8-sineol and camphor of the common sage leaves essential oil were the least in spring season, the ratios of α and β -thujone were the highest in the same season. The most important phenolic compounds in the common sage extracts were rosmarinic acid (15.15-100.57 mg/g), naringin (9.59-41.81 mg/g), hesperidin (9.80-53.26 mg/g), and rutin (0.73-10.04 mg/g). The highest antioxidant activities of the leaves were found in the plants harvested in May and June, and the lowest antioxidant activities of the the leaves were found in the plants harvested in March and April.

1. Giriş

Adaçayı (*Salvia* L.), Lamiaceae familyasından değerli bir tıbbi ve aromatik bitkidir. *Salvia* cinsinde yer alan türler genellikle uçucu yağ zenginidirler ve bu nedenle farmakolojik olarak ve parfümeri sanayinde önemlidirler [1]. Lamiaceae (Labiatae) familyasına bağlı olan *Salvia* cinsinin dünya genelinde yayılış gösteren 900 kadar taksonu bulunmakla birlikte [2], ticari değeri en yüksek olanlar tıbbi adaçayı veya Dalmaçya adaçayı olarak adlandırılan *Salvia officinalis* L., Yunan veya Anadolu adaçayı olarak adlandırılan *Salvia fruticosa* Mill., (syn. *Salvia triloba* L.), elma adaçayı olarak adlandırılan *Salvia pomifera* L., İspanyol adaçayı olarak adlandırılan *Salvia lavandulaefolia* Vahl. ve misk adaçayı olarak adlandırılan *Salvia sclarea* L.'dir [3].

Türkiye florasında 97 kadar adaçayı türü doğal olarak yetişir (bunlardan 51'i endemiktir) [4]. Akdeniz ikliminin etkili olduğu bölgelerimizde "şalba" veya "çalba" olarak adlandırılan *Salvia fruticosa* ve *Salvia tomentosa* türleri doğadan yoğun olarak (yılda 1500 ton kadar) toplanmakta, başta ABD olmak üzere birçok ülkeye ihracat edilmektedir [5]. Türkiye florasında doğal olarak yetişen diğer önemli bir adaçayı türü olan *Salvia sclarea* L. (Misk adaçayı) ise ticari olarak değerlendirilmemektedir. Bu araştırmada, ülkemizde doğal olarak yetişen bu türler yerine, dünyada yaygın olarak kültürü yapılan ve son yıllarda Türkiye'de de kültürü yapılmaya başlayan tıbbi adaçayı (*Salvia officinalis* L.) kullanılmıştır.

Tıbbi adaçayının ekonomik olarak değerlendirilen kısımları yapraklarıdır (*Folia Salviae*). Yaprak epidermis hücrelerinden sapları tek, başları 1 veya 2 hücreli salgı (*gland*) tüyleri bulunur. Bu tüyler aynı zamanda en önemli uçucu yağ kaynağıdır [5]. Tıbbi adaçayı yapraklarında %0.5-2.5 arasında uçucu yağ bulunur. Tıbbi adaçayı uçucu yağının en önemli bileşenleri α ve β -tuyon, 1,8-sineol ve kamfordur. Uçucu yağında α -tuyon oranı %1-45, β -tuyon oranı %1-40 ve kamfor oranı %0.4-44 arasında değişir [6].

Tıbbi ve aromatik bitkiler, içerdikleri biyoaktif (etken) maddeler nedeniyle kültürü yapılan bitkilerdir. Biyoaktif maddeler ise bitkinin organlarına, bitkinin hayat devrelerine ve bitkinin biçim zamanlarına göre önemli değişiklikler gösterir. Bu nedenle tıbbi ve aromatik bitki üreticilerinin her şeyden önce kaynak bitkinin biyoaktif madde değişimini (varyabilitesini) çok iyi bilmesi ve etken maddelerce en zengin olduğu yerde, devrede ve zamanda toplaması, biçmesi, hasat etmesi gerekir.

Bu araştırmada, kültür koşullarında tıbbi adaçayında (*Salvia officinalis* L.) farklı hasat (biçim) zamanlarının yapraklardaki uçucu yağ içeriği ve kompozisyonu, yaprak ekstralarında toplam fenolik madde miktarı ve bileşikler ile DPPH ve FRAP yöntemleri ile antioksidan aktivitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Metot

Bu araştırma, 2013 ve 2014 yıllarında Isparta ili (37° 50' K ve 30° 32' D, 1008 m) Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümünde yürütülmüştür. Çalışmada materyal olarak tıbbi adaçayı (*Salvia officinalis* L.) kullanılmıştır.

Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü tıbbi ve aromatik bitkiler deneme tarlasında tıbbi adaçayının köklü sürgün çelikleri 23 Nisan 2010 tarihinde her biri 6 m uzunluğunda olan 12 parselde 1 m sıra arası ve 50 cm sıra üzeri mesafede dikilmiştir. Her bir deneme parseli, kenar tesiri dışında kalan 12 bitki ile temsil edilmiştir. Deneme parsellerindeki bitkilerin tamamı klonal olarak çoğaltıldığı için genetik olarak saftırlar. Deneme arazisi oldukça homojen yapıda olup tesadüf parselleri deneme desenine göre değerlendirmeye uygun özellikler taşımaktadır. Tesis yılından itibaren her yıl dekara 10 kg saf N ve 10 kg P₂O₅ düşecek şekilde gübre uygulanmış, mekanik yöntemlerle yabancı ot mücadelesi ve kurak geçen yaz mevsiminde damla sulama şeklinde sulama yapılmıştır.

Tıbbi adaçayı bitkileri Aralık (2013) ayından Kasım (2014) ayına kadar bir yıllık süreçte 12 farklı dönemde (her bir deneme parseli bir hasat dönemini temsil etmektedir) her ayın ortasında toprak seviyesinden 15 cm yukarıdan biçilerek hasat edilmişlerdir. Tıbbi adaçayı parselleri 2014 yılında 25-28 Mayıs tarihleri arasında çiçeklenmeye başlamışlardır. Her bir hasat döneminde her bir deneme parselinde ardışık olarak yan yana yetişen 12 bitki rastgele 3 tekerrürlü olarak tasnif edilmiştir. Her bir tekerrürü temsil eden bitkiler oda koşullarında kurutma rafları üzerinde gölgede kurutulmuştur. Kurutulan bitkilerde yapraklar saplarından ayrılmış ve elde edilen kuru yaprak örnekleri analiz yapılmaya kadar +4 °C'de muhafaza edilmiştir [7]. Böylelikle taze herba verimi (kg/da), kuru herba verimi (kg/da) ve kuru yaprak verimi (kg/da) belirlenmiştir.

Uçucu yağ oranının belirlenmesi (%): Farklı hasat zamanlarında biçilen tıbbi adaçayı yaprakları kurutulduktan sonra içerdikleri uçucu yağ oranları belirlenmiştir. Uçucu yağ elde etmek için Clevenger tipi hidro-distilasyon cihazında 3 saat süreyle damıtma işlemi yapılmış, elde edilen uçucu yağların miktarları ml olarak ölçülerek % oranları (v/w) belirlenmiştir.

Uçucu yağ bileşiklerinin belirlenmesi (%): Farklı hasat zamanlarında biçilerek kurutulan tıbbi adaçayı yapraklarından elde edilen uçucu yağların bileşenleri GC/MS (Gas chromatography/Mass spectrometry) cihazında belirlenmiştir. Kolon olarak CP-Wax 52 CB (50 m x 0.32 mm; film thickness = 0.25 μ m)

kullanılmıştır. Fırın sıcaklığı programı: 60 °C'den 220 °C'ye dakikada 10 °C'de artırılarak çıkartılmış ve 220 °C' de 10 dakika bekletilmiştir. Enjeksiyon bloğu sıcaklığı 240 °C, Dedektör sıcaklığı 250 °C, Dedektör enerji akışı 70 eV, İyonlaştırma türü: El, Kullanılan gaz: Helyum (20 ml/dak.), Akış hızı 10 psi, kütüphaneler Wiley, Nist, Tutor, numune hazırlık: 7.5 mikrolitre uçucu yağ üzerine 1500 mikrolitre diklorometan katılmıştır.

Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi (mg/g): Fenolik madde ekstraksiyonu için farklı hasat zamanlarında biçilerek kurutulan yaprak örnekleri kullanılmıştır. Toz haline getirilmiş 2.5 g yaprak örneği 10 ml metanolde 30 dakika süreyle ultrasonik su banyosunda tutulduktan sonra 24 saat süreyle 4 °C'de bekletilmişlerdir. Filtrasyon işleminin ardından rotary evaporatör yardımıyla metanol uzaklaştırılarak kuru ekstraktlar elde edilmiştir. Ekstraktlarda toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu kolorimetrik metot kullanılarak Singleton ve Rossi'ye [8] göre yapılmıştır. Absorbans okumaları spektrofotometrede (PG Instruments T70 Plus Dual Beam Spectrophotometer, Arlington, MA, USA) 765 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı gallik asit (GAE) eşdeğeri olarak mg/g cinsinden hesaplanmıştır ($y = 24.648x + 0.0312$; y absorbans değerini ve x fenolik madde miktarını ifade etmektedir).

Fenolik bileşiklerin belirlenmesi (mg/g): Fenolik madde ekstraksiyonunda açıklanan ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktlarda fenolik bileşikler Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) ile Caponio vd. [9] tarafından açıklanan metot yardımıyla analiz edilmiştir. Farklı hasat zamanlarını temsil eden ekstraktlar 0.45 µm'lik membran filtreden süzöldükten sonra fenolik bileşikler ve miktarları (µg/ml ekstre) belirlenmiştir. HPLC cihazı: Shimadzu, Dedektör: SPD-M20 A DAD dedektör ($\lambda_{max}=800$), Pump: LC-20AD, Degasser: DGU-20A, Column oven: CTO-10 AS vp, Kolon: Alltech-C18 (250x4.60 mm, 5 µm), Mobil faz : A : Asetik asit-Ultra saf su (2:98), B: Metanol, Akış hızı: 0.8 ml dak, Kolon sıcaklığı: 40 °C.

Antioksidan aktivite analizleri: Farklı hasat zamanlarında biçilerek kurutulan tıbbi adacıyı yapraklarının antioksidan aktiviteleri DPPH (1,1-difenil-2-pikril-hidrazil) ve demir iyonu indirgeme gücü yöntemlerine göre yapılmıştır (10, 11).

DPPH yöntemiyle antioksidan aktivitesinin belirlenmesi: Tıbbi adacıyı yapraklarının serbest radikal yakalama aktivitesi DPPH yöntemiyle BHT (bütillenmiş hidroksitoluen), BHA (bütillenmiş hidroksiyanozil) ve Trolox [(±)-6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit] sentetik antioksidanlarla karşılaştırılarak yapılmıştır [10]. Metanol kullanılarak 25, 50 ve 100 ppm olmak üzere 3 farklı konsantrasyonda hazırlanmış örneklerden 1 ml alınarak, üzerine metanolde hazırlanmış 0.2 mM

DPPH çözeltisinden 1 ml ilave edilmiştir. Vortekslenen örnekler 30 dakika karanlıkta ve oda sıcaklığında bekletildikten sonra 517 nm dalga boyunda spektrofotometrede (PG Instruments T70 Plus Dual Beam Spectrophotometer, Arlington, MA, USA) ölçümü yapılmıştır. Tıbbi adacıyı yapraklarının serbest radikal süpürücü aktivitesi aşağıdaki formülle belirlenmiştir: Antioksidan aktivite (%) = [(kontrol absorbans değeri - örnek absorbans değeri) / kontrol absorbans değeri] x 100

FRAP yöntemiyle (demir iyonu indirgeme gücü) antioksidan aktivitenin belirlenmesi: Örneklerin demir iyonu indirgenme gücü Oyaizu [11]'ya göre belirlenmiştir. Buna göre 50 ppm konsantrasyonunda hazırlanan 2.5 ml örnek üzerine 2.5 ml 200 mM sodyum fosfat bafır (pH 6.6) ile 2.5 ml %1'lik potasyum ferrisiyanidin ilave edilip karıştırılmıştır. 50 °C'de 20 dakika bekletildikten sonra üzerlerine 2.5 ml %10'luk trikloroasetik asit eklenmiş ve 200 x g'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Üst fazdan 5 ml alınıp üzerine 5 ml deiyonize su ile 1 ml %0.1'lik demir klorit eklenmiştir. Süpernatantların absorbans değerleri sentetik antioksidanlarla (BHA, BHT ve Trolox) karşılaştırılarak spektrofotometrede (PG Instruments T70 Plus Dual Beam Spectrophotometer, Arlington, MA, USA) 700 nm dalga boyunda belirlenmiştir. Yüksek absorbans değeri yüksek antioksidan aktiviteyi ifade etmektedir.

2.1. Verilerin değerlendirilmesi

Elde edilen veriler tesadüf parselleri deneme deseninde üç tekerrürlü olarak varyans analizi yapılmış ve incelenen özelliklere ilişkin ortalamalar arasındaki istatistiksel farklılıklar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir.

3. Bulgular ve Tartışma

Tıbbi adacıyında taze herba, kuru herba ve kuru yaprak verimleri ile uçucu yağ oranı ve toplam fenolik madde miktarına ilişkin ortalama değerler Tablo 1'de sunulmuştur. Varyans analizi sonuçlarına göre aylar (hasat zamanları) arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak %1 seviyesinde önemli bulunmuştur ($p<0.01$). Tıbbi adacıyında taze herba verimi 500 ve 961 kg/da, kuru herba verimi 223.4 ve 556.6 kg/da, kuru yaprak verimi ise 129.6 ve 367.2 kg/da arasında değişim göstermiş, taze herba verimi en fazla Ağustos ve Eylül aylarında, kuru herba verimi en fazla Temmuz ayında, kuru yaprak verimi en fazla Temmuz, Ağustos ve Eylül aylarında elde edilmiştir (Tablo 1).

Alman farmakopesine (Deutsches Arzneibuch, DAB, 8th Edition) göre *Salvia officinalis* L. uçucu yağ oranının %1.0-2.5 aralığında (ortalama %1.5) olması istenmektedir. Araştırmamızda, en düşük uçucu yağ oranı %0.83 ile Kasım ayında ve en yüksek uçucu yağ oranı %3.33 ile Ağustos ayında hasat edilen tıbbi adacıyında tespit edilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Tıbbi adacıyının aylara göre taze herba, kuru herba ve kuru yaprak verimleri ile uçucu yağ oranı ve toplam fenolik madde miktarına ilişkin ortalama değerler ve oluşan Duncan önemlilik grupları

Aylar	Taze herba verimi (kg/da)	Kuru herba verimi (kg/da)	Kuru yaprak verimi (kg/da)	Uçucu yağ oranı (%)	Toplam fenolik madde (mg/g)
Aralık	542.0 hi*	273.5 f	160.5 e	1.15 fg	29.86 a
Ocak	500.0 j	243.3 g	145.5 ef	1.75 de	23.47 c-e
Şubat	525.0 i	237.4 g	136.7 ef	1.75 de	19.93 ef
Mart	557.0 h	223.4 g	134.6 ef	1.00 fg	17.39 fg
Nisan	608.0 g	225.9 g	129.6 f	1.08 fg	14.54 g
Mayıs	704.3 f	434.5 d	243.6 d	1.17 fg	20.48 d-f
Haziran	805.3 d	515.8 b	330.3 bc	1.42 ef	24.25 b-e
Temmuz	921.7 b	556.6 a	357.9 ab	2.08 cd	21.46 d-f
Ağustos	953.0 a	528.9 b	367.2 a	3.33 a	25.55 a-d
Eylül	961.0 a	483.4 c	340.7 ac	2.67 b	27.75 a-c
Ekim	854.7 c	464.7 c	328.3 c	2.42 bc	30.83 a
Kasım	749.0 e	402.7 e	257.2 d	0.83 g	29.36 ab

*Aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli değildir.

Tablo 2. Tıbbi adacıyı yapraklarından elde edilen uçucu yağların aylara göre içerik ortalama değerleri*.

Bileşenler	Rt**	Aylar											
		Ar	Oc	Şu	Ma	Ni	Ma	Ha	Te	Ağ	Ey	Ek	Ka
α-pinen	6.55	1.85	2.62	3.60	3.88	5.15	1.94	2.71	3.17	3.10	3.03	2.69	6.63
Kamfen	7.12	3.15	4.21	5.12	1.35	1.90	1.44	4.18	6.17	5.09	4.93	4.43	3.38
Limonen	10.39	1.71	1.55	1.67	1.25	1.51	1.08	1.52	2.20	1.55	1.63	1.75	1.89
1,8-sineol	10.52	23.14	30.10	27.64	14.72	14.36	11.93	16.47	16.30	30.35	31.87	28.53	20.57
α-tuyon	14.41	21.08	17.34	15.72	26.26	24.71	19.69	19.50	17.79	17.75	18.61	21.30	23.87
β-tuyon	15.32	6.16	4.83	4.51	27.67	26.20	18.97	19.83	27.08	5.28	5.24	17.32	22.18
Kafur	16.72	23.02	18.01	17.94	4.25	3.65	5.29	6.57	8.24	20.24	20.89	5.09	7.25
Bornil asetat	25.51	0.44	0.31	5.13	6.52	7.35	6.81	4.38	3.26	2.04	1.42	1.60	1.25
α-humulen	36.38	0.69	1.05	0.62	0.22	0.10	6.43	2.90	1.56	0.44	0.25	0.52	0.30

*ISO 9909'a göre tıbbi adacıyı uçucu yağında standartları belirtilen bileşenler verilmiştir. **Geliş zamanı

Genel olarak bahar mevsiminde uçucu yağ içeriğinin diğer mevsimlere göre daha düşük olduğu (%1.0-1.2 arasında değiştiği) bulunmuştur. Ancak bu mevsimde dahi tıbbi adacıyalarının en alt sınır olan %1'in üzerinde uçucu yağ içerdikleri belirlenmiştir.

Fenolikler, bitkilerde doğal antioksidan olarak görev yapan en önemli sekonder metabolitlerdir ve toplam fenolik madde miktarı ile antioksidan aktivite arasında yakın bir ilişki vardır (8). Araştırmamızda toplam fenolik madde miktarı Ekim ve Aralık aylarında sırasıyla 30.83 ve 29.86 mg/g olarak en yüksek (aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli değil) tespit edilmiştir (Tablo 1). Bahar ayları, uçucu yağ miktarları gibi toplam fenolik madde miktarı bakımından da en düşük değerleri göstermiştir.

Tıbbi adacıyında uçucu yağ kalitesi üzerine etki eden en önemli faktör uçucu yağı meydana getiren bileşikler ve bu bileşiklerin kompozisyonudur. Tıbbi adacıyı uçucu yağında toplam 24 adet uçucu yağ bileşiği tespit edilmiş olmakla birlikte, Tablo 2'de ISO 9909'a göre tıbbi adacıyı uçucu yağında standartları belirtilen bileşenler verilmiştir. Oransal olarak en önemli uçucu yağ bileşenlerinin 1,8-sineol, α-tuyon, β-tuyon ve kamfor olduğu, 12 aylık hasat (biçim) periyodu boyunca 1,8-sineol %11.93-31.87, α-tuyon %15.72-26.26, β-tuyon %4.51-27.67 ve kamfor %3.65-23.02 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Genel olarak 1,8-sineol ve kamfor oranları ilkbahar aylarında daha düşük, α- ve β-tuyon oranları ise ilkbahar aylarında daha yüksek bulunmuştur (Tablo 2).

ISO 9909 (1997)'a göre ise *Salvia officinalis* L.'in uçucu yağındaki bileşenlerin α -tuyon %18.0-43.0, β -tuyon %3.0-8.5, kamfor %4.5-24.5, 1,8-sineol %5.5-13.0, kamfen %1.5-7.0, limonen %0.5-3.0, α -humulen < %12.0, α -pinen %1.0-6.5, bornil asetat < %2.5 ve linalol+linalil asetat < %1.0 değerlerinde bulunması gerektiği belirtilmiştir [12].

Tablo 2'de verilen 12 farklı hasat döneminden elde edilen tıbbi adaçayı yapraklarına ait uçucu yağların büyük ölçüde ISO 9909 standardına uyum sağladığı, ilgili standartta yer alan uçucu yağ bileşikleri için belirlenen alt ve üst sınırlar dikkate alındığında bütün aylara ait uçucu yağlarda 6-9 bileşimin bu sınırlar arasında bulunduğu tespit edilmiştir.

Adaçayı fenolikleri yüksek antioksidan etkileri nedeniyle son yıllarda birçok araştırmaya konu olmuştur [13, 14]. Tıbbi adaçayında aylara göre DPPH ve FRAP yöntemlerine göre elde edilen antioksidan aktivite değerleri Tablo 3'te verilmiştir. DPPH 25 ppm konsantrasyonunda serbest radikal süpürücü aktivitesi Mayıs ve Haziran aylarında sırasıyla %44.60 ve %42.73 ile en yüksek, Nisan

ayında ise %30 ile en düşük bulunmuştur (Tablo 3). Sentetik antioksidanlar olan bütillenmiş hidroksi toluen (BHT), bütillenmiş hidroksi anisol (BHA) ve Trolox %55.77, %89.53 ve %96.43 oranında tespit edilmiştir. Mayıs ayına ait antioksidan aktivitenin BHA'ya yakın düzeyde olduğu saptanmıştır (Tablo 3). DPPH 50 ppm konsantrasyonunda da en yüksek serbest radikal süpürücü etki, Mayıs ve Haziran aylarında (sırasıyla %69.33 ve %68.30), en düşük etki ise Mart ve Nisan aylarında (sırasıyla %47.43 ve %45.43) tespit edilmiştir. Aylar itibarıyla antioksidan aktivite oranları sentetik antioksidanların altında seyretse de, Mayıs ve Haziran aylarında BHT'ye yaklaştığı görülmüştür (Tablo 3). DPPH 100 ppm konsantrasyonunda, Mayıs ve Haziran aylarında hasat edilen tıbbi adaçayı yaprak ekstreleri sırasıyla %96.27 ve %96.23 ile en yüksek serbest radikal süpürücü aktivite gösterirken, aynı konsantrasyonda en düşük aktiviteyi %63.50 ile Nisan ayında hasat edilen tıbbi adaçayı yaprak ekstreleri göstermiştir. Mayıs ve Haziran hasat zamanlarına ait antioksidan aktivitenin BHT ve BHA'yı geçtiği, Trolox'a çok yaklaştığı tespit edilmiştir (Tablo 3).

Tablo 3. Tıbbi adaçayı ekstrelerinde DPPH ve FRAP yöntemlerine göre elde edilen antioksidan aktivite ortalamaları ve oluşan Duncan önemlilik grupları

Aylar	DPPH (%)			FRAP (A° 700 nm)
	25 ppm	50 ppm	100 ppm	(50 ppm)
Aralık	32.43 g-i*	54.53 f	77.73 e	1.70 i
Ocak	34.03 f-h	58.93 de	84.50 cd	1.90 gh
Şubat	33.07 f-i	58.83 de	82.80 d	1.70 i
Mart	31.27 g-i	47.43 g	76.33 e	1.73 i
Nisan	30.00 i	45.43 g	63.50 f	1.73 i
Mayıs	44.60 d	69.33 c	96.27 a	2.50 d
Haziran	42.73 d	68.30 c	96.23 a	2.57 d
Temmuz	37.93 e	60.60 d	89.63 b	2.20 e
Ağustos	34.10 f-h	54.23 f	84.73 cd	2.03 fg
Eylül	34.40 fg	55.90 ef	85.67 cd	2.16 ef
Ekim	36.50 ef	59.57 de	90.57 b	2.30 e
Kasım	30.67 hi	54.17 f	86.90 c	1.80 hi
BHT	55.77 c	85.40 b	91.67 b	3.33 c
BHA	89.53 b	94.90 a	95.03 a	3.63 b
TROLOX	96.43 a	97.13 a	97.00 a	3.93 a

*Aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli değildir.

Tablo 4. Tıbbi adacıyı ekstrelerinde aylara göre fenolik bileşik miktarlarının ortalama değerleri (mg GA/g ekstre) ve oluşan Duncan önemlilik grupları

Bileşikler	Aylar											
	Ara.	Oca.	Şub.	Mar.	Nis.	Mar.	Haz.	Tem.	Ağu.	Eyl.	Eki.	Kas.
Gallik asit	0.03 c-e*	0.04 bc	0.03 de	0.05 b	0.05 ab	0.00 f	0.03 de	0.02 e	0.04 b-d	0.03 c-e	0.02 e	0.06 a
Kafeik asit	0.10 f	0.15 cd	0.15 cd	0.15 c-e	0.12 d-f	0.11 ef	0.19 bc	0.21 b	0.20 b	0.18 bc	0.15 c-e	0.37 a
Klorojenik asit	0.48 b	0.48 b	0.55 a	0.16 e	0.13 e	0.16 e	0.34 c	0.32 c	0.26 d	0.32 c	0.35 c	0.33 c
Ferulik asit	0.27 d	0.16 e	0.17 e	0.05 g	0.09 f	0.09 f	0.03 g	0.032 g	0.35 c	0.42 c	0.47 a	0.08 f
Rosmarinik asit	46.80 c	49.67 c	49.83 c	25.10 de	15.15 e	47.15 c	100.57 a	40.49 cd	29.22 de	34.96 cd	34.05 cd	69.0 b
p-Kumarik asit	0.05 b	0.05 bc	0.05 b	0.04 b-d	0.04 d	0.03 d	0.04 b-d	0.04 b-d	0.05 bc	0.052 bc	0.05 b	0.08 a
Kuarsetin	0.66 a	0.65 a	0.66 a	0.38 c-e	0.35 de	0.21 f	0.43 b-d	0.45 b-d	0.56 ab	0.51 bc	0.37 c-e	0.25 ef
Rutin	4.99 c	4.54 c	4.94 c	1.16 d	0.95 d	0.73 d	1.91 d	6.12 b	9.24 a	10.04 a	6.56 b	4.72 c
Naringin	26.55 b	23.63 bc	25.4 b	17.80 cd	14.93 de	9.59 e	24.55 bc	26.10 b	25.66 b	25.97 b	21.66 b-d	41.81 a
Hesperidin	18.59 d	20.53 cd	17.92 de	9.80 g	53.26 a	16.83 d-f	29.27 b	19.06 d	13.10 e-g	15.24 d-f	12.51 fg	25.16 bc

*Aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli değildir.

FRAP yöntemine göre en yüksek antioksidan aktivite değerleri Mayıs ve Haziran aylarında sırasıyla 2.50 ve 2.57 olarak, en düşük antioksidan aktivite değerleri ise Aralık, Şubat, Mart ve Nisan aylarında sırasıyla 1.70, 1.70, 1.73 ve 1.73 olarak (aralarında istatistiksel olarak fark yoktur) ölçülmüştür. Bu konsantrasyonda sentetik antioksidanlar arasında Trolox en yüksek (3.93) ve BHT en düşük (3.33) değer göstermiştir (Tablo 3).

Bu araştırmada DPPH ve FRAP antioksidan aktivite değerleri birlikte değerlendirildiğinde, tıbbi adacıyı yapraklarından elde edilen ekstrelerde en yüksek antioksidan aktivite aynı zamanda çiçeklenme devresi olan Mayıs ve Haziran aylarında ve en düşük antioksidan aktivite ise kış mevsiminden sonra Mart ve Nisan aylarında tespit edilmiştir.

Tıbbi adacıyının antioksidan aktivitesi ve serbest radikal süpürücü aktivitesi üzerinde toplam fenolik maddeyi meydana getiren fenolik bileşenler doğrudan etki göstermektedir (15). Tıbbi adacıyı ekstrelerinde aylara göre fenolik bileşik miktarlarının ortalama değerleri Tablo 4'te sunulmuştur. Tıbbi adacıyı yaprak ekstrelerinde en önemli fenolik bileşiklerin rosmarinik asit (15.15-100.57 mg/g), naringin (9.59-41.81 mg/g), hesperidin (9.80-53.26

mg/g) ve rutin (0.73-10.04 mg/g) olduğu belirlenmiştir (Tablo 4).

En yüksek rosmarinik asit miktarı Haziran ayında 100.57 mg/g en düşük rosmarinik asit miktarı Nisan ayında 15.15 mg/g olarak saptanmıştır. Aylar itibarıyla naringin miktarı en düşük Mayıs ayında 9.59 mg/g ve en yüksek Kasım ayında 41.81 mg/g olarak tespit edilmiş, kış ve yaz ayları boyunca hasat edilen tıbbi adacıyı bitkilerinde naringin miktarı birbirlerine yakın seviyelerde tespit edilmiştir. Hesperidin miktarı ise en yüksek Nisan ayı biçiminde 53.26 mg/g olarak ve en düşük Mart ayı biçiminde 9.80 mg/g olarak saptanmıştır. En yüksek rutin miktarları Ağustos ve Eylül aylarında sırasıyla 9.24 ve 10.04 mg/g olarak, en düşük ise Mart, Nisan, Mayıs ve Haziran aylarında sırasıyla 1.16, 0.95, 0.73 ve 1.91 mg/g olarak tespit edilmiştir (Tablo 4).

4. Sonuç

Tıbbi adacıyında genel olarak yaz ve güz aylarında biçilerek hasat edilen bitkilerin herba ve yaprak verimleri, uçucu yağ oranları ve toplam fenolik madde miktarları kış ve bahar aylarında hasat edilen bitkilere göre daha yüksek bulunmuştur. Her biçim döneminde de uçucu yağı meydana getiren en önemli bileşiklerin 1,8-sineol, α -tuyon, β -tuyon ve kamfor

olduğu, genel olarak 1,8-sineol ve kamfor oranları ilkbahar aylarında daha düşük oranlarda, α ve β -tuyon oranları ise ilkbahar aylarında daha yüksek oranlarda bulunduğu tespit edilmiştir.

Tıbbi adaçayı yaprak ekstrelerinde en önemli fenolik bileşenlerinin rosmarinik asit, naringin, hesperidin ve rutin olduğu, antioksidan etkisi en güçlü fenoliklerden birisi olan rosmarinik asidin Kasım ve Şubat ayları arasında biçilen bitkilerde daha yüksek, Mart ve Nisan aylarında biçilen bitkilerde ise daha düşük miktarlarda bulunduğu saptanmıştır.

Tıbbi adaçayında toplam fenolik madde miktarı ile yüksek antioksidan aktivite arasında olumlu bir ilişki olduğu, en yüksek antioksidan aktivitenin aynı zamanda çiçeklenme devresi olan Mayıs ve Haziran aylarında biçilen ve en düşük antioksidan aktivitenin ise kış mevsiminden sonra Mart ve Nisan aylarında biçilen tıbbi adaçayı yapraklarında gerçekleştiği bulunmuştur.

Sonuç olarak, tıbbi adaçayında (*Salvia officinalis* L.) verim ve kaliteden beklenen hedeflere bağlı olarak hasat zamanının optimize edilebileceği ve ortaya çıkan varyabiliteler dikkate alınarak en yüksek verim ve kalitede drog elde edilecek dönemlerde hasat işleminin yapılması gerektiği anlaşılmıştır.

Kaynakça

- [1] Gürbüz, B. 2002. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanımı ve Değerlendirilmesi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Ders Notları, Ankara.
- [2] Tutin, T.G., Heywood, V.H., Burges, N.A., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, S.M., Webb, D.A., (eds) 1972. Flora Europaea, 3, Cambridge University Press.
- [3] Dweck, A., 2000. The Folklore and Cosmetic Use of Various *Salvia* Species. In Sage: The Genus *Salvia* (Edited by Spiridon E. Kintzios). Harwood Academic Publishers, The Netherlands, 1-26.
- [4] İpek, A., Gürbüz, B., 2010. Türkiye Florasında Bulunan *Salvia* Türleri ve Tehlike Durumları. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi, 19(1-2), 30-35.
- [5] Baydar, H., 2016. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bilimi ve Teknolojisi (Genişletilmiş 5. Baskı). Süleyman Demirel Üniversitesi, Yayın No: 51.
- [6] Giannouli, A.L., Kintzios, S.E., 2000. Essential Oils of *Salvia* spp: Examples of Intraspecific and Seasonal Variation. In Sage: The Genus *Salvia*. (Edited by Spiridon E. Kintzios). Harwood Academic Publishers, 69-79.
- [7] Karakuş, M., 2014. Tıbbi Adaçayı (*Salvia officinalis* L.) Populasyonundan Seçilmiş Klon Hatlarının Drog Verimleri ve Kalite Özellikleri. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 92s, Isparta.
- [8] Singleton, V.L., Rossi, J.A., 1965. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16, 144-158.
- [9] Caponio, F., Alloggio, V., Gomes, T., 1999. Phenolic Compounds of Virgin Olive Oil: Influence of Paste Preparation Techniques. Food Chemistry, 64, 203-209.
- [10] Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., Nakamura, T., 1992. Antioxidative Properties of Xanthan on the Autoxidation of Soybean Oil in Cyc lodextrin Emulsion. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 40, 945-948.
- [11] Oyaizu, M., 1986. Studies on Products of Browning Reaction: Antioxidative Activities of Products of Browning Reaction Prepared from Glucosamine. Japanese Journal of Nutrition, 44, 307-315.
- [12] ISO 9909, 1997. Oil of Dalmatian Sage (*Salvia officinalis* L.), American National Standards Institute (ANSI), New York, NY, USA.
- [13] Durling, N. E., Catchpole, O. J., Grey, J. B., Webby, R. F., Mitchell, K. A., Foo, L. Y., Perry, N. B., 2007. Extraction of Phenolics and Essential Oil From Dried Sage (*Salvia officinalis* L.) Using Ethanol-Water Mixtures. Food Chemistry, 101 (4), 1417-1424.
- [14] Özcan, M., Özkan, G., 2015. Determination of antioxidant activity and total phenol contents of two *Salvia* extracts. Indian Journal of Traditional Knowledge 14 (12), 226-230.
- [15] Baydar, H., Özkan G., Erbaş S., Altındal D., 2007. Yield, Chemical Composition and Antioxidant Properties of Extracts and Essential Oils of Sage and Rosemary Depending on Seasonal Variations. International Medicinal and Aromatic Plants Conference on Culinary Herbs, 826, 383-390.