

T.C.

ANADOLU ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SAFLAŞTIRILMIŞ SIĞALA YAĞININ
ANALİTİK İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Müh. Samiye FIÇICIOĞLU



Anadolu Üniversitesi
Merkez Kütüphane

ANADOLU ÜNİVERSİTESİ
TIBBİ BİTKİLER ARAŞTIRMA MERKEZİ

Eskişehir 1988

ANADOLU ÜNİVERSİTESİ
MERKEZ KÜTÜPHANESİ

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım süresince, gösterdiği maddi ve manevi yardımlarından dolayı Eczacılık Fakültesi Dekanı Prof.Dr. İhsan SARIKARDAŞOĞLU'na

Tıbbi Bitkiler Araştırma Merkezi'nin tüm olanaklarından faydalanmamı sağlayan, yapıcı eleştirileri ile çalışmalarına katkıda bulunan ve konuyu destekleyen Merkez Müdürü Prof.Dr. K.Hüsnü Can BAŞER'e,

Çalışmalarımda değerli bilgilerinden yararlandığım, fikirleri ile beni yönlendiren, yakın ilgi ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen tez danışmanım, Doç.Dr. Muzaffer TUNÇEL'e,

Değerli bilgilerinden yararlandığım Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyelerinden Yard.Doç.Dr. Neşe KIRIMER'e, Doç.Dr. Yusuf ÖZTÜRK'e, Yard.Doç.Dr. Şeref DEMİRAYAK'a,

Tez çalışmalarımı büyük yardımlarını gördüğüm Tıbbi Bitkiler Araştırma Merkezi Uzmanlarından Kim.Y.Müh. M.B. NARASIMHA'ya,

Ayrıca, büyük yardımlarını gördüğüm Araş.Gör. Ö.Mete KOÇKAR'a, Tıbbi Bitkiler Merkezi Uzmanlarından Kim.Y.Müh. Temel ÖZEK'e, Kim.Y.Müh. Sedat Hakkı BEİS'e ve diğer çalışma arkadaşlarıma,

Kimyasal maddelerin sağlanmasında yardım ve yakın ilgilerini esirgemeyen Dr. Füsun YETİMOĞLU'na,

Sonsuz maddi ve manevi desteklerinden dolayı anneme, babama ve kardeşime,

En içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI	3
2.1. Sığıla Yağı Elde Edilen Cins ve Türler	3
2.2. Yurdumuzda Sığıla Yağı Elde Edilen <u>Liquidambar</u> <u>orientalis</u> Mill.'in Yayılışı	6
2.3. Sığıla Yağının Elde Ediliş Yolu	6
2.4. Ham Sığıla Yağının Saflaştırılması	7
2.5. Sığıla Yağının Kullanım Alanları	8
2.6. Sığıla Yağının Biyolojik Etkileri	8
2.6.1. Farmakolojik Etkileri	8
2.6.2. Toksik Etkileri	10
2.7. Sığıla Yağının Bileşimindeki Maddelerin Kimyasal Yapıları	10
2.8. Saf Sığıla Yağının Kalite Kontrol Yöntemleri	14
3. MATERYAL VE YÖNTEM	15
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	15
3.2. Kullanılan Aletler	15
3.3. Deneysel Bölüm	16
4. BULGULAR	21
5. SONUÇ VE TARTIŞMA	30
ÖZET	36
SUMMARY	37

Sayfa No

KAYNAKLAR	38
ÖZGEÇMİŞ	43

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Türkiye değişik iklim koşullarına sahip olması ve Avrupa-Sibirya florası bitkilerinin hakim olduğu Kuzey Anadolu ve Akdeniz florasının hakim olduğu Batı ve Güney Anadolu bölgesi ile İran-Turan florası bitkilerinin bulunduğu Orta ve Doğu Anadolu bölgesinin birleştiği bir kesimde bulunması nedeniyle bitki türü bakımından olağanüstü çeşitliliğe sahip bir ülkedir. Değişik kaynaklarda Türkiye florasının 8 500 kadar türe sahip olduğu belirtilmektedir (1-3).

Yurdumuzun bitki örtüsünün ilginç özelliklerinden birisi de endemik ve relik türlerin sayısının fazla oluşudur. Bu özelliğe sahip ağaç türlerimiz arasında, ülkemizin Güneybatı yöresinde yetişen ve Hamamelidaceae familyasının ülkemizdeki tek üyesi olan Liquidambar orientalis Mill. (Sığala ağacı, Günlük ağacı) bulunmaktadır.

Liquidambar orientalis ormanları iki yönden önem taşımaktadır. Bunlardan ilki floristik açıdan, ikincisi ise bu ağaçlardan elde edilen sığala yağının taşıdığı ekonomik değer yüzündendir.

Drog, içerdiği yüksek kaynama noktalı bileşiklerden dolayı parfümeri sanayiinde, sabunların ve kozmetik ürünlerin formülasyonunda fiksator olarak, ayrıca sinnamik asit, sinnamil alkol gibi bileşiklerin doğal kaynağı olarak kullanım alanı bulmaktadır. Bunlar haricinde sığala yağından su buharı distilasyonu ile elde edilen nötral uçucu yağ, pek çok değerli parfümün bileşiminde yer almaktadır (4,5).

Bu araştırmada; özel bir değeri olan sığala yağının değerlendirilebilmesine yönelik çalışmalar amaçlanmıştır.

Önce ham haldeki sığala yağının, özgün bileşiminin değişmemesine

özen gösterilerek, ekonomik ve arzu edilen kalitede saf balsam eldesine olanak veren saflaştırma işlemleri üzerinde çalışılmıştır. Elde edilen balsamların kaliteleri, balsam kalitelerinde kriter kabul edilen parametrelerin ölçülmesi ile belirlenmiş ve elde edilen sonuçların karşılaştırılmasıyla gerçekçi ve bilimsel bir yaklaşım sağlanacağı düşünülmüştür. Ayrıca, analitik ölçümler sürecinde literatür boşlukları araştırılarak, tayinlere duyarlılık ve kolaylık getirici yeni yöntemlerin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda, balsam içerisindeki serbest sinnamik asit miktarının daha duyarlı tayinine olanak veren potansiyometrik yol izlenmiş, dönüm noktası türev alma yöntemi ile tayin edilip sonuca ulaşılmıştır.

Sığıla yağı içerisinde serbest ve ester halinde bulunan sinnamik asitin basit, çabuk ve duyarlı tayini konusunda polarografik bir yöntem geliştirilmesine çalışılmıştır.

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

2.1. Sığıla Yağı Elde Edilen Cins ve Türler

Güney-Batı Anadolu'da yetişen Liquidambar orientalis Mill. (Sığıla ağacı, Günlük ağacı, Amber ağacı, Liquidambar imberbis Ait, Styrax baum, orientalischer Amberbaum, Styrax, Amber sail şarki) Hamamelidaceae familyasındandır (1,6-10).

Türün tayini ilk defa Levant (Doğu Akdeniz) havzasından gelen ve bahçede yetiştirilen materyal üzerinde yapılmıştır (6).

Sığıla cinsinin Kuzey ve Orta Amerika ile Batı ve Doğu Asya'da yetişen altı türü vardır. Bu türler içersinde en önemli olanları Kuzey Amerika'nın Atlantik bölgelerinde ve Orta Amerika'da yetişen L.styraciflua L., Çin ve Formosa'da yetişen L.formosana Hance, Güney-Doğu Asya'da yetişen L.altingia ve Türkiye'de, Muğla yöresinde endemik olarak yetişen L.orientalis Mill. sayılabilir.

L.formosana Hance ve L.altingia türlerinden elde edilen balsamlar bileşim bakımından Styrax Liquidus'tan farklıdır ve farmakopelerde kayıtlı değildir.

Styrax Americanus (Honduras balsamı) isimli balsam L.styraciflua L. den elde edilmekte ve Styrax Liquidus'a benzer bir kimyasal yapıya sahip olmasından dolayı kullanım alanlarında onun yerini alabilmektedir (7).

Liquidambar orientalis var. integriloba Fiori ve Liquidambar orientalis var. orientalis olmak üzere iki varyetesi bulunan sığıla ağacı Miyosen zamanından günümüze kalmış eski bir türdür. Bu tür 20 m

yükseklige kadar çıkabilen, kalın dallı, geniş tepeli, koyu kahye-
renkli kabuklu, çınar görünüşünde ve yaprak döken monoik bir ağaçtır
(1,3,6-8).



Şekil 1. Sığala ağacının çiçekli bir dalının görünüşü (8).

Şekil 1'de görüldüğü gibi yapraklar alternan dizilişte, palmat,

uzun saplı, stipulalıdır. Lamina el şeklinde, küt veya siyri üç-yedi lopa sahiptir. Her lop da iki-üç lopa bölünmektedir. Kenarları dentat veya serrat, küt dişlidir. Üst yüz tüysüz ve parlak yeşil renkli, alt yüz tüylü veya tüysüz, açık yeşil renklidir (1,8,9).

Erkek çiçekler küresel kümelerden oluşan salkımlar teşkil ederler. Stamen sayısı çok olup, filamentler kısadır. Dişi çiçekler, erkek salkımın alt tarafında bir yaprak koltuğundan çıkan, uzun saplı, sarkık kürecikler halinde toplanmışlardır. Kaliks küçüktür, korolla yoktur, dört ile on kadar verimsiz stamen vardır. Ovaryum yarıya kadar gömülüdür. Her gözde dört sıra üzerinde dizilmiş çok miktarda tohum taslağı bulunursa da bunlardan ancak bir-iki tanesi verimlidir. Stilus uzun ve iki parçalıdır. Her parça dışarı doğru kıvrık ve iç yüzleri stigma ile örtülüdür.

Meyva oldukça sertleşmiş ve odunlaşmış septisit bir kapsüldür. Bir çoğu birarada ve küremsi şekilli bir meyva oluştururlar.

Tohumlar 4-5 mm uzunluğunda, oval, yassı ve kısa kanatlıdır(8-10).

Sığıla ağaçlarının sürgün verme kabiliyetleri çok üstündür. Ağacın bu özelliği yanında, tohumdan ve filizden de yetiştirilebilmesi, mevcut ormanların gençleştirilmesi bakımından çok önemlidir (12).

2.2. Yurdumuzda Sığıla Yağı Elde Edilen Liquidambar orientalis Mill.'in Yayılışı

Yağışlı ve sıcak iklimleri seven ağaç, Muğla ilinde 26-30⁰ doğu boylam ve 36-38⁰ kuzey enlem dereceleri arasında, deniz seviyesinden 400 m yüksekliğe kadar yetişmekte ve Muğla (merkez), Marmaris, Köyceğiz, Milas ve Fethiye'de toplam 6310 hektar orman meydana getirmektedir. Ayrıca Rodos, Antakya ve Antalya'da da L.orientalis'e rastlanmaktadır (1,3,9).

2.3. Sığıla Yağının Elde Ediliş Yolu

Styrax Liquidus'un (Sığıla yağı, mia) üretimi Mart ayından itibaren 8 ay süreyle devam etmekte. Ağaçların yaralanması sonucu salgı hücrelerinin sayısı artar ve patolojik olarak sığıla yağı adıyla bilinen oleorezin meydana gelir.

Bu amaçla ağaçlarda yara açılacak kısımlar üzerindeki kabuk Mart ayı sonuna doğru 50 cm yüksekliğinde şeritler oluşturacak şekilde yontularak inceltir. Bu işlem göğüs çapı 10 cm den daha kalın ağaçlarda yapılır. Mayıs sonunda kaşık denilen aletle dış kabuk, kambiyum ve çok az miktarda da diri oduna girecek şekilde yaralar (damarlar) açılır. Damarların açılmasından bir hafta sonra yaralar tekrar sıyrılarak daha çok sayıda kanal oluşumu sağlanır. Bu işleme "Sur" adı verilir. Damarlarda biriken yağ iki hafta sonra kaşık ile sıyrılarak alınır. Bu işleme "Sur arkası" adı verilir. Temmuz ayı ortalarından Ekim ayının sonuna kadar her 15 günde bir yaralar üzerinde biriken yağ, ağacın kabuk kısmının kambiyuma kadar sıyrılmasıyla toplanır. Yağlı buhur (kap-

çık, veya günlük) denilen yongalar kazanda yarım ilâ bir saat kadar suyla kaynatılır. Daha sonra mekanik veya hidrolik preslerle sıkılarak yağ, su ile birlikte sıyrıntılardan ayrılır. Dibe çöken balsam, su uzaklaştırıldıktan sonra toplanır. İçinde bir miktar su ile kirlilikler içeren ham sığala yağı tenekelere doldurulup satışı sunulur.

Kalan yongalar kurutulduktan sonra "buhur" yada "günlük" adı ile tütsü olarak kullanılmaktadır (9-13).

2.4. Ham Sığala Yağının Saflaştırılması

Ham sığala yağının saflaştırılması işleminin % 90 etanolle yapılabileceği literatürde belirtilmiştir. Bu yöntemle göre ham sığala yağı, suyunun büyük bir kısmını kaybedinceye kadar ısıtılır, sıcak kalıntı etanolde çözününceye kadar karıştırılır. Etanolün fazlasında bulanıklık oluştuğu için drog-etanol oranı 1/1 olarak alınır. Elde edilen ekstrakt hemen süzülür, su banyosunda bekletilerek alkol uçurular ve saf sığala yağı elde edilir (9,13,14).

Guenther (4), saflaştırma işleminin % 95'lik etanolle yapılabileceğini belirtmiştir.

Walls (15), ham sığala yağının üç veya dört kez kendi hacmi kadar sıcak etanol ile karıştırılıp, süzülükten sonra etanolün uzaklaştırılması ile saflaştırılabileceğini bildirmiştir.

Literatürde, ham sığala yağının eterle de saflaştırılabileceği belirtilmiştir. Yapılan çalışmada, Soxhlet ekstraktöründe çözücü olarak eter kullanılmış, elde edilen çözelti, susuz sodyum sülfattan süzülmüş ve eter uzaklaştırıldıktan sonra saf sığala yağı elde edilmiştir (16).

2.5. Sığala Yağının Kullanım Alanları

Değişik kullanım alanı bulunan sığala yağından parfümeri, kozmetik ve sabun sanayiinde geniş ölçüde yararlanılmaktadır. Tüm doğal reçineler gibi sığala yağı da mükemmel bir fiksatördür. Parfümlere katılan ve bağlayıcı görevi gören bu reçine, farklı uçuculuklara sahip olan parfüm bileşenlerinin buhar basıncını arttırmakta, buna bağlı olarak da hızlı buharlaşmalarını önlemektedir.

Fiksatif özelliğinden dolayı parfümlere % 1-3 oranında katılmaktadır (4,5,9,10,13,17-19). Özel kokusundan dolayı ciklet ve tütünlerin kokulandırılmasında kullanılmaktadır (4,20,21). Sığala yağından su buharı distilasyonu ile elde edilen uçucu yağ, parfümeri sanayiinde aranan bir ürün olmuştur (4,5).

Sığala yağından tat verici olarak da yararlanılmaktadır. Balsam ve balsam ekstreleri (reçine veya absolü olarak), alkollü veya alkol-süz içeceklere, dondurulmuş sütlü tatlılara, şekerlemelere ve pudinglere % 0.001 oranında ilave edilmektedir (5).

Mikroskopî tekniğinde sabit preparat hazırlanmasında, ayrıca sinamik asit, sinamilalkol gibi kimyasal maddelerin doğal kaynağı olarak da sığala yağından faydalanılmaktadır (2,4,9,13,19).

2.6. Sığala Yağının Biyolojik Etkileri

2.6.1. Farmakolojik Etkileri

Sığala yağı çeşitli farmakolojik amaçlarla dahilen yada haricen kullanılabilir.

a) Dahilen kullanımı:

Sığıla yağı iyi bir ekspektoran olduğu için astım, bronşit, çeşitli nedenlere bağlı öksürükler ve akciğer hastalıklarında kullanılmaktadır(5,14,22,23).Bu amaçla kullanılan doz, 1-2 g kadardır (24). Halk arasında epilepsi tedavisinde de kullanılmaktadır (5).

b) Haricen kullanımı:

Insektisid ve parazitisid etkileri saptanmıştır. Uyuz tedavisinde, böcek kovucu olarak ve böcek ısırıklarından sonra oluşan ağrıyı dindirici olarak kullanılır. Tütsü halinde uygulanması sırasında insektisid etkisi belirgin biçimde görülür (14,23,26).

Antiseptik, antimikrobial ve antienflamatuar özellikleri de saptanmıştır. Bu nedenle çeşitli iltihaplı, cerahatlı ve akıntılı hastalıklarda kullanılmaktadır (5,14). Söz konusu antibakterial etki, büyük bir olasılıkla balsamın içerdiği sinnamik asit nedeniyle ortaya çıkmaktadır. Sinnamik asitin antifungal etkisi de saptanmıştır (27).

Sığıla yağı; merhem, plaster, toz, emülsiyon ve balsam gibi farmasötik preparasyonlar biçiminde çeşitli kanser türleri üzerindeki etkileri yönünden de incelenmiş ve antineoplastik etkileri görülmüştür (5,28). Antineoplastik etkinin temelinde sinnamik asitin rol oynadığı sanılmaktadır (29).

Sığıla yağının yaraların iyileşme sürecini de hızlandığı bilinmektedir (2,5).

Sığıla yağından elde edilen sinnamik asit ve türevleri, güneş yanıklarını önlemek amacıyla cilt üzerine merhem gibi preparatlarla uygulanmakta ve etkili olmaktadır. Söz konusu bu etki sinnamik asit

türeylerinin güneş ışığının 280-320 nm'lik dalga boyundaki ışınlarını (UV) absorplayarak cilt tabakalarını güneşin zararlı etkilerinden korumasıyla ortaya çıktığı sanılmaktadır. Bu yolla güneşin yakıcı etkisi kızarıklık düzeyinde sınırlı kalmaktadır (30-32). Ayrıca sığala yağı, donmaya karşı da haricen cilt üzerine sürülerek kullanılmaktadır. Cildin ısı kaybını önlediği için soğğun organizma üzerindeki zararlı etkilerini önlemektedir (24).

2.6.2. Toksik Etkileri

Sığala yağı bileşimi itibariyle diğer balsamlardan farklı olduğu için daha az irritan ve daha az toksik bir bitkisel üründür. Gerek dahil, gerekse haricen kullanımında görülen yan etkiler oldukça az ve seyrek. Günümüzde kullanım alanı, en çok haricen cilt yüzeyine uygulama biçiminde olduğundan, en sık rastlanan toksik etkiler dermatolojiyi ilgilendirmektedir. Söz konusu toksik etkilerin en önemlisi kontakt dermatit tipinde ekzamatöz ve allerjik cilt reaksiyonlar biçiminde ortaya çıkmaktadır (20,33). Allerjik reaksiyonların sığala yağının bileşiminde bulunan storesinden kaynaklandığı görüşü savunulmaktadır (33).

2.7. Sığala Yağının Bileşimindeki Maddelerin Kimyasal Yapıları

Styrax Liquidus yapısı itibariyle oleorezinler grubuna girer. Uçucu yağ ve reçine karışımı olarak tanımlanan oleorezin grubu maddelerden tek farkı, yüksek miktarda serbest ve ester halinde aromatik asit (sinnamik asit) taşıdığından " balsam " demek daha doğrudur (3,11).

Sığıla yağı üzerinde yapılan kimyasal çalışmalar 16. yüzyılda başlamış, elde edilen ilk bileşik, sinnamik asit olmuştur. Bu asit 1827' de balsamın distillenmesi sürecinde elde edilmiş ve benzoik asit olarak nitelendirilmiştir. Daha sonra sinnamik asit sentez yolu ile elde edilmiş ve balsamdan elde edilen asitin benzoik asit değil, sinnamik asit olduğu ispatlanmıştır. Sonraki çalışmalarda ise, balsamın sadece ester halinde değil, serbest halde de sinnamik asit içerdiği ortaya konulmuştur. Literatürde serbest sinnamik asit miktarının % 5-25 arasında, serbest ve bağlı halde bulunan sinnamik asit miktarının ise % 23 ten fazla olduğu bildirilmektedir (5,10,13,34-37).

Daha sonra, sinnamik asitin sinnamil alkol ile oluşturduğu ve $C_{18}H_{16}O_2$ kapalı formülüne sahip, sitirasin olarak isimlendirilen ester bulunmuştur (10). Sinnamil sinnamatın balsamdaki miktarının % 5-10 arasında olduğu bildirilmektedir. Balsamdaki serbest sinnamik asit uzaklaştırıldıktan sonra sinnamil sinnamat, eter, benzen veya alkol ekstraksiyonu ile elde edilmektedir. Bu ester, derişik potasyum hidroksit çözeltisi ile sabunlaştırılmakta , bunun sonucu potasyum sinnamat ve sinnamil alkol oluşmaktadır (4).

Sığıla yağının içinde fazla miktarda bulunan α -sioresin ile β -sioresin izomerlerin karışımı olarak kabul edilen reçine "storax" ile "resina" kelimelerinden türetilen sioresin olarak isimlendirilmiştir.

Sığıla yağının bu en önemli bileşiği hakkında araştırmacılar birçok karşıt görüşler ileri sürmüşlerdir. Araştırmacılar α - sioresini, $C_{30}H_{48}O_3 \cdot 1/2 H_2O$, β - sioresini de $C_{30}H_{48}O_3 \cdot H_2O$ olarak tanımlamaktadırlar (4,10,38). Literatürlerde, Sioresinin tek ve saf bir bileşik olduğu görüşüne de rastlanmaktadır. Kimyasal formülü $C_{30}H_{46}O_3$ veya

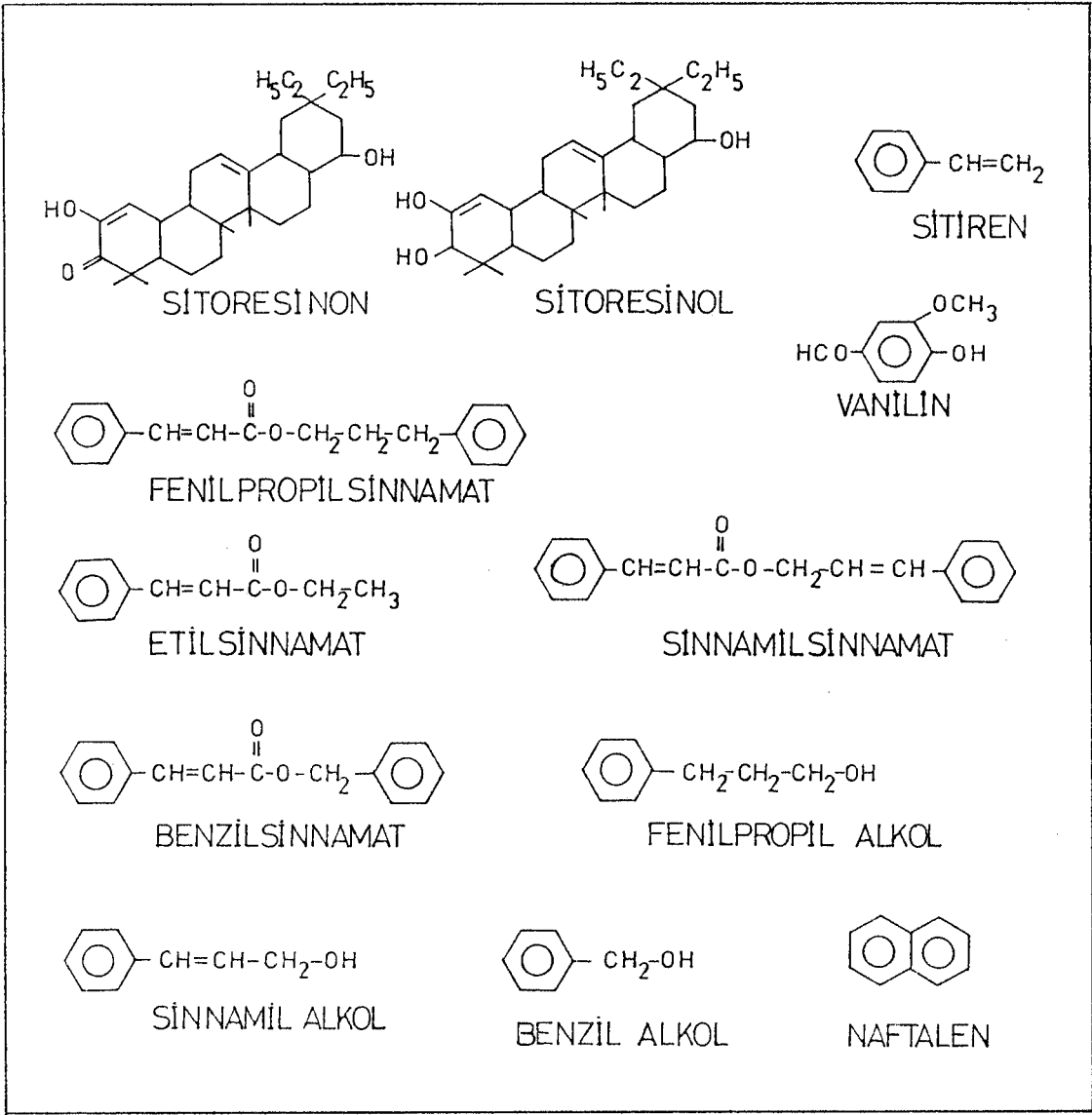
$C_{30}H_{48}O_3$, bir tek fenolik hidroksil ihtiva eden doymuş, halkalı, saf bir bileşik olduğu kabul edilmektedir (4,10,15).

Sığıla yağından sütun kromatografisiyle veya balsam ekstrelerinden çöktürme yolu ile elde edilen saf sitoressinin ince tabaka kromatografisi, elementer analiz, UV,IR,NMR spektroskopisi yöntemleri ile incelendiği bir çalışmada ise sitoressinin aromatik bir yapıda olmadığı, keton grubu, glikol grupları halinde iki adet asetillenebilen alkol grubu, metil ve metilen grupları içeren triterpenik bir karışım olduğu belirlenmiştir. Karışımın, kapalı formülleri aynı ($C_{30}H_{46}O_3$ veya $C_{30}H_{48}O_3$) olan ve büyük bir olasılıkla birbirine dönüşen üç bileşikten oluştuğu saptanmıştır. Bu bileşiklerden birisi keton (sitoressinon), diğeri alkol (sitoressinol), üçüncüsü erime noktası yüksek olan bir bileşik olduğu görüşü savunulmuştur (38). Sitoressinin türevlerinin hazırlanması ve preparatif ince tabaka kromatografisi ile oluşan bileşiklerin izolasyonu sonunda keton ve alkol yapısındaki bileşikler için olası formüller ileri sürülmüştür (7,38).

Balsam ayrıca % 10 kadar fenilpropil sinamat, küçük miktarlarda etil sinamat, benzil sinamat, sitiren (feniletilen), sitirokamfen ve vanilin içermektedir (4,5,7-9,12,15,24,34-39).

Değişik yayınlarda storaxın içerdiği uçucu yağ miktarının % 1 dolayında olduğu belirtilmektedir. Bileşimi ise sitiren, sitirokamfen, etil sinamat, benzil sinamat, fenilpropil alkol, sinamil alkol, benzil alkol, vanilin ve naftalen olduğu bildirilmektedir (4,5,7,24,36,37).

Sığıla yağı içerisindeki maddelerin kimyasal formülleri Şekil 2'de verilmektedir.



Şekil 2. Sığala yağı içerisinde bulunan çeşitli yapıdaki kimyasal maddelerin formülleri.

2.8. Saf Sığala Yağının Kalite Kontrol Yöntemleri

Sığala yağının saflığının araştırılması ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır (4,9,12). Bu çalışmaların bazıları oldukça eski senelere uzanmaktadır. Genellikle sığala yağının saflık kontrolleri için farmakopelerde verilen testler kullanılmaktadır. Kalitenin belirlenmesinde kurutma kaybı, nem miktarı, etanolde çözünmeyen madde miktarı, etanolde çözünen maddeler, asit sayısı (serbest sinnamik asit), sabunlaşma sayısı ve serbest ve bağlı halde bulunan sinnamik asit miktar tayinleri yapılmaktadır (40,41).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Bu çalışmada materyal olarak Marmaris Orman İşletmelerinden alınan, su ile kaynatılarak elde edilmiş ham sığala yağı kullanılmıştır.

Ekstraksiyonda kullanılan çözücüler ve analizler sırasında kullanılan kimyasal maddeler aşağıda belirtilmiştir.

Etanol	Eter	Kloroform
Etil Asetat	n-Hekzan	Toluen

Bu çözücüler distile edilerek kullanılmıştır.

Potasyum hidroksit	Sodyum hidroksit	Hidroklorik Asit
Eter	Kloroform	Sodyum Bikarbonat
Magnezyum Sülfat	Fenolftalein	Fenol kırmızısı
Asetik Asit	Sodyum Asetat	Potasyum Klorür
Etanol		

Bu maddelerin tümü Merck firmasının üretimi olup analitik ölçüde saf-
lığa sahiptirler.

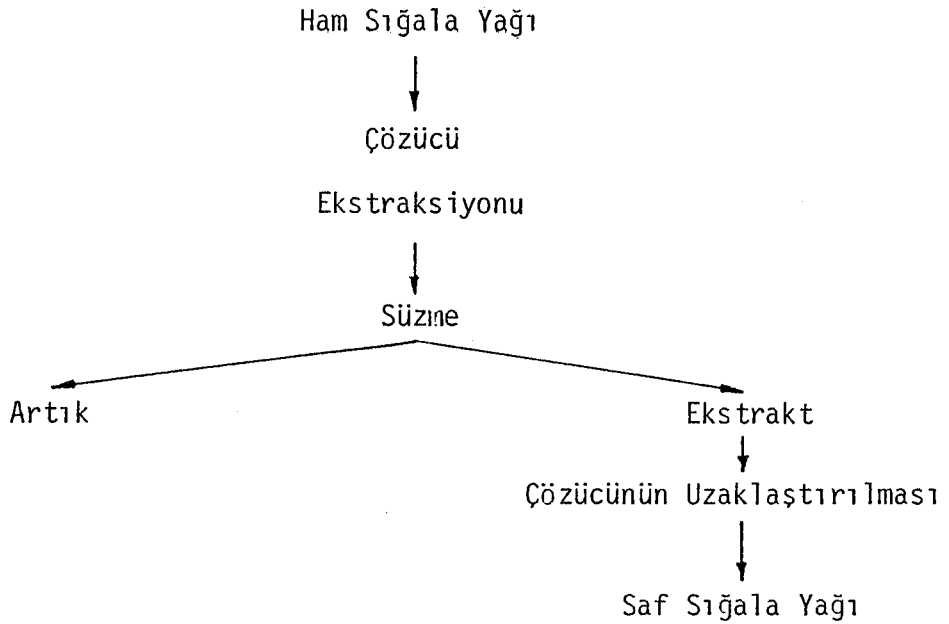
3.2. Kullanılan Aletler

- I. Consort P 114 pH metresi, kombine pH elektrotlu,
- II. Vakumlu döner buharlaştırıcı (165 Vakum Kontrolörlü RE-111 Rotavapor),
- III. Polaropulse PRG-5 Polarograf, EGMA tipi polarografi ve voltametri hücre stantı, döner platin referans elektrotlar (hepsi Tacussel) ile kaydedici (BBC Goerz Metrawatt SE 790).
- IV. Büret (0.02 ml duyarlılıkla 10 ml lik).

3.3. Deneysel Bölüm

Ham sığala yağının saflaştırılmasında çözücü olarak etanol, eter, n-hekzan, etil asetat, kloroform, toluen kullanılmış ve ekstraksiyon oda sıcaklığında karıştırmalı olarak yapılmıştır.

Sığala yağı, yukarıda belirtilen çözücüler içerisinde çözülmüş, tabanına kalitatif süzgeç kağıdı konulan Bühner hunisinden vakum uygulanarak katı partiküllerinden ayrılmıştır. Saflaştırma işlemi şematik olarak Şekil 3'de verilmektedir.



Şekil 3. Şematik olarak ham sığala yağının temizlenme ve saflaştırılma işlemleri.

Saflaştırılmış örneklerde kalitenin belirlenmesinde kriter kabul edilen etanolde çözünen ve çözünmeyen madde miktarları, asit sayısı, sabunlaşma sayısı, serbest ve bağlı halde bulunan sinamik asit yüzdesi USP XX (40) ye göre tayin edilmiştir. USP XX (40) ve BP 1980 (41) de ester sayıları konusunda herhangi bir kayıt bulunmamaktadır. Bu tayin yalnız Guenther'in (4) çalışmalarında geçmektedir ve sabunlaşma sayılarından asit sayılarının çıkartılması ile elde edilmektedir (13).

Bu çalışmada asit sayısı tayininde iki ayrı yöntem uygulanmıştır. Bunlardan ilki USP XX (40) de verilen doğrudan titrasyon yöntemidir. Diğeri ise bu çalışmada geliştirilen potansiyometrik yöntemdir ve uygulanışı aşağıda verilmektedir.

Bilindiği gibi, asit sayısı, örnekteki serbest asiti nötralleştirmek için gerekli olan mg Potasyum hidroksite eşdeğerdir şeklinde tarif edilmektedir.

1 g dolayında örnek tartılmış ve 50 ml nötralize edilmiş etanolde çözülmüş ve elde edilen çözelti içerisine pH elektrodu daldırılmıştır. Uygun hacimlerde 0.5 N Potasyum hidroksit çözeltisi ilave edilip magnetik karıştırıcıda sürekli karıştırılarak her baz ilavesinden sonra potansiyometrede gözlenen pH değişimleri kaydedilmiştir. Dönüm noktası bilinen türev alma işlemleri ile veya verilerin kompütüre verilmesi ile hesaplanmıştır.

Asit sayısı aşağıdaki formül ile hesaplanmaktadır.

$$\text{Asit sayısı} = \frac{56 \cdot 1 \times N \times V}{m}$$

Burada:

N: Potasyum hidroksit çözeltisinin normalitesi

V: Sarfedilen potasyum hidroksit miktarı (ml)

m: Tartılan örnek miktarı (g), ile simgelenmiştir.

Toplam sinnamik asit tayini için iki yöntem kullanılmıştır. Bunlardan biri BP 1980 (41) in belirttiği yöntem, diğeri ise bu çalışmada geliştirilen ve akım-potansiyel ilişkisine dayalı olan polarografik yöntemdir.

Bir maddenin polarografik tayini için bazı koşulların yerine getirilmesi gereklidir(42,43). Bu koşullardan en önemlisi incelenen maddenin uygun taşıyıcı elektrolit çözeltisi içersinde, elektrot yüzeyinde, ya yükseltgenmesi veya indirgenmesidir. Bunun için, sinnamik asiti çözücü ve onun doğal davranışını etkileyici bir taşıyıcı elektrolit çözeltisi araştırılmıştır. Bu amaçla sinnamik asit, % 10 etanol içeren 0.1 M H_2SO_4 , pH: 5.12 asetat tamponu, pH:8.04 fosfat tamponları içersinde incelenmiştir. % 10 absölü etanol ve 0.2 M potasyum klorür içeren pH:5.12 asetik asit/sodyum asetat tamponlu destek elektrolit çözeltisi içersinde 1.005×10^{-3} M, 2.01×10^{-3} M, 4.02×10^{-3} M, 5.025×10^{-3} M sinnamik asit içeren çözeltilerin aşağıdaki kayıt koşullarında polarizasyon eğrileri alınmış ve değerlendirilmiştir. Sinnamik asit çözeltileri için polarografik kayıt koşulları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Sınnamik asit cözeltileri için polarografik kayıt koşulları:

Uygulanan polarografik tarz	: Doğru akım polarografisi (DC)
Elektrot türü	: Damlayan cıva
Referans elektrot	: Doymuş Ag/AgCl
Potansiyel değişme hızı	: 10 mV/s
Kağıt hızı	: 10 s/cm
Başlangıç potansiyeli	: - 1000 mV
Duyarlılık	: 125 A
Büyütme	: x10
Damlama süresi	: 1s
Damla büyümesi	: 0.5 s
Cıva elektrodu hüccresine uygulanan basınç	: 2 Bar

Balsam içersindeki serbest ve bağlı halde bulunan sınnamik asit tayini için bu çalışmada geliştirilen yöntem aşağıda verilmektedir:

1.25 g kadar balsam hassas olarak tartılmış, 25 ml 0.5 N etanolü potasyum hidroksit ile 1 saat geri çeviren soğutucu altında hidroliz edilmiştir. Hidroliz sonunda cözelti su banyosunda kuruluğa kadar uçurulmuştur. Bakiye 25-30 ml 1 M sülfürik asitte, su banyosunda ısıtılarak cözündürülmüştür. Sıcak cözelti, siyah bant süzgeç kağıdından süzümüştür. Süzüntü buz banyosunda 15-20 dakika bekletilmiş, cöken sınnamik asit kristalleri cözeltinin kalitatif süzgeç kağıdından süzülmesi ile ayrılmıştır. Cökelti az miktarda soğutulmuş su ile yıkanarak

temizlendikten sonra 10 ml absolü etanol ile çözünmüş, 100 ml'lik balonjojeye aktarılmıştır ve elektrolit çözeltisi ile 100 ml'ye tamamlanmıştır. Bu çözeltiden, kalibrasyon eğrisi değerleri içersinde kalacak miktarlarda çözelti alınmış, gerekli seyreltmeler yapılarak sinnermik asit tayini yapılmıştır.

4. BULGULAR

Ham sığala yağının saflaştırılmasında çözücü olarak etil alkol, eter, n-hekzan, etil asetat, kloroform ve toluen kullanıldığında açık sarıdan koyu kahverengiye kadar farklı renklerde temizlenmiş balsamlar elde edilmiştir. Bu temizlenmiş balsamların kaliteleri belirtilen kalite kontrol parametrelerine göre incelendiğinde Tablo 2'deki değerler elde edilmiştir.

Tablo 2'deki asit sayısı, yüzde serbest ve bağlı halde bulunan sinnamik asit değerleri titrimetrik yolla bulunmuştur.

Temizlenmiş balsamın kalite kontrolunda parametre kabul edilen asit sayısı tayini genellikle titrimetrik olarak yapılmaktadır. Bu çalışmada asit sayısı tayini için potansiyometrik bir yöntem geliştirilmiştir. Bu tayin sadece etanol ile saflaştırılmış balsam üzerinde gerçekleştirilmiştir.

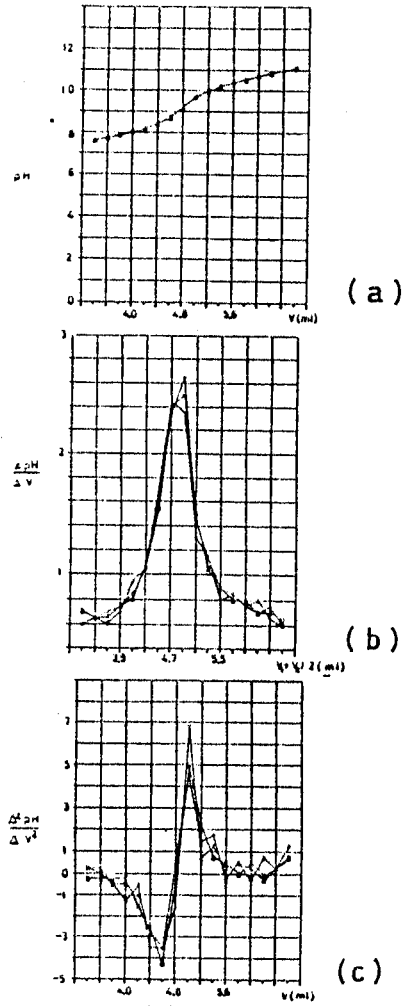
Yöntem, ilave edilen baz hacmine karşı okunan pH değerlerinin kullanılması ve elde edilen eğrinin türevlerinin değerlendirilerek dönüm noktasının daha duyarlılıkla bulunmasına dayanmaktadır.

Hazırlanan balsam üzerine her 0.5 N alkollü potasyum hidroksit ilavesine karşı okunan pH değerleri, IBM PC AT kompütöründe Tıbbi Bitkiler Araştırma Merkezi'nce geliştirilen türev alma programına göre, birinci türev; $(V_1 + V_2)/2$ 'ye karşı $\Delta pH/\Delta V$ ve ikinci türev; $(V'$ 'ye karşı $\Delta^2 pH / \Delta V^2)$ grafiklerine geçirilerek dönüm noktasının ve asit sayısının daha duyarlı tayini sağlanmıştır. Katılan 0.5 N potasyum hidroksit hacmine karşı okunan pH, kompütörden çıktı olarak elde edilen $(V_1 + V_2)/2$ 'ye karşı ΔpH , V' 'ye karşı $(\Delta^2 pH/\Delta V^2)$ grafikleri şekil 4'de verilmektedir.

Tablo 2. Ham balsamın değişik çözücülerde saflaştırılması sonucu elde edilen ürünlerin analiz sonuçları.

Çözücü	Ekstraksiyon verimi (kuru miktar üzerin- den % W/W)	Görünüş ve koku	Asit sayısı 50-85 ⁽⁴⁰⁾	Sabunlaşma sayısı 160-200 ⁽⁴⁰⁾	Serbest ve bağlı halde bulunan sin- namik asit yüzdesi % 28.5 ⁽⁴⁰⁾	Ester sayısı
Etanol	95.10	Şeffaf Çok aromatik	55.90	162.1	28.52	106.6
Eter	98.20	Şeffaf Çok aromatik	67.80	194.25	30.93	126.4
n-hekzan	78.40	Şeffaf Aromatik	32.4	191.20	29.72	157.8
Etil asetat	98.80	Şeffaf Aromatik	62.9	195.96	30.13	133.1
Kloroform	84.70	Aromatik	69.0	164.69	9.85	95.2
Toluen	37.70	Şeffaf Aromatik	54.7	171.9	16.9	117.2

Not: Elde edilen balsam numuneleri alkolde tamamen çözünmektedir.



Şekil 4. Saflaştırılmış balsamın potansiyometrik (a), birinci (b) ve ikinci (c) türey eğrileri

Etanolla saflaştırılan balsam örneği üzerinde, USP XX (40) ye BP 1980 (41)'de verilen titrimetrik asit sayısı yöntemleri yanında bu çalışmada geliştirilen potansiyometrik asit sayısı tayinleri de yapılmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 3'de verilmiştir.

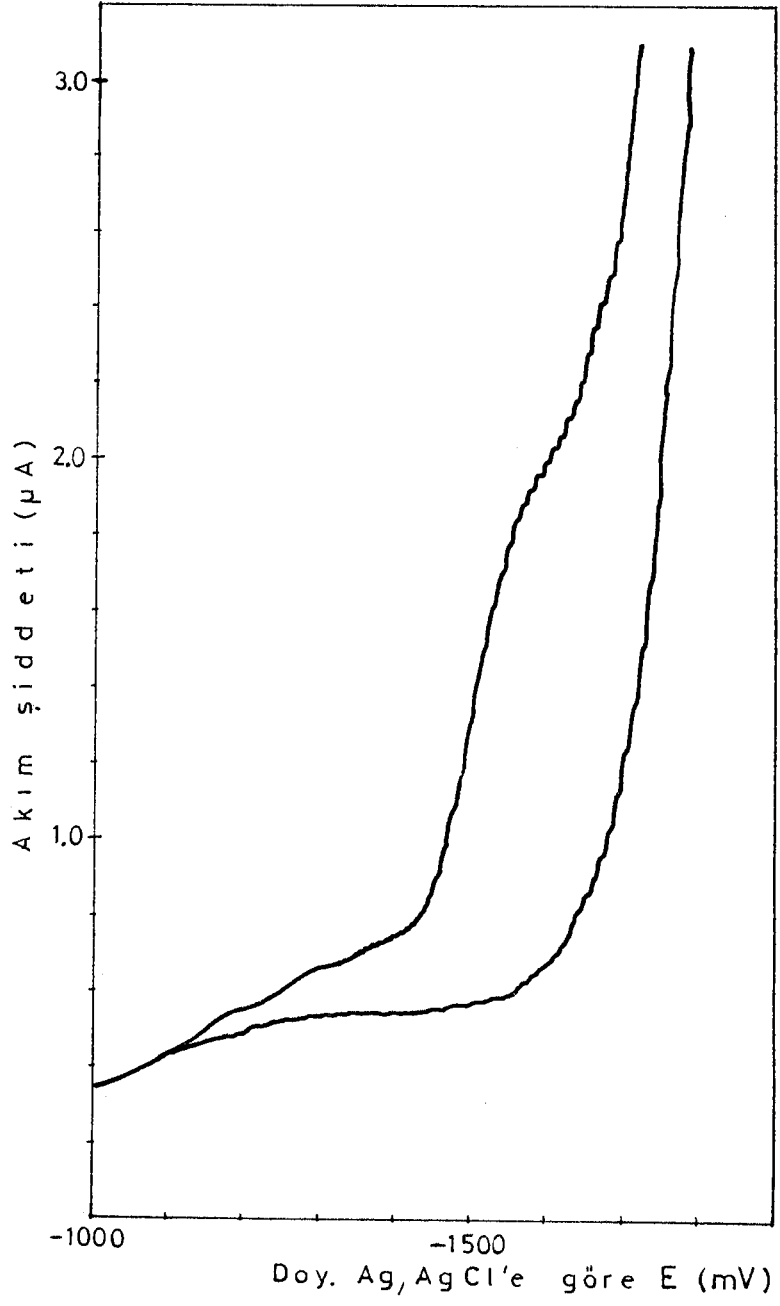
Tablo 3. Safılaştırılmış balsamın asit sayısının potansiyometrik ve titrimetrik tayin sonuçları

Deney No	Potansiyometrik	Titrimetrik	
		USP XX	BP 1980
1	67.51	63.33	68.34
2	67.51	65.72	66.21
3	66.95	63.47	67.27
4	67.79	62.56	67.27

Aritmetik ortalama	67.44	63.77	67.27
Standart sapma	0.35	1.36	0.87
Standart hata	0.093	1.388	0.567

Serbest ve bağlı halde bulunan sinnamik asit tayini için geliştiren yöntem aşağıdaki gibi gerçekleştirilmiştir:

Sinnamik asitin en iyi beliren polarografik eğrisinin pH:5.12 asetat tamponu içersinde elde edildiği bulunmuştur. Bu nedenle tüm tayinler 0.2 M potasyum klorür ve % 10 absolü etanol içeren pH:5.12 asetat tamponlu elektrolit sistemi içersinde yapılmıştır. Bu elektrolit sistemi içersinde 1.005×10^{-3} M sinnamik asit ozeltisinin deneysel bölümde belirtilen kayıt koşullarında elde edilen polarizasyon eğrisi Şekil 5'de verilmektedir.



Şekil 5. Sınnamik asitin 1.005×10^{-3} M derişimindeki çöztisi-
nin ve elektrolit çöztisinin polarizasyon eğrileri.

Elde edilen polarizasyon eğrisinde akım artışları -1350 mV dolaylarında başlamaktadır ve sınır akımına yaklaşık -1550 mV dolaylarında ulaşılmaktadır.

Şekil 5'deki eğriden yararlanarak sinnamik asitin ($E_{1/2}$) yarı dalga potansiyeli -1491 mV olarak bulunmuştur. Sinnamik asitin yarı dalga potansiyelinin bulunuşunda

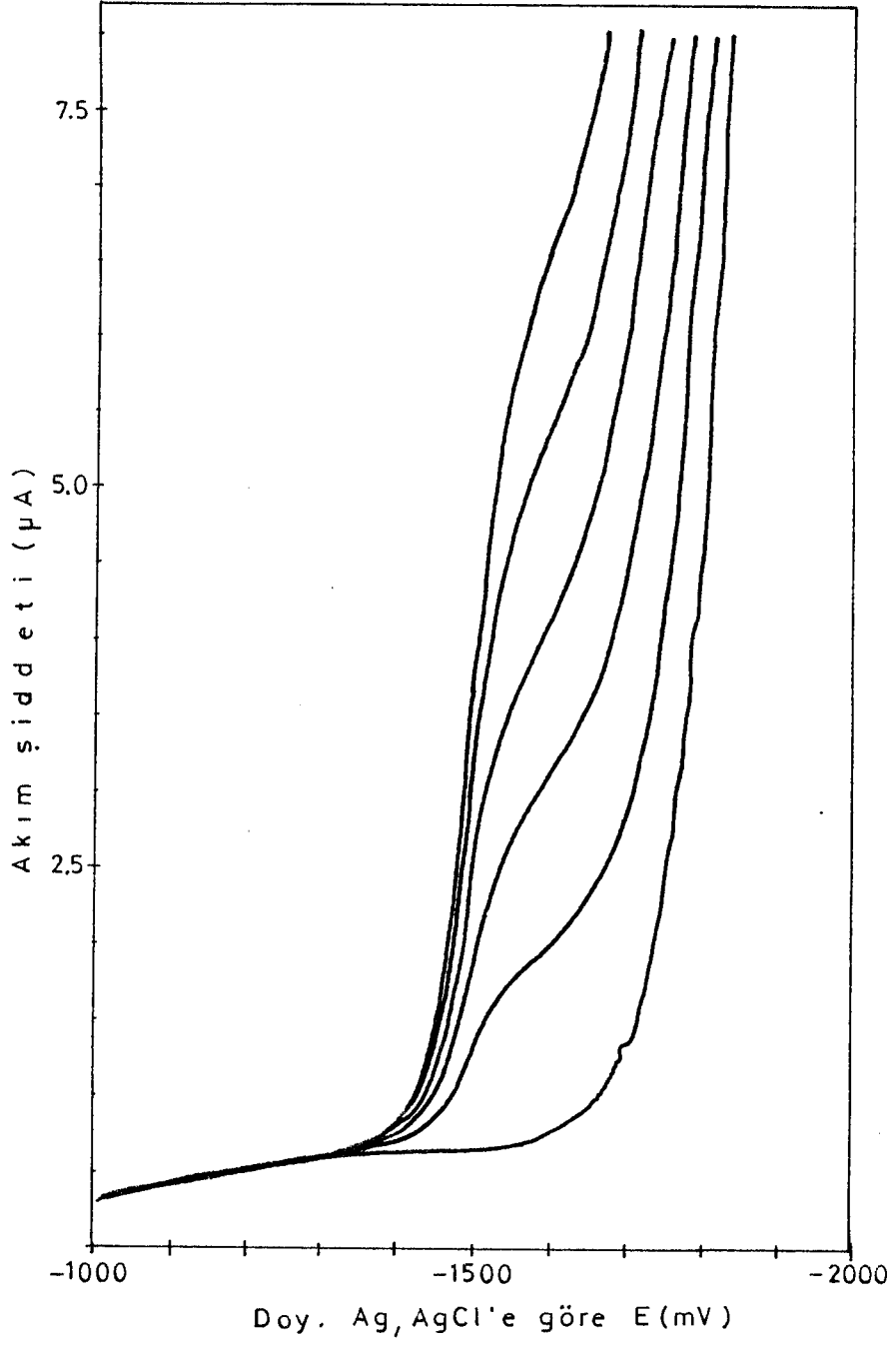
$$E = E_{1/2} + \frac{0.059}{n} \cdot \log \frac{I}{I_d - I}$$

denkleminin geçerliliğinden hareketle E değerlerinin $\log I/I_d - I$ değerlerine karşı meydana getirdiği doğru denklemden hesaplanmıştır.

Sinnamik asitin kalibrasyon eğrisinin çizilebilmesi için 1.005×10^{-3} M, 2.01×10^{-3} M, 3.015×10^{-3} M, 4.02×10^{-3} M, 5.025×10^{-3} M sinnamik asit çözeltileri hazırlanmış ve belirtilen kayıt koşullarında polarizasyon eğrileri elde edilmiştir. Elde edilen polarogramlar Şekil 6'da verilmektedir.

Şekil 6'daki polarografik eğrilerinin -1600 mV'taki sınır akımları kullanılarak sinnamik asitin kalibrasyon eğrisi grafikleri Şekil 7'de görülmektedir.

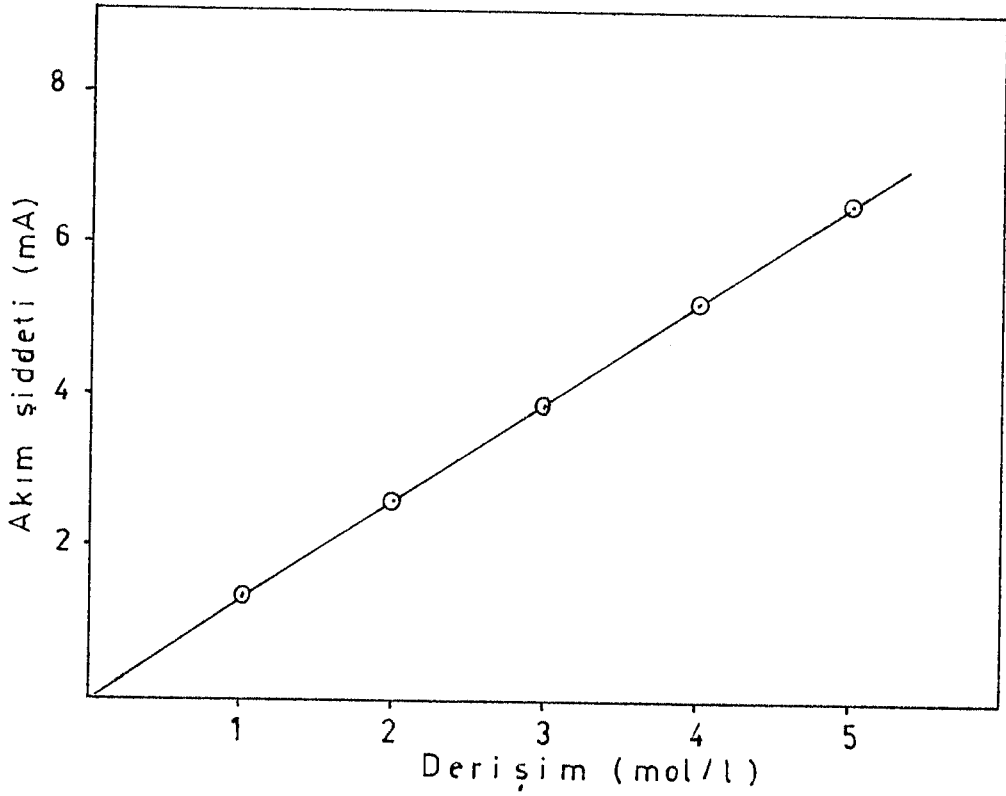
Sinnamik asitin çeşitli derişimlerde -1600 mV'daki sınır akımları değerleri Tablo 4'de toplanmıştır. Tablo 4 değerlerinden yararlanılarak çizilen kalibrasyon grafiği Şekil 7'de verilmektedir.



Şekil 6. Çeşitli derişimlerdeki sinnamik asit çözeltilerinin polarizasyon eğrileri.

Tablo 4. Sınnamik asit derişimlerine karşı elde edilen sınır akım değerleri

C (mol/L)	$i_{\text{sınır akımı}}$ (mA)
1.005×10^{-3}	1.30
2.010×10^{-3}	2.60
3.015×10^{-3}	3.85
4.020×10^{-3}	5.20
5.025×10^{-3}	6.55



Şekil 7. Sınnamik asitin kalibrasyon grafiği

Sinamik asit için elde edilen kalibrasyon denkleminin:

$$y = 1303.48 \cdot x - 0.03$$

olduğu regrasyon analizi ile bulunmuştur. Noktalar arasında 0.9999 gibi iyi bir korelasyonunun olduğu görölmektedir.

Temizlenmiş balsam içersindeki serbest ve bağlı halde bulunan sinamik asit miktarının saptanmasında polarografik yöntem kullanılmıştır. Gerekli işlemler sonucu elde edilen çözeltinin polarogramları kaydedilmiş, -1600 mV taki sınır akımı okunmuş, bulunan değer kalibrasyon eğrisi denkleminden çözölerek sinamik asit miktarı hesaplanmıştır. Daha sonra örnek içersindeki yüzde sinamik asit miktarına geçilmiştir. Üç deneyin ortalamasına göre bu yöntemle bulunan sinamik asit miktarı % 31.6'dır.

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Sığıla yağının ülkemiz için iki ayrı önemi bulunmaktadır. Bunlardan biri Liquidambar orientalis Mill. bitkisinin floristik açıdan yurdumuzda bulunması, diğeri bu bitkiden elde edilen sığıla yağının taşıdığı ekonomik değer yüzündendir. Sığıla yağı üreticisi olmamız nedeniyle, üretilen sığıla yağından ve ondan elde edilen ürünlerin değerlendirilmesinde en yüksek yararlanma sağlanabilmesi için bu ürün üzerinde yeterince çalışılması gerekmektedir.

Ham sığıla yağının içerisinde sığıla yağının kalitesini bozan su, yağ asitleri veya bozulmuş balsam ürünlerinin bulunması olasıdır. Ayrıca tozlar ve katı partiküllerin bulunması söz konusudur. Bu belirtilen safsızlıklar balsamın kalitesi üzerine etki eden maddelerdir (12).

Bu çalışmada, yukarıda belirtilen safsızlıkların temizlenmiş balsama geçmesini önleyecek bir saflaştırma ve temizleme yönteminin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bunun için çeşitli çözücüler kullanılarak yüksek kaliteli saflaştırılmış balsam elde edilmeye çalışılmıştır. Kullanılan çözücü cinsine bağlı olarak çeşitli renk ve kalitede saflaştırılmış balsamlar elde edilmiştir. Temizleme ve saflaştırma işlemi sırasında kullanılan çözücünün kuvvetine bağlı olarak ürünler elde edilmiştir. Süzme işlemi ile de mekanik bir ayırma gerçekleştirilmiştir.

n-hekzanın kullanıldığı temizleme ve saflaştırma işleminin sonucunda açık sarı, oldukça şeffaf, zamanla içerisinde bazı kristallerin olduğu bir balsam elde edilmiştir.

Çözücü olarak eter, alkol, etil asetat, kloroform ve toluen ile yapılan işlemler sonucunda elde edilen balsamların renkleri verilen

çözücü sırasına göre açık sarıdan koyu kahverengine kadar değişmektedir. Toluene kullanılarak elde edileninki en koyu renkli ve en kıyamlı olanıdır. Renklerdeki bu farklılığın balsamların kalitelerini belirleyen maddelerin miktarına da yansıtacağı doğaldır. Bu ilkedan hareketle, her bir çözücü ile saflaştırılmış balsam üzerinde kaliteyi belirleyen testler gerçekleştirilmiştir. Uygulanan testler sonucunda ekstraksiyon verimi, görünüş ve koku, asit sayısı, sabunlaşma sayısı, serbest ve bağılı halde bulunan sinnamik asit yüzdesi ve ester sayıları tayin edilmiştir. Etil asetat ile yapılan saflaştırma işlemlerinde temizlenmiş balsamdan etil asetatın uzaklaştırılması oldukça zor olmaktadır. Etil asetatın kullanıldığı saflaştırma işlemlerinde balsama özgü kokunun azaldığı gözlenmektedir.

Toluenein kullanıldığı işlemlerde ise balsamın güzel kokusu ortaya çıkmakta, buna karşılık düşük verimde çalışılmaktadır. Tablo 2 incelendiğinde elde edilen temizlenmiş balsamların kokusu ile bu balsamların ester sayısı/ serbest ve bağılı halde bulunan sinnamik asit yüzdesi arasında ilginç bir ilişkiye rastlanmıştır. Buna göre toluene ile saflaştırılmış balsamın kokusundaki bu farklılık serbest ve bağılı halde bulunan sinnamik asit yüzdesinin düşük, ester sayısının fazla olmasına bağlanabilir.

Saflaştırma işlemleri; gerek elde edilen ürünün kalitesi, gerekse ekonomik açıdan göz önüne alındığında en uygun çözücünün etil alkol olduğu söylenebilmesine karşın bu balsamları kullanacak olan kuruluşlara onların amaçlarına göre kullanılan çözücü cinsine bağılı olarak çeşitli koku, renk ve kalitede saflaştırılmış balsamlar önerilebilir.

Çalışmanın ikinci bölümünde balsamın kalitesinin tayininde kulla-

nılan analitik yöntemlerin geliştirilmesine yönelik çalışmalar yapılmıştır. Balsamların temizlenmesi ve saflaştırılmaları işleminde belirtildiği gibi, kullanılan çözücünün cinsine bağlı olmak üzere açık sarıdan koyu kahve rengine kadar farklı renklerde ürünlerin elde edildiği belirtilmiştir. Bu ürünlerin, asit sayılarının tayini sürecinde kullanılan fenol ftalein'in renginin örtülmesi özellikle koyu renkli çözeltilerde olağan bir durumdur. Bu nedenle, dönüm noktasının daha duyarlı tayinine olanak veren potansiyometrik yol izlenmiştir.

Balsamın sinnamik asit, sinnamik asitin sinnamil, fenilpropil, benzil ve etil esterleri, sitiren, vanilin, benzil alkol, fenilpropanol ve storesin içerdiği bilinmektedir (4,5,7-9,12,15,24,34-39). Açıkça görüldüğü gibi organik asit olarak serbest halde yalnızca sinnamik asit bulunmaktadır ve balsamın asit sayısını bu madde vermektedir. Sinnamik asit zayıf bir asit olup formülü Şekil 2'de verilmektedir.

Sinnamik asitin titrasyonu protonunu verme kabiliyetine bağlıdır. Bu maddenin iyonlaşma sabiti $K_a = 3.5 \times 10^{-5}$ olduğundan protonunu normal şartlar altında titre edilebilmesi mümkündür.

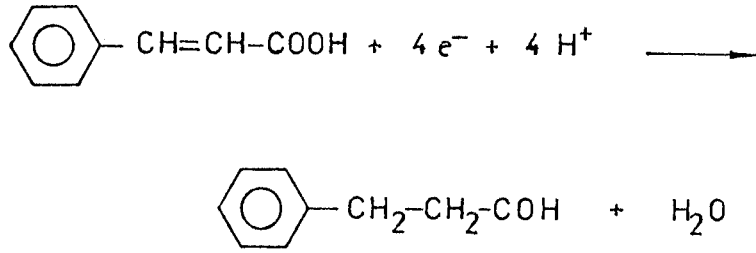
Bu çalışmada geliştirilen yöntemin sonuçları ile USP XX (40) ve BP 1980 (41) farmakopelerindeki titrimetrik yöntemin sonuçları karşılaştırıldığında, istatistiksel değerlerin de gösterdiği gibi daha duyarlı tayinlerin potansiyometrik yapılabileceği ortaya çıkmaktadır.

Ayrıca potansiyometrik yolun daha tekrar edilebilir sonuçlar verdiği söylenebilir. Potansiyometrik yöntemin değerlendirilmesinin uzun zaman aldığı kesinlikle kabul edilmelidir, lakin titrasyon sürecinde türev alan potansiyometrelerin, yöntemin uygulanmasına çabukluk ve duyarlılık getireceği ifade edilmelidir.

Bu çalışmanın diğer bölümünde serbest ve bağlı halde bulunan sinnamik asit miktarının bulunmasını kolaylaştırıcı polarografik bir yöntem geliştirilmiştir. Gerek USP XX (40), gerekse BP 1980 (41) farmakopelerinde serbest ve bağlı halde bulunan sinnamik asit miktarının tayini konusunda yöntemler verilmektedir. Her iki yöntemle de önce balsam potasyum hidroksit ile bir saat geri çeviren soğutucu altında hidroliz edilmektedir, daha sonra hidroliz ürünü nötralize edilerek eterle çekilmektedir. Eterli ekstreden doygun sodyum bikarbonat kullanarak sulu faza, daha sonra ortam asitlendirilerek yeniden kloroform fazına geçirilerek saf sinnamik asit elde edilmektedir. USP XX (40) de bu kloroform fazı uçurulup titre edilerek, BP 1980 (41) farmakopesinde ise kloroform fazı uçurulup gravimetrik ölçümle serbest ve bağlı halde bulunan sinnamik asit miktarı hesaplanmaktadır. Görüldüğü gibi serbest ve bağlı halde bulunan sinnamik asit miktar tayini yaklaşık olarak bir günü alan bir tayindir ve tayin sürecinde kayıplara neden olabilecek üç ekstraksiyon işlemi bulunmaktadır. Bu nedenle, gerek tayin süresinin kısaltılmasının, gerekse duyarlıklı tayinlerin yapılabilmesini hedefleyen bir yöntem üzerinde çalışılmıştır. Bu amaçla önce sinnamik asitin polarografik karakteristikleri araştırılmıştır.

Sinnamik asit içerdiği çift bağ nedeniyle katodik yönde civa yüzeyinde indirgenebilen bir maddedir. Bu maddenin sulu ortamda pH:5 dolaylarında iyi beliren polarizasyon eğrileri verdiği bulunmuştur. Aynı miktarların 0.2 M Potasyum klorür ve % 10 absölu etanol içeren pH: 5.12 elektrolit çözeltisi içersinde çok yüksek duyarlıklı, tekrar edilebilir eğriler verdiği saptanmıştır. Elde edilen eğrilerden

$E = E_{1/2} + \frac{0.059}{n} \cdot \log \frac{I}{I_d - I}$ denkleminde yarı dalga potansiyeli ve sinnamik asitin cıva üzerindeki indirgenme reaksiyonunu dört elektron alışverişi ile gerçekleştirdiği ortaya çıkmıştır. Verilen koşullarda, $4 e^-$ alışverişine göre indirgenme mekanizmasının sadece çift bağın doyması şeklinde olmayıp karboksil grubunun da indirgendiği söylenebilir. Buna göre muhtemel indirgenme formülü aşağıdaki gibidir:



Kalibrasyon eğrisinin çok iyi bir korelasyonla elde edilmesiyle sinnamik asit tayinlerinin duyarlılıkla yapılabileceği anlaşılmıştır. Bu ön ve gerekli çalışmalardan sonra balsam içersindeki serbest ve bağlı halde bulunan sinnamik asit miktar tayinine geçilmiştir. Balsam 25 ml 0.5 M potasyum hidroksit ile bir saat geri çeviren soğutucu altında hidroliz edildikten sonra çözelti su banyosunda kuruluğa kadar uçurulmuştur. Bakiye 1 M sülfürik asitte, su banyosunda ısıtılarak çözülmüş, sıcak çözelti kalitatif süzgeç kağıdından süzülmiştir. Süzüntü buz banyosunda bekletilmiş, çöken sinnamik asit kristalleri çözeltinin kalitatif süzgeç kağıdından süzülmesiyle ayrılmıştır. Süzgeç kağıdı üzerindeki çökelti az miktarda soğutulmuş su ile temizlenmiş, doymamış gruplar içeren tüm maddeler sulu fazdan filtrata geçmiştir. Çö-

kelti önce elektrolit çözeltili içersinde bulunan miktar kadar alkolle çözülmüş, sonra elektrolit çözeltilisinin geri kalan kısmı ile bir balonjoje de toplanmıştır. Daha sonra polarogramlarından yararlanarak sinnamik asit miktarına geçilmiştir.

Bu yöntemle etanol ile saflaştırılmış balsamın yüzde asit miktarı (ortalama değer % 31.6, diğer yöntemle aynı balsamın serbest ve bağlı halde bulunan sinnamik asit değeri % 28.52 olarak bulunmuştur.

Bu çalışmada geliştirilen yöntem ile elde edilen sonuçlarının daha yüksek çıkması doğaldır, çünkü üç ayrı ekstraksiyon işlemi ortadan kaldırılmakta ve ekstraksiyon işlemleri sürecinde meydana gelen kayıplardan kaçınılmaktadır.

E-89-453

ÖZET

Bu çalışmada, önce ham sığala yağından, arzu edilen kalitede saf balsam eldesine olanak veren, saflaştırma işlemleri üzerinde durulmuştur. Elde edilen balsamların kaliteleri belirlenmiştir. Ayrıca, analitik çalışmalarda, tayinlere duyarlılık ve kolaylık getirici yeni yöntemlerin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmalar sonucunda, balsam içersindeki serbest sinnamik asit miktarının tayini için potansiyometrik, serbest ve bağlı halde bulunan sinnamik asitin toplam miktarının tayini için polarografik yöntem geliştirilmiştir.

SUMMARY

In this study, purification of crude storax balsam and characterization of the product are reported. Quality assessment of the balsams obtained by various methods were made.

A new polarographic technique for the determination of total cinnamic acid in free and bound form, and a potentiometric method for the determination of free cinnamic acid in purified storax balsam were developed.

KAYNAKLAR

1. Davis, P.H., Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol. 4, 264-265 (1972).
2. Baytop, T., Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi, İstanbul Univ. Yay. No. 3255, Ecz.Fak. Yay. No. 40, İstanbul (1984). s. 376-377.
3. Baytop, A., Farmasötik Botanik, İstanbul Univ. Yay. No. 2311, Ecz. Fak. Yay. No. 25, İstanbul (1977). s. 208-209, 322-325
4. Guenther, E., The Essential Oils, Krieger Publishing Co., Inc., Malabar, Florida, Robert, E., Vol. 5, 243-254, New York (1952).
5. Leung, A.Y., Encyclopedia of Common Natural Ingredients Used In Food, Drugs and Cosmetics, John Wiley and Sons, New York, (1980). s. 300-302
6. Kesercioğlu, T., Türkiye Bitkileri Üzerinde Sitotaksonomik, Anatomik ve Morfolojik Araştırmalar, Liquidambar orientalis Mill., Biyoloji 115, E.Ü. Fen Fakültesi İlmî Raporlar Serisi No. 173, İzmir (1973).
7. Tanker, M., Sayron, E., Styrax Liquidus üzerinde Farmakognozik Araştırmalar, A.Ü.Ecz.Fak. Mecmuası, 4(1), 108 (1974).
8. Baytop, T., Türkiye'nin Tıbbi ve Zehirli Bitkileri, İ.Ü. Yay. No. 1039, İstanbul (1963). s. 182-188
9. Berk, A., Sığala Ağacı (Liquidambar orientalis Mill.) ve Sığala Yağı (Styrax Liquidus), Farmakolog., 17, 73-81 (1947).

10. Berkel, A., Huş, S., Sığala Ağacı Ormanları ve Sığala Yağı Üzerine Araştırmalar, Yüksek Ziraat Enstitüsü Dergisi, 3, 1(5), (1945).
11. Huş, S., Reçine ve Sığala Yağı Elde Etme Metodları, Hüsnütabiat Basımevi, İstanbul (1947).
12. Gül, S.G., Sığala Ağacı (Liquidambar orientalis Mill.) Kabuk Sıyrıntılarında Yağ Elde Etme Yöntemleri Üzerinde Araştırmalar, Ormancılık Araştırma Enstitüsü Yayınları, Teknik Bülten Serisi No. 178, Ankara (1986).
13. Tanker, M., Tanker, N., Farmakognozi, İstanbul (1976).
s.111-114, 159
14. Wren, R.C., Wren, R.W., Storax, in: Potter's New Cyclopaedia of Botanical Drugs and Preparations, Ed. Wren, R.C. and Wren, R.W., C.W. Daniel Company Ltd., London (1982). s. 292
15. Wallis, T.E., Textbook of Pharmacognosy, J. and A. Churchill Ltd., London, (1967). s. 510-512
16. Zafir, M., Eltutar, H., Styraç Liquide Purifiē, Folia Pharm., 1, 100-102 (1950).
17. Poucher, W.A., The Raw Materials of Perfumery in: Perfumes, Cosmetics and Soaps Chapman and Hall Ltd. (1923), Vol.1, 346-347, London (1984).
18. Berkel, A., Sığala Yağı ve Elde Edilmesi, Orman Mahsüllerinden Faydalanma Bilgisi, T.C. Tarım Bakanlığı Orman Genel Müdürlüğü Yayınları, Özel Sayı: 75, İstanbul (1948).

19. Ulubelen, A., Medicinal Plants of Turkey, Shoyakugaku Zasshi, 33(3), 125-129 (1979).
20. Hjorth, N., Balsam of Tolu, Styraç and Benzoin in: Eczematous Allergy to Balsams: Allied Perfumes and Flavouring Agents, Ed. Hjorth, N., Munksgaard, Copenhagen (1961). s. 112-123
21. Hill, A.F., Economic Botany, Mc Graw-Hill Book Company, London (1952). s. 169
22. Holtom, J.A., Hylton, W.H., Plant Stimulants, in: The Complete Guide to Herbs, Ed. Holtom, J.A., Hylton, W.H., Rodale Press, Aylesbury (1979). s. 76-79
23. Bozkurt, Y., Yaltırık, F., Özdönmez, M., Türkiye'de Orman Yan Ürünleri, İ.Ü. Yay. No: 2845, İstanbul (1982).
24. Keys, J.D., Supplementary Botanical Drugs in: Chinese Herbs: Their Botany, Chemistry and Pharmacodynamics, Ed. Keys, J.D., Charles, E., Tuttle Co., Tokyo (1976). s. 287-296
25. Lewis, W.H., Skin, in: Medical Botany: Plants Affecting Man's Health, Ed. Lewis, W.H., John Wiley and Sons Inc. New York (1977). s. 336-371
26. Becarano, S.J., Pratikte Tıbbi Tedavi Rehberi, Cumhuriyet Matbaası, İstanbul (1954). s. 842
27. Martindale, Extra Pharmacopoeia, Cinnamic Acid, The Pharmaceutical Press, London (1977). s. 1278

28. Hartwell, J.L., Plants Used Against Cancer: A Survey., Lloydia, 32, 247-250 (1969).
29. Huang, M.T., Chang, R.L., Wood, A.W., Jerina, D.M., Conney, A.H., Inhibition of the Mutagenicity of Bay-Region Diol-Epoxides of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Tannic Acid, Hydroxylated Cinnamic Acid Derivatives. Carcinogenesis, 237-242 (1985).
30. Poucher, W.A., Howard, G.M., Sunburn Preparations in: Perfumes, Cosmetics and Soaps, Poucher, W.A., Howard, G.M., Chopman and Hall, Vol.3, 402-424, London (1984).
31. Laurence, D.R., Bennett, P.N., Drugs Acting on the Skin in: Clinical Pharmacology, Laurence, D.R., Bennett, P.N., Churchill Livingstone, Hong Kong (1986). s. 881-903
32. Swingle, K.F., Trancik, R.J., Drugs Used in Dermatological Disorders in: Modern Pharmacology, Ed. Craing, C.R., Stitzel, R.E., Little Brown Co., Boston (1982). s. 969-983
33. Fisher, A.A., Dermatitis due to Plants and Spices in Contact Dermatitis Fisher, A.A., Lea and Febiger, Philadelphia (1973). s. 247
34. Dymoch, W., Pharmacographia Indica, Thacker, Spink and Co., Calcutta (1972). s. 593
35. Baytop, T., Farmakognozi, I.O.Yay. No. 2783, Istanbul (1980).
36. Grieve, M., Storax: A Mordern Herbal, Ed. Leyel, C.F., Penguin Books Ltd. Middlesex, England (1982). s. 775-776

37. Trease, G.E., Evans, W.C., Prepared Storax in: Pharmacognosy, Cassell and Collier Macmillan Publishers Ltd., Sydney, London (1980). s. 312
38. Huneck, S., Die Triterpensäuren Des Balsams Von Liquidambar orientalis Miller, Triterpene-IV, Tetrahedron, 19,479-482 (1963).
39. Hafızoğlu, H., Analytical Studies on the Balsam of Liquidambar orientalis Mill. by Gas Chromatography and Mass Spectrometry, Holzforschung 36, 311-313 (1982).
40. USP XX: Mach Printing Co., Easton, PA (1980). s. 742
41. British Pharmacopeia (BP): The University Printing House, Cambridge (1980). s. 427
42. Brezina. M., Zunan, P., Polarography in Medicine, Biochemistry and Pharmacy. Interscience Pub., New York (1958).
43. Meites, L., Polarographic Techniques. 2nd Ed. Interscience Pub., New York (1977).