

Yağ Güllü (*Rosa damascena* Mill.)'nde Tepe Boşluğu Katı Faz Mikro Ekstraksiyonu (HS-SPME) ve Konvansiyonel Su Distilasyonu Yöntemleri ile Elde Edilen Uçucu Bileşenlerin Karşılaştırılması

Hasan BAYDAR*, Sabri ERBAŞ

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

(Alınış / Received: 10.02.2015, Kabul / Accepted: 19.12.2015, Online Yayınlanma / Published Online: 15.04.2016)

Anahtar Kelimeler

Yağ güllü
Rosa damascena
HS-SPME
GC-MS
Su distilasyonu
Uçucu yağ

Özet: Yağ güllü (*Rosa damascena* Mill.), kendine özgü doğal koku bileşenleri nedeniyle parfüm ve kozmetik endüstrisinde değerlendirilen en önemli kokulu güll türüdür. Bu çalışmada, taze yağ güllü çiçeklerinin sepal (çanak yaprak), petal (taç yaprak), stamen (erkek organ) ve pistil (dişi organ) olarak ayrılan kısımlarının uçucu bileşenleri gaz kromatografisi/kütle spektrometresi (GC-MS) ile kombine edilmiş Tepe Boşluğu-Katı Faz Mikro Ekstraksiyon (HS-SPME) tekniği ile tespit edilmiştir. Ayrıca taze yağ güllü çiçekleri konvansiyonel hidro-Clevenger su distilasyonu yöntemi ile damıtılmış, elde edilen uçucu yağların bileşenleri GC-MS ile belirlendikten sonra HS-SPME sonuçları ile karşılaştırılmıştır. HS-SPME yönteminin yağ güllünde uçucu bileşenleri analizinde oldukça hassas ve etkili olduğu anlaşılmış, bir yağ güllü çiçeğinin farklı kısımların farklı koku bileşenlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca su distilasyonu ile elde edilen güll yağının uçucu yağ bileşenlerinin çiçeğin doğal koku bileşenlerinden farklı olduğu ve distilasyon sürecinde önemli bazı bileşenlerde değişimler ve kayıplar olduğu tespit edilmiştir. Taze güll çiçeğinin en önemli bileşeni olan feniletıl alkol çiçeğin en fazla pembe renkli petallerinde (taç yapraklarında), güll yağında varlığı istenmeyen metil öjenol ise çiçeğin en fazla stamenlerinde (erkek organlarında) bulunduğu belirlenmiştir.

Comparison of Volatile Compounds using Headspace Solid-phase Microextraction (HS-SPME) and Conventional Hydro-distillation Method in Oil-bearing Rose (*Rosa damascena* Mill.)

Keywords

Oil-bearing rose
Rosa damascena
HS-SPME
GC-MS
Hydro-distillation
Essential oil

Abstract: Oil-bearing rose (*Rosa damascena* Mill.) is one of the most strongly scented rose species, having characteristic floral scent compounds, which is used in the fragrance and cosmetic industries. In this research, floral scent compounds of the fresh oil-bearing rose flower divided into sections such as sepal, petal, stamen and pistil were detected by using headspace solid phase microextraction (HS-SPME) combined with gas chromatography/mass spectrometry (GC-MS). And also scent compounds of essential oils distilled from fresh rose flowers by using a conventional Clevenger type hydro-distillation apparatus were detected by GC-MS to make comparison with HS-SPME results. The findings indicated that the HS-SPME was sensitive and effective for the analysis of floral scent compounds of oil-bearing rose flower that's each section had different scent composition. The scent compositions of the rose oil obtained by hydro-distillation were different than floral scent composition of the fresh rose flowers. This result pointed out that hydro-distillation caused the loss of some floral scent compounds of oil-bearing rose flower. Other important findings were that phenyl ethyl alcohol, the main scent compound of the fresh rose flower, was found especially in the pink flower petals, and methyl eugenol, an undesirable compound of rose oil, was found especially in the flower stamens.

1. Giriş

“Isparta gülü” veya “Pembe Yağ Gülü” olarak adlandırılan *Rosa damascena* Mill., dünyada kültürü yapılan diğer kokulu gül türleri arasında kendine özgü keskin ve yoğun kokusu ile parfüm, kozmetik, ilaç ve gıda endüstrisi için ekonomik değeri en yüksek olanıdır [1]. Türkiye’nin Göller yöresi (Isparta, Burdur, Afyonkarahisar ve Denizli) ile Bulgaristan’ın Kazanlık Yöresi (Stara Zagora, Plovdiv, Karlova ve Pazarcık) dünyanın en önemli yağ gülü ve gül ürünleri üretim üstleridir [2, 3].

Göller yöresinde yağ gülü üretiminin % 80’den fazlasını tek başına karşılayan Isparta ilinde çiçeklenme Mayıs ayının başından Temmuz ayının başına kadar yaklaşık 2 ay sürmektedir. Çiçeklenme sezonu boyunca sabahın çok erken saatlerinden itibaren toplanan çiçekler damıtma veya ekstraksiyon için uçucu yağ tesislerine gönderilmektedir. Bu tesislerde su distilasyonu ile gül yağı ve gül suyu, *n*-hekzan ekstraksiyonu ile konkret ve konkretten de etil alkol ekstraksiyonu ile absöüt elde edilmektedir [4-6].

Göller yöresinde her yıl yaklaşık 25 bin da yağ gülü plantasyon sahasından ortalama 10 bin ton yağ gülü çiçeği üretilmekte, yörede faaliyet gösteren 20 kadar damıtma ve ekstraksiyon tesisinde yılda 1.5 ton kadar gül yağı, 2 ton kadar absöüt ve 5 ton kadar konkret elde edilmektedir. Normal fabrika koşullarında, 3-4 ton taze gül çiçeğinin damıtılmasıyla 1 kg gül yağı (ortalama uçucu yağ verimi % 0.035), 250-350 kg taze gül çiçeğinin *n*-hekzan ekstraksiyonu ile 1 kg konkret (ortalama konkret verimi %0.30) ve 1 kg konkretten de etil alkol ekstraksiyonu ile 0.5-0.6 kg absöüt (ortalama absöüt verimi % 55) elde edilmektedir [7].

Endüstriyel olarak yağ gülünün damıtmada kullanılan kısmı, bütün olarak çiçek sapıyla birlikte kopartılan çiçekleridir. Böylece bir çiçeğin sepal (çanak yaprak), petal (taç yaprak), stamen (erkek organ) ve pistil (dişi organ) olarak bütün kısımları geleneksel/konvansiyonel su distilasyonu tekniği ile damıtılarak gül yağı elde edilmektedir. Damıtma sırasında 100 °C’de su kaynamaya başladığında çiçeğin uçucu yağ depolayan özelleşmiş epidermis ve gland hücrelerindeki uçucu yağlar ozmosis yoluyla şişen hücre membranından dışarı çıkarak su buharıyla birlikte yoğunlaştırıcıya doğru sürüklenmektedir [8]. Yüksek kaynama derecesine sahip olan ve suda çözünürlüğü fazla olan uçucu yağ molekülleri, düşük kaynama derecesine sahip olan ve suda çözünürlüğü düşük olan uçucu yağ moleküllerine göre daha önce damıtılmaktadır. Örneğin kaynama noktası 198 °C olan linalool, kaynama noktası 225 °C olan sitronellol ve kaynama noktası 230 °C olan geraniol’a göre daha erken ayrılmaktadır [9].

Türk gül yağı dünya parfümeri endüstrisinde yerini almış, standartlarını yerleştirmiştir. Türk gül yağlarında yapılan GC/FID ve GC/MS analizlerine göre gül yağının en önemli uçucu bileşenlerinin linalool, sitronellol, nerol ve geraniol gibi monoterpenik alkoller olduğu, ayrıca nonadesan, nonadesen, eikosan, heneikosan ve trikosan gibi uzun zincirli hidrokarbonlar, humulen ve murolen gibi seskiterpenler, metil öjenol gibi oksit ve eterler, geraniol asetat ve geraniol gibi ester ve aldehitler ile öjenol gibi fenoller olduğu tespit edilmiştir [10-13].

Büyük gayretlere rağmen yağ gülünde uçucu moleküllerinin kalıtımından ve biyosentezinden sorumlu genler ve enzimler tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir [14]. Bununla birlikte monoterpen alkollerin büyük olasılıkla aynı biyosentez yolunda önce geraniol pirofosfat’tan geraniolün ve daha sonra geraniolden sitronellol ve nerol gibi diğer monoterpenlerin sentezlendiği sanılmaktadır [15]. Yağ gülünde koku ile ilişkili genler kendilerini büyük olasılıkla petal yapraklarda ifade etmektedir [16].

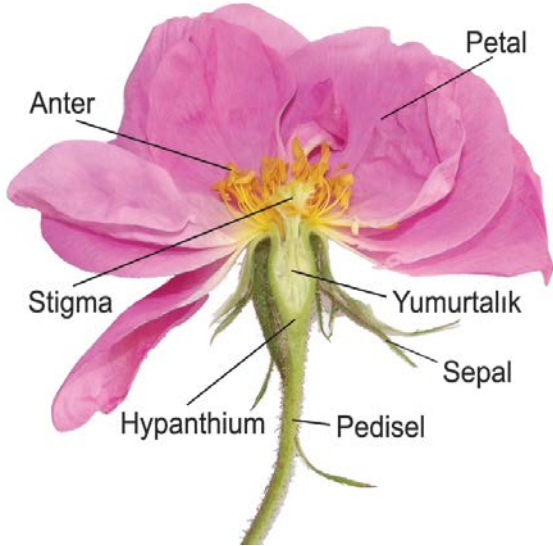
Uçucu yağ molekülleri yüksek ısıya duyarlı olduğundan yüksek sıcaklık ve basınçta yapılan distilasyonlarda uçucu yağ kalitesi genellikle düşmekte, ayrıca distilasyon sırasında fermentasyon, saponifikasyon, transesterifikasyon, polimerasyon, kondenzasyon ve hidrolizasyon gibi bir takım biyokimyasal tepkimeler sonucunda uçucu yağ molekülleri dekompoze olabilmektedir [9, 17, 18]. Bu nedenle damıtma ile elde edilmiş uçucu yağ (gül yağı) çoğu zaman doğal (floral) kokuyu temsil etmemektedir. Tepe boşluğu katı faz mikroekstraksiyon (HS-SPME) tekniği ile dalında veya dalından yeni koparılmış bir çiçeğin doğal kokusu mikrofiber ile yakalanmakta, doğrudan GC-MS cihazına enjekte edilerek koku molekülleri tespit edilebilmekte [19-21], böylece distilasyon ile elde edilmiş uçucu yağların koku değişimleri belirlenebilmektedir.

İşte bu araştırmada, taze yağ gülü çiçeklerinin sepal (çanak yaprak), petal (taç yaprak), stamen (erkek organ) ve pistil (dişi organ) olarak ayrılan kısımlarının koku bileşenleri gaz kromatografisi/kütle spektrometresi (GC-MS) ile kombine edilmiş Tepe Boşluğu-Katı Faz Mikro Ekstraksiyon (HS-SPME) tekniği ile tespit edilmesi ve ayrıca yağ gülü çiçeklerinden hidro-Clevenger su distilasyonu yöntemi ile damıtılarak elde edilen uçucu yağların uçucu bileşenleri GC-MS cihazında belirlendikten sonra HS-SPME sonuçları ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Materyal

Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Merkezinde bulunan yağ güllü (*Rosa damascena* Mill.) araştırma bahçesinden 26 Mayıs 2013 tarihinde sabah erken saatlerinde toplanan yağ güllü çiçekleri materyal olarak kullanılmıştır. Araştırma materyali olan bir yağ güllü çiçeğinin kısımlarını gösteren resim Şekil 1'de verilmiştir. Ayrıca yağ güllerinden tesadüf olarak seçilen 100 adet çiçekte çiçek rengi, çiçek ağırlığı, petal çapı, petal sayısı, sepal sayısı, sepal uzunluğu, anter sayısı, anter çapı, anter ağırlığı, filament uzunluğu, stigma sayısı, styli uzunluğu, hypanthium çapı ile bir çiçekte ağırlıkça petal, sepal, stamen ve pistil oranları gibi bazı önemli fenolojik ve morfolojik özellikler belirlenerek ortalama değerleri ve değişim aralıkları Çizelge 1'de sunulmuştur.



Şekil 1. Bir yağ güllü çiçeğinin kısımları

2.2. Metot

2.2.1. Petallerin renk analizi

Petallerin renk değerleri Minolta CR-300 (Minolta Ramsey, NJ, USA) renk cihazı ile L* (parlaklık-koyuluk), a* (+a*: kırmızı, -a*: yeşil) ve b* (+b*: sarı, -b*: mavi) değerleri olarak belirlenmiştir. Renk ölçümleri petal yaprağın noktasından iki noktadan ölçüm yapılarak ortalaması alınmıştır. Minolta cihazı standart beyaz plakaya göre kalibre edilmiştir (Y = 93.9, x = 0.313 ve y = 0.321).

2.2.2. Hidro-distilasyon ve GC-MS analizi

Tarla Bitkileri Bölümü Endüstri Bitkileri Laboratuvarında 500 g taze gül çiçeği Neo-Clevenger tipi hidro-distilasyon cihazının 6 L'lik cam balonuna doldurulmuş ve üzerine 1.5 L saf su ilave edilerek 3

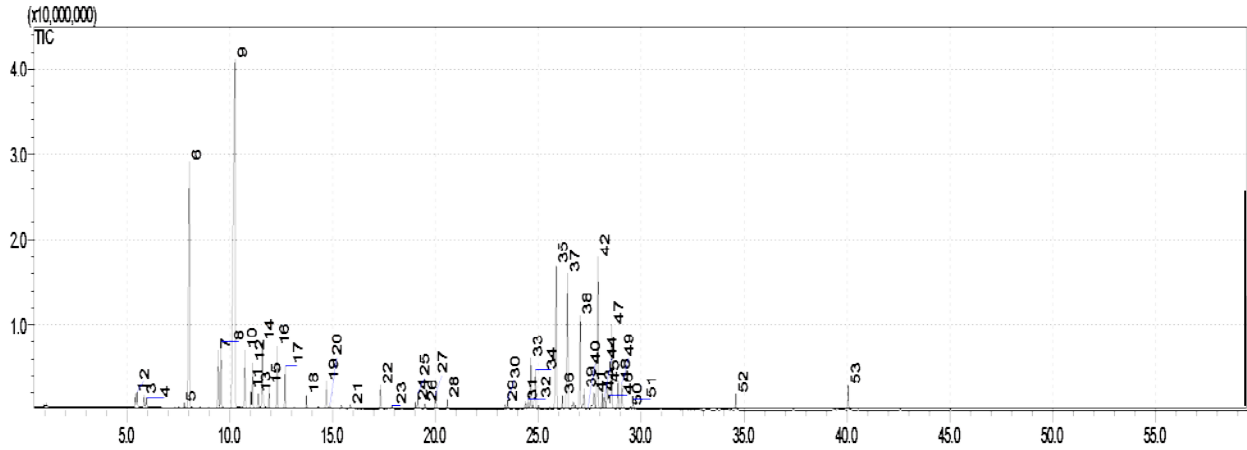
saat süreyle damıtılmıştır [22]. Çiçeğin bütünü dışında ayrıca petal (taç yaprakları) ve petal yaprakları dışında kalan kısımlar (sepal, stamen, pistil, hypanthium ve pedisel) ayrılarak uçucu yağ oranları % (v/w) da belirlenmiştir. Damıtma sonunda elde edilen gül yağından 100 µL çekilerek 1 mL n-hekzan içinde çözdürülmüş ve bundan çekilen 1 µL örnek SDÜ Deneysel ve Gözlemsel Araştırma ve Uygulama Merkezinde bulunan GC-MS (Gas chromatography/ Mass spectrometry) cihazında (QP-5050 quadrapole detektörlü Shimadzu 2010 Plus) analiz edilerek uçucu yağ bileşenleri belirlenmiştir.

Kapiler kolon olarak CP-Wax 52 CB (50 m x 0.32 mm, 0.25 µm)'nin kullanıldığı analizlerde fırın sıcaklık programı dakikada 10 °C artarak 60 °C'den 220 °C'ye ulaşmış ve 220 °C'de 10 dakika kadar bekleme şeklinde yapılmıştır. Toplam koşturma süresinin 60 dakika enjektör sıcaklığının 240 °C ve detektör sıcaklığının 250 °C olarak ayarlandığı bu çalışmada taşıyıcı gaz olarak helyum (20 mL/dakika, split 1:20) gazı kullanılmıştır.

2.2.3. HS-SPME/GC-MS analizi

Taze yağ güllü çiçeklerinin petal (taç yapraklar), sepal (çanak yapraklar ile hypanthium ve pedisel), stamen (anter ve filament) ve pistil (stigma, styli ve yumurtalık) olarak ayrılan kısımlarının koku bileşenleri gaz kromatografisi/kütle spektrometresi (GC-MS) ile kombine edilmiş Tepe Boşluğu-Katı Faz Mikro Ekstraksiyon (HS-SPME) tekniği ile tespit edilmiştir. Katı faz mikroekstraksiyon (SPME, Supelco, Germany) yöntemi esas alınarak, 10 mL vial içine konulan 2.5 g taze yağ güllü numuneleri 30 dakika kadar 60 °C'de tutulduktan sonra 75 µm inceliğinde Carbozen/Polidimetilsilokzan (CAR/PDMS) kaplı fused silica fiber ile tepe boşluğundan uçucu bileşenler absorbe edilmiş ve hemen arkasından HS-SPME uyumlu GC-MS (Shimadzu 2010 PLUS) cihazının kapiler kolonuna (Restek Rx-5 Sil MS 30 m x 0.25 mm, 0.25 µm) enjekte edilmiştir.

Fırın sıcaklığı 40 °C'de 2 dakika bekledikten sonra 250 °C'ye dakikada 4 °C'lik artışla ulaşılacak şekilde programlanmıştır. Enjektör ve dedektör sıcaklıkları 250 °C olarak ayarlanmıştır. İyonlaştırma türü olarak EI (70 eV) ve taşıyıcı gaz olarak Helyum (1.61 mL/dakika) kullanılmıştır. Uçucu yağ bileşenlerinin tanımlanmasında Wiley, Nist, Tutor, FFNSC kütüphanesinden yararlanılmıştır (Şekil 2). LRI (Linear Retention Indices) değerleri, bir seri C₇-C₃₀ doymuş n-alkan standartları (Sigma-Aldrich Chemical Co., USA) yardımıyla hesaplanmıştır.



Şekil 2. Yağ gülü çiçeğinin HS-SPME/GC-MS ile tespit edilmiş koku bileşenlerine ait bir kromatogram

3. Bulgular ve Tartışma

Bir yağ gülü çiçeğinin taze olarak ortalama 7.5 cm çapında olduğu ve 2.5 g geldiği, ağırlıkça % 65'inin petal (ortalama 30 adet taç yaprak), % 10'unun sepal (5 adet çanak yaprak ile 1 adet hypanthium ve pedisel), % 20'sinin pistil (40 adet stigma tepesi ve borusu ile yumurtalık) ve % 5'inin stamen (ortalama 90 adet anter ve ipçiği) oluşturduğu tespit edilmiştir (Tablo 1). Çiçekler bütün (tam) olarak damıtıldığında ortalama % 0.035 oranında, aynı çiçeklerin sadece petal yaprakları ayrılıp damıtıldığında % 0.060 oranında ve petal yaprakları dışında kalan kısımlar (sepal+pistil+stamen) damıtıldığında ise % 0.015 oranında uçucu yağ verimi elde edilmiştir (Tabloda gösterilmemiştir). Bu sonuç, taze yağ gülü çiçeğinin yaklaşık ağırlıkça üçte ikisini meydana getiren pembe renkli petal (taç) yaprakların çiçekteki uçucu yağların ortalama % 80'ine tekabül ettiği anlaşılmaktadır.

Yağ gülünün uçucu yağı ile çiçek, petal, sepal, stamen ve pistil kısımlarındaki doğal koku bileşenleri Tablo 2'de verilmiştir. HS-SPME/GC-MS analizine göre yağ gülü çiçeğini temsil eden toplam 79 uçucu yağ bileşeni tespit edilmiştir. Damıtma ürünü olan gül yağında GC-MS ile toplam 17 adet bileşen belirlenirken, HS-SPME/GC-MS ile bütün çiçekte toplam 43 adet, petal yapraklarda toplam 42 adet, sepal yapraklarda toplam 47 adet, stamenlerde toplam 45 adet ve pistillerde toplam 48 adet bileşen tespit edilmiştir (Tablo 2). GC-FID/MS analizlerinde bazen miktarları belirlenemeyecek kadar düşük düzeylerde çıkan β -damasenon, β -damasen ve β -iyonen gibi gül yağının karakteristik koku oluşumuna katkı sağlayan bileşenler de vardır [23].

Bütün (tam) çiçeklerin damıtılması ile elde edilen gül yağında GC-MS ile geraniol (% 35.52), sitronellol (% 25.16) ve nerol (% 16.58) en önemli üç bileşen olarak belirlenmiş, bu üç bileşene linalool (% 0.25) ve feniletal alkol (% 1.25) de ilave edilecek olursa gül yağının en belirgin karakteristik bileşenleri olan monoterpenik alkollerin toplam oranı % 78.76 olarak

tespit edilmiştir. Monoterpen alkoller dışında kalan parafinik hidrokarbonlar (β -karyofillen, aromadendren, germakren D, heksadekan, nonadekan, 9-nonadeken, eikosan ve heneikosan gibi), fenoller (öjenol gibi), oksit ve eterler (metil öjenol gibi) ile esterler (geraniol asetat/format ve sitronellil asetat gibi) toplamı % 20.55 olarak saptanmıştır (Tablo 2). Gül yağını meydana getiren uçucu yağ bileşenleri, dünyada ve Türkiye'de gül yağı standartlarını belirleyen en önemli kalite parametreleridir. Gül yağı standartları dünyada ISO 9842:2003, Bulgaristan'da BDS ISO9842:2006 ve Türkiye'de TS 1040:1971 esas alınarak belirlenmektedir. Gül yağında belirlendiğimiz uçucu yağ bileşenlerinin oranları, daha önce Türk gül yağlarında belirlenen uçucu yağ bileşenlerine büyük ölçüde uygunluk göstermiştir [10-13].

Ticari gül yağlarının da sitronellol oranı çoğunlukla geraniol oranından yüksektir. Çünkü endüstriyel damıtma sürecinde, gül çiçeklerinin tarladan damıtma tesisine geç gelmesi ve tesiste aşırı yığılma nedeniyle gül çiçeklerinin çok geç saatlere kadar sıcakta beklemesi fermantasyona neden olmakta, fermantasyon sürecinde de geraniol azalırken sitronellol oranı artmaktadır [9, 24]. Fermantasyonun en önemli nedeni, taze toplanan çiçekler çuvallar içerisinde beklerken ortaya çıkan yüksek ısıyla birlikte uçucu yağların enzimatik olarak parçalanması ve dönüşmesiyle ilgilidir. Sitronellol/Geraniol (S/G) oranı eğer 1'in altında ise genel olarak gül yağının fermente olmadan damıtıldığına işarettir. Ayrıca gül yağında normalin üzerinde etanol bulunması, damıtmada yüksek miktarlarda fermente olmuş güllerin kullanıldığının bir diğer göstergesidir [11]. Araştırmamızda yağ gülü çiçekleri bekletilmeden taze olarak damıtıldığından, elde edilen gül yağında S/G oranı $25.16/35.52=0.7$ olarak hesaplanmış, ayrıca etanol bulunmamıştır (Tablo 2).

Tablo 1. Materyal olarak kullanılan yağ gülü çiçeklerinin bazı önemli fenolojik ve morfolojik özellikleri

Özellikler	Ortalama değer	Değişim aralığı
Çiçek rengi (L, a, b değerleri*)	Pembe (58.1±5.1, 50.9±4.9, -13.5±1.1)	Açık pembe-Koyu pembe
Çiçek ağırlığı (g/adet)	2.0	1.5-3
Çiçek (petal) çapı (cm)	7.5	5-10
Petal sayısı (adet/çiçek)	30	25-35
Sepal sayısı (adet/çiçek)	5	-
Sepal uzunluğu (cm)	5	4-6
Anter sayısı (adet/çiçek)	90	70-110
Anter çapı (mm)	2.5	2-3
Anter ağırlığı (g/çiçek)	0.10	0.05-0.15
Filament uzunluğu (mm)	5.5	5-6
Stigma sayısı (adet/çiçek)	40	30-50
Style uzunluğu (mm)	8	6-10
Hypanthium çapı (mm)	5	4-6
Bir çiçekte ağırlıkça:		
Petal oranı (%)	65	60-70
Sepal oranı (%)	10	8-12
Stamen oranı (%)	5	3-7
Pistil oranı (%)	20	17-23

*Minolta renk değerlendirmesi: L değerleri arttıkça, a ve b değerleri azaldıkça pembe renk açılırken, L değeri azaldıkça, a ve b değerleri arttıkça pembe renk koyulaşmaktadır.

Bütün çiçek ve çiçek kısımlarının HS-SPME/GC-MS ile tespit edilen doğal koku bileşenleri GC-MS ile tespit edilen gül yağı bileşenlerinden hem sayıca hem de oransal olarak önemli farklılıklar göstermiştir. Gül yağının en önemli üç monoterpenik koku bileşeni olan geraniol, sitronellol ve nerol çiçek ve çiçek kısımlarında çok daha düşük oranlarda olduğu, sırasıyla % 0.61-12.05, % 0.16-11.63 ve % 0.09-2.64 aralığında değiştiği belirlenmiştir. Diğer yandan gül yağında düşük oranda bulunan feniletıl alkol (%1.25), bütün çiçekte % 44.48 ve çiçek kısımlarından petal yapraklarda % 42.33 oranında yüksek oranlarda bulunurken, aynı bileşen çiçeğin sepal yaprakları ve stamenlerinde sırasıyla % 1.02 ve % 2.67 olarak düşük oranlarda ve pistillerde hiç bulunmadığı tespit edilmiştir (Tablo 2). Sonuç olarak doğal gül çiçeği kokusunun en belirgin koku bileşeni olan feniletıl alkolün asıl kaynağının çiçeğin petal yaprakları olduğu belirlenmiştir. Ancak gül çiçeğinin dalında taze iken kendine has kokusunu kazandıran feniletıl alkolün su distilasyonu ile elde edilen gül yağında çok düşük oranda (% 1.25) temsil edilmesi, üzerinde önemle durulması ve tartışılması gereken bir konudur.

Gül yağının feniletıl alkol bakımından fakir olmasının en önemli nedeni, suda kolay çözünebilen bir aromatik alkol olan feniletıl alkolün büyük bir bölümünün damıtma sırasında posa suyuna ve yoğunlaşma sonunda gül suyuna geçmesidir. Bu nedenle gül ürünlerinden gül suyu ve posa suyu uçucu yağlarının feniletıl alkol oranı çok yüksek bulunmaktadır. Feniletıl alkolün ana kaynağı olan 2-feniletıl β-D-glukopiranosit yağ gülü çiçeklerinin uçucu yağlarında bol miktarda bulunurken, damıtma sürecinde kolaylıkla hidrolize olabilmektedir [25]. Damıtma sonunda yan ürün olarak elde edilen posa

suyu ve gül suyundan reçine absorbantı yardımıyla yüksek saflıkta feniletıl alkol elde edilebilmektedir [26].

Genel olarak çiçek ve petal yaprakların uçucu yağ bileşenleri birbirine benzer bulunmuş, bu sonuç bir gül çiçeğinin karakteristik doğal kokusunu daha çok petal yapraklarda bulunan koku bileşenlerinden kazandığını göstermesi bakımından önemli görülmüştür. Koyu yeşil renkli çanak yapraklar (sepal) ve açık yeşil renkli dişi organ (pistil veya karpel) uçucu yağları özellikle α-pinen (sırasıyla % 11.68 ve %5.46), β-mirsen (sırasıyla % 27.60 ve % 35.40), β-karyofillen (sırasıyla % 6.85 ve %7.18), aromadendren (sırasıyla % 5.70 ve % 6.97), α-humulen (sırasıyla % 3.68 ve %3.88), kadinadien (sırasıyla % 7.97 ve % 6.23) ve α-bulnesen (sırasıyla % 3.22 ve % 4.81) gibi parafinik hidrokarbonlar bakımından zengin olduğu ve bileşenlerin kaynağı olduğu anlaşılmıştır (Tablo 2).

Mihailova vd. [27] tarafından yapılan bir araştırmada; yağ gülü çiçeklerinde iç petal yapraklarda sitronellol ve nerol oranlarının, dış petal yapraklarda geraniol ve feniletıl alkol oranlarının ve üreme organlarında ise metil ejönot ve hidrokarbon (stearoptenler) oranlarının daha fazla olduğu saptanmıştır. Yağ gülü çiçeklerinin farklı kısımlarında farklı uçucu yağ bileşenleri sentezlenmesi, her bir uçucu yağ bileşenin farklı antimikrobiyal, antioksidan, allelopatik, otoburlara ve böceklerle karşı repellent ve tozlayıcı böcekler için atraktif etkiler göstermesi ile ilgilidir [28, 29, 38].

Tablo 2. Yağ gülünün uçucu yağı ile çiçek, petal, sepal, stamen ve pistil kısımlarındaki uçucu bileşenler (%)

LRI	Bileşen	GC-MS		HS-SPME/GC-MS			
		Uçucu yağ	Çiçek	Petal	Sepal	Stamen	Pistil
725	Metil butenol	-	-	-	-	0.33	-
850	Hekzenal	-	0.12	0.05	0.36	0.09	0.12
853	Hekzenol	-	0.09	0.19	0.83	0.36	0.38
867	n-Hekzanol	-	0.46	0.56	0.27	0.22	0.53
918	Anisol	-	0.21	-	-	-	-
927	α -Thujen	-	-	-	0.14	0.08	0.20
933	α -Pinen	-	0.14	0.16	11.68	0.16	5.46
964	Benzaldehit	-	0.51	0.32	-	0.12	-
972	Sabinen	-	-	0.04	2.13	0.04	1.98
978	β -Pinen	-	-	-	2.26	-	0.97
991	β -Mirsen	-	0.64	0.99	27.60	0.69	35.40
1007	α -Fellandren	-	-	-	-	-	0.23
1008	Hekzenil asetat	-	-	-	1.82	0.21	0.23
1012	Hekzenil etanoat	-	-	-	0.49	0.12	0.28
1018	α -Terpinen	-	-	-	1.34	-	1.24
1025	<i>p</i> -Simen	-	-	-	0.45	-	0.75
1030	Limonen	-	0.21	0.29	2.36	-	2.95
1031	Benzil alkol	-	1.60	1.29	-	0.37	-
1035	(Z)- β -Osimen	-	0.15	0.17	0.64	-	0.72
1045	Fenilasetaldehit	-	0.10	0.09	-	-	-
1046	(E)- β -Osimen	-	0.16	0.21	1.87	0.05	1.97
1058	γ -Terpinen	-	0.03	0.04	1.27	-	1.63
1086	Terpinolen	-	-	-	0.40	-	0.53
1090	Rosefuran	-	0.17	0.10	-	0.04	-
1101	Linalool	0.25	0.11	0.10	-	0.08	0.83
1113	Feniletıl alkol	1.25	44.48	42.33	1.02	2.67	-
1125	Rose oksit	-	-	-	0.15	-	-
1128	2.4-Dimetilanisol	-	-	-	-	-	0.17
1140	2.4-Ksilenol	-	-	-	0.13	-	0.14
1165	β -Sitronellal	-	0.17	0.12	-	-	-
1167	Benzil asetat	-	0.08	0.05	-	0.23	-
1172	Lavandulol	-	0.08	-	-	-	-
1177	Terpinen-4-ol	-	-	-	0.78	-	0.69
1179	Verbenol	-	0.16	0.06	-	-	-
1192	Metil salisilat	-	-	-	-	-	0.25
1198	α -Terpineol	-	-	-	0.09	-	0.15
1226	Linalil format	-	12.19	8.39	0.24	0.71	-
1232	Sitronellol	25.16	11.63	14.65	0.48	0.85	0.16
1238	Nerol/Neral	16.58	2.64	0.69	0.19	0.23	0.09
1250	Geraniol	35.52	12.05	13.87	0.64	1.59	0.61
1257	Feniletıl asetat	-	3.62	-	-	1.78	-
1268	Geranial	-	-	2.39	0.32	0.44	0.18
1300	Geranil asetat/format	2.64	0.03	-	-	0.39	-
1346	α -Kubeben	-	-	-	0.20	-	0.22
1350	Sitronellil asetat	0.87	0.14	0.55	0.32	-	-
1357	Öjenol	1.94	-	-	-	46.08	-
1375	α -Kopaen	-	-	-	0.27	-	0.25
1361	Neril asetat	-	0.14	2.55	0.36	15.42	0.06
1382	β -Bourbonen	-	-	0.06	1.85	-	1.29
1390	β -Elemen	-	-	0.06	1.69	-	1.98
1397	Metil öjenol	1.26	0.11	0.04	-	5.49	-
1400	Tetradekan	-	0.04	-	-	0.52	-

Tablo 2'nin devamı

LRI	Bileşen	GC-MS		HS-SPME/GC-MS			
		Uçucu yağ	Çiçek	Petal	Sepal	Stamen	Pistil
1418	β -Karyofillen	0.97	0.05	0.22	6.85	0.12	7.18
1423	β -Sedren	-	-	-	0.47	-	0.37
1438	Aromadendren	0.40	0.04	0.16	5.70	0.12	6.97
1452	Isoöjenol	-	-	-	-	1.10	-
1454	α -Humulen	-	0.05	0.13	3.68	0.14	3.88
1471	Germakren D	0.77	-	-	0.82	-	1.09
1472	Kadinadien	-	0.05	0.20	7.97	0.09	6.23
1476	Dodekanol	-	-	-	-	0.37	-
1487	β -Selinen	-	-	0.10	0.54	-	0.70
1496	Metil isoöjenol	-	-	-	0.56	0.30	-
1479	β -Şamigren	-	-	-	1.12	-	1.58
1497	α -Muurolen	-	-	-	0.54	-	0.61
1499	α -Bulnesen	-	-	-	3.22	-	4.81
1500	Pentadekan	-	1.07	1.09	-	7.19	-
1504	α -Farnesen	-	-	-	-	-	0.13
1512	γ -Kadinen	-	-	-	0.98	-	0.98
1518	δ -Kadinen	-	-	-	1.49	-	1.65
1600	Hekzadekan	0.70	0.13	0.13	-	0.57	-
1614	Tetradekenal	-	-	-	-	0.18	-
1680	Tetradekanol	-	0.14	0.42	-	0.44	-
1700	Heptadekan	-	1.47	2.16	0.54	3.09	0.46
1800	Oktadekan	-	0.08	0.09	-	0.13	-
1884	Hekzadekanol	-	0.54	1.08	-	1.47	-
1900	Nonadekan	5.83	3.31	3.33	0.88	4.79	0.72
1933	9-nonadeken	2.37	-	-	-	-	-
2000	Eikosan	0.56	0.14	0.10	-	0.16	-
2100	Heneikosan	2.24	0.67	0.38	-	0.38	-

Petal yapraklardan damıtılan gül yağının rengi açık sarı iken, petaller dışındaki diğer kısımlardan damıtılan gül yağının rengi ise yeşile çalan bir mavi renk olduğu gözlenmiştir. Her ne kadar bu araştırmamızda tespit edilmemiş olmakla birlikte, daha önce yaptığımız bir araştırmada petalsız çiçek yağı renginin azulen (naftalinin izomeri olup koyu mavi renk veren organik bir madde)'den kaynaklandığı, azulenin petal uçucu yağında hiç bulunmazken, petalsız çiçeklerin uçucu yağında %1.6 oranında bulunduğu saptanmıştır [31]. Her ne kadar azulen varlığı nedeniyle yeşile çalan renklerde görülen gül yağları belirli bir süre bekletildiklerinde, azulenin parçalanması nedeniyle renkleri önce açık yeşile daha sonra açık sarıya dönüşmektedir.

Mutagenik ve alerjik reaksiyonlara neden olduğu ileri sürülen metil öjenol ($C_{11}H_{14}O_2$)'ün gül yağında hiç veya belirli sınırlar arasında bulunması istenmektedir [32-34]. Koku verici olarak metil öjenolün halihazırda parfümlerde % 0.3-0.8 oranında, krem ve losyonlarda % 0.01-0.05 oranında, sabun ve deterjanlarda %0.02-0.2 oranında kullanıldığı rapor edilmektedir [35]. Bazı uçucu yağların doğal bir koku bileşeni olan metil öjenolün özellikle Kanada ve Avrupa Birliği ülkelerinde kozmetik ve parfüm ürünlerine katılmasına sınırlamalar getirilmiştir.

Örneğin satışa hazır parfüm ve kozmetik ürünlerinden kokulandırıcılarda en fazla % 0.01, eau de toilette parfümlerde en fazla % 0.004, kokulu kremlerde en fazla %0.0002, oral hijyenik ürünlerde en fazla %0.0002 ve deri temizleme ürünlerinde en fazla % 0.001 oranında bulunması gerektiği rapor edilmektedir [36, 37].

Oysa parfüm ve kozmetik endüstrisinin en önemli ham maddelerinden birisi olan Türk gül yağlarında metil öjenol oranı çoğunlukla % 2'nin (bazen % 4'ün) üzerine çıkmaktadır. Bilhassa toplanması ve damıtılması gecikmiş, fermente olmuş güllerden elde edilen gül yağlarında metil öjenol oranı artmakta, diğer yandan çiçek hasadı sırasında özellikle tam açılmamış çiçeklerin toplanması, çiçek hasadının sabahın erken saatlerinde yapılması, bekletilmeden taze olarak damıtılması ve distilasyon süresinin gereğinden fazla uzatılmaması metil öjenol miktarını düşürmektedir [24, 30, 31]. Rusanov vd. [34], yağ güllü çiçeklerinde metil öjenolün en fazla petal dışındaki kısımlarda (sepal, stamen ve karpel) bulunduğu ve bu kısımlarda bulunan metil öjenol miktarının standart gül yağındaki metil öjenol miktarından yaklaşık 3 kat fazla olduğunu belirlemişlerdir. Aynı araştırmacılar 3 ve 4. safhalardaki çiçek tomurcuklarından elde edilen gül yağlarındaki

metil öjenol miktarının 6 ve 7. safhalardaki tam açmış çiçeklerden elde edilen gül yağlarındaki metil öjenol miktarından yaklaşık 5 kat daha az olduğunu belirlemişlerdir. Teknolojik olarak gül yağları fraksiyonlu distilasyona sokularak metil öjenolden arındırılabilir gibi, genetik mühendisliği yöntemleriyle de yağ gülünde metil öjenol sentezinden sorumlu genler susturulabilir.

Bu çalışmada, gül yağındaki metil öjenolün asıl kaynağının çiçeğin petalleri haricindeki kısımlar, özellikle de stamenler (erkek organlar) olduğu tespit edilmiştir. Standart gül yağında sadece % 1.26 oranında belirlenen metil öjenol, petal yapraklarda iz düzeyde (% 0.04) iken stamenlerde % 5.49 oranında kaydedilmiştir (Tablo 2). Üstelik metil öjenol maddesi sadece gül yağına değil, damıtma sırasında yan ürün olarak elde edilen gül suyuna da geçmektedir [34]. Çiçeğin stamenlerinde metil öjenol dışında ayrıca öjenol (% 46.08), isoöjenol (% 1.10) ve metil isoöjenol (% 0.30) gibi eter türevleri ile pentadekan (% 7.19), heptadekan (% 3.09) ve nonadekan (% 4.79) gibi parafinik hidrokarbonlar da yüksek oranlarda bulunmaktadır (Tablo 2).

4. Sonuç ve Öneriler

Sonuç olarak ticari gül yağının karakteristik koku molekülleri olan geraniol, sitronellol, nerol ve feniletal alkol gibi monoterpenik alkollerin daha çok çiçeğin petal yapraklarından, koku oluşumuna daha az ve genellikle olumsuz yönde katkı sağlayan parafinik hidrokarbonlar ile fenoller, esterler, oksitler ve eterler, aldehitler ve ketonların daha çok çiçeğin petal yaprakları haricindeki sepal, stamen ve pistil gibi kısımlarından kaynaklandığı tespit edilmiştir. Ayrıca su distilasyonu sırasında uygulanan yüksek sıcaklık ve basınç ortamında feniletal alkol gibi bazı önemli koku bileşenlerinin dönüşerek veya suya geçerek gül yağının kompozisyonunu etkilediği ve bu nedenle gül yağı kokusunun doğal çiçek kokusunu tam olarak temsil etmediği belirlenmiştir.

Araştırma sonuçları, metil öjenolsüz gül yağı ve gül suyu üretmek için taze gül çiçeğinin ağırlıkça % 60-70'ini (bazen tam açmış çiçeklerin %80'ini) oluşturan petal yaprakların kullanılması gerektiğini göstermektedir. Her ne kadar endüstriyel gül yağı üretiminde yağ gülü çiçekleri petal ayrımı yapılmaksızın bütün olarak damıtılıyor ise de, pratikte çiçekten petal yaprakların mekanik olarak (hasat sırasında elle veya distilasyondan önce makine ile) ayrılması mümkündür. Bu durumda pazar taleplerine bağlı olarak, normal standart (metil öjenol içeren) veya birinci kalite (metil öjenol içermeyen) gül yağı ve gül suyu üretimi gerçekleştirilebilir.

Sonuç olarak, bu çalışma, özellikle endüstriyel gül yağı üretiminde gül yağı kalitesine olumlu veya olumsuz yönde etki eden koku bileşenlerinin çiçeğin hangi kısımlarından kaynaklandığına ilişkin bulgular

içermesi nedeniyle özgün değer taşımaktadır. Ayrıca elde edilen sonuçların, Türkiye'nin en önemli uçucu yağ ihracat ürünü olan gül yağının konvansiyonel distilasyon yönteminin iyileştirilmesine ve geliştirilmesine yönelik araştırmaların yürütülmesine katkısı olacağı söylenebilir.

Teşekkür

Bu çalışmada, hizmet alımlarının bir kısmı, Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM) tarafından desteklenen 12/AR-GE/12 nolu proje bütçesinden karşılanmıştır. Bu nedenle, proje desteği sağlayan TAGEM'e teşekkür ederiz.

Kaynakça

- [1] Lawrence, B.M. 1991. Progress in Essential Oils: Rose Oil and Extracts. *Perfumer & Flavorist*, 16, 43-77.
- [2] Baydar, H. 2006. Oil-Bearing Rose (*Rosa damascena* Mill.) Cultivation and Rose Oil Industry in Turkey. *Euro Cosmetics*, 14, 13-17.
- [3] Kovacheva, N., Rusanov, K., Atanassov, I. 2010. Industrial Cultivation of Oil Bearing Rose and Rose Oil Production in Bulgaria during 21st Century Directions and Challenges. *Biotechnology & Biotechnology Equipment*, 24 (2), 1793-1789.
- [4] Aydın, M., Tutaş, M. 2003. Production of Rose Absolute from Rose Concrete. *Flavour And Fragrance Journal*, 18(1), 26-31.
- [5] Kürkcüoğlu, M., Başer, K. H.C. 2003. Studies on Turkish Rose Concrete, Absolute and Hydrosol. *Chemistry of Natural Compounds*, 39(5), 457-464.
- [6] Aycı, F., Aydın, M., Bozdemir, O.A., Tutaş, M. 2005. Gas Chromatographic Investigation of Rose Concrete, Absolute and Solid Residue. *Flavour and Fragrance Journal*, 20, 481-486.
- [7] Baydar, H., Kazaz, S. 2013. Yağ Gülü & Isparta Gülcülüğü. *Gülbirlik Yayınları*. No:1. Isparta.
- [8] Dudareva, N., Pichersky, E. 2000. Biochemical and Molecular Genetic Aspects of Floral Scents. *Plant Physiology*, 122, 627-633.
- [9] Baydar, H., Schulz, H., Kruger, H., Erbaş, S., Kineci, S. 2008. Influences of Fermentation Time, Hydro-distillation Time and Fractions on Essential Oil Composition of Damask Rose (*Rosa damascena* Mill.). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 11 (3), 224-232.

- [10] Anaç, O. 1984. Gas Chromatographic Analysis on Turkish Rose Oil, Absolute and Concrete. Perfumer & Flavorist, 9, 1-14.
- [11] Başer, K.H.C. 1992. Turkish Rose Oil. Perfumer & Flavorist, 17, 45-52.
- [12] Bayrak, A., Akgül, A. 1994. Volatile Oil Composition of Turkish Rose (*Rosa damascena*). Journal of the Science of Food and Agriculture, 64, 441-448.
- [13] Başer, K.H.C., Kürkcüoğlu, M., Özek, T. 2003. Turkish Rose Oil: Recent Results. Perfumer & Flavorist, 28(2), 34-42.
- [14] Cherry-Martin, M., Jullien, F., Heizmann, P., Baudino, S. 2007. Fragrance Heritability in Hybrid Tea Roses. Scientia Horticulturae, 113, 177-181.
- [15] Oka, N., Ohishi, H., Hatona, T., Hornberger, M., Sakata, K., Watanabe, N. 1999. Aroma Evolution During Flower Opening in *Rosa damascena* Mill. Zeitschrift für Naturforschung, 54, 889-895.
- [16] Spiller, M., Berger, R.G., Debener, T., 2010. Genetic Dissection of Scent Metabolic Profiles in Diploid Rose Populations. Theoretical and Applied Genetics, 120, 1461-1471
- [17] Garnero, J., Buil, P. 1976. Evolution of the Composition of the Rose Essential Oils and Concrete During the Production Campaign. Riv. Ital Ess Prof Peante Offic Aromic Sap., Aerosol, 58, 537-540.
- [18] Babu, K.G., Singh, B.S., Joshi, P.J., Singh, V. 2002. Essential Oil Composition of Damask Rose (*Rosa damascena* Mill.) Distilled under Different Pressures and Temperatures. Flavour and Fragrance Journal, 17, 136-140.
- [19] Jirovetz, L., Buchbauer, G., Stoyanova, A., Balinova, A., Guangjiun, Z., Xihan, M. 2005. Solid Phase Microextraction/Gas Chromatographic and Olfactory Analysis of the Scent and Fixative Properties of The Essential Oil of *Rosa damascena* L. from China. Flavour and Fragrance Journal, 20, 7-12.
- [20] Héthelyi, É.B., Szarka, S., Lemberkovics, É., Szóke, É. 2010. SPME-GC/MS Identification of Aroma Compounds in Rose Flowers. Acta Agronomica Hungarica, 58 (3), 283-287.
- [21] Dobрева, A. 2013. Dynamics of the Headspace Chemical Components of *Rosa damascena* Mill. Flowers. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 16, 404-411.
- [22] European Pharmacopoeia 1975. Maissonneuve Sinteruffine, 3, 68.
- [23] David, F., De Clercq, C., Sandra, P. 2006. GC/MS/MS Analysis of β -damascenone in Rose Oil. Varian GC/MS App., Note 52.
- [24] Baydar, H., Erbaş, S., Kineci, S., Kazaz, S. 2007. Yağ Güllü (*Rosa damascena* Mill.) Damıtma Suyuna Katılan Tween-20'nin Taze ve Fermente Olmuş Çiçeklerin Gül Yağı Verimi ve Kalitesi Üzerine Etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 2(1), 15-20.
- [25] Eikani, M.H., Golmohammad, F., Rowshanzamir, S., Mirza, M. 2005. Recovery of Water-Soluble Constituents of Rose Oil Using Simultaneous Distillation-Extraction. Flavour And Fragrance Journal, 20(6), 555-558.
- [26] Kineci, S., Baydar, H., Cengiz, M. 2007. Production of Essential Oil using Adsorbent Resins from Waste Water that Remained While Rose Oil Production. 38th International Symposium on Essential Oils. Book of Abstracts, No: SL-29, September 9-12, 2007. Graz, Austria.
- [27] Mihailova, J., Atanasouva, R., Balinova-Tsvetkova, A. 1977. Direct Gas Chromatographs of the Essential Oil in Separate Flower Parts of the Flower of Kazanlik Rose. In Proc. 7th Int. Cong. Ess. Oils. Kyoto. Japan., 219-221.
- [28] Özkan, G., Sağıdç, O., Baydar, N.G., Baydar, H. 2004. Antioxidant and Antibacterial Activities of *Rosa damascena* flower extracts. Food Science and Technology, 10(4), 277-281.
- [29] Baydar, H., Erbaş, S., Kaya, Y. 2011. Ayçiçeğinde Feromon Olarak Gül Suyunun Kullanılması Üzerine Bir Araştırma. 9. Tarla Bitkileri Kongresi, 12-14 Eylül, Bursa, 2, 964-997.
- [30] Baydar, H., Baydar Göktürk, N. 2005. The Effects of Harvest Date, Fermentation Duration and Tween 20 Treatment on Essential Oil Content and Composition of Industrial Oil Rose (*Rosa damascena* Mill.). Industrial Crops and Products, 21, 251-255.
- [31] Baydar, H., Kazaz, S., Erbaş, S. 2013. Yağ Güllünde (*Rosa damascena* Mill.) Morfogenetik, Ontogenetik ve Diurnal Varyabiliteler. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 8(1), 1-11.
- [32] MESC, 2000. Methyl Eugenol Steering Committee Meeting. International Workshop on P-Alkoxyallylbenzene Derivatives - Methyl Eugenol and Estragole. May 1-2, 2000, Virginia.
- [33] Harris, B. 2002. Methyl Eugenol-The Current Bete Noire of Aromatherapy. International Journal of Aromatherapy, 12(4), 193-201.

- [34] Rusanov, K., Kovacheva, N., Rusanova, M., Atanassov, I. 2012. Reducing Methyl Eugenol Content in *Rosa damascena* Mill. Rose Oil by Changing the Traditional Rose Flower Harvesting Practices. The journal European Food Research and Technology, 234, 921-926.
- [35] NTP 2000. Toxicology and Carcinogenesis Studies of Methyl eugenol (CAS No. 93-15-2) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice. National Toxicology Program Technical Report Series, 491, 1-412.
- [36] SCCNFP 2000. Opinion Concerning Methyl eugenol Adopted By The SCCNFP During The 14th Plenary Meeting Of 24 October 2000. Executive Summary. Scientific Committee On Cosmetic Products And Non-Food Products Intended For Consumers. http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety (Erişim Tarihi 25.09.2013).
- [37] Health Canada (2010). List of Prohibited And Restricted Cosmetic Ingredients (The Cosmetic Ingredient Hotlist). http://www.hc-sc.gc.ca/hotlist-liste_2010-eng.pdf (Erişim Tarihi 20.10.2013).
- [38] Göktürk Baydar, N., Baydar, H. 2013. Phenolic Compounds, Antiradical Activity and Antioxidant Capacity of Oil-Bearing Rose (*Rosa damascena* Mill.). Industrial Crops and Products, 41, 375-380.