

Adana Yöresinden Elde Edilen *Cyclotrichium origanifolium* (Labill.) Manden. & Scheng. (Dağ nanesi) Bitkisi Uçucu Yağının Kimyasal İçeriği ve Antimikrobiyal Aktivitesi

Mehmet Öz^{1,*}

¹Gümüşhane Üniversitesi, Gümüşhane Meslek Yüksekokulu, Ormanlık Bölümü, Gümüşhane, Türkiye

Makale Tarihi
Gönderim: 30.08.2022
Kabul: 03.10.2022
Yayın: 15.12.2022

Araştırma Makalesi



Öz – Bu çalışmada, Türkiye’de doğal olarak yetişen *Cyclotrichium origanifolium* (Labill.) Manden. & Scheng. bitkisinin toprak üstü kısımlarından ekstrakte edilen uçucu yağın kimyasal bileşimi ve antimikrobiyal aktivitesi değerlendirilmiştir. Bitkinin uçucu yağı Clevenger tipi su destilasyonu ile alınmış ve GC-MS/FID ile analiz edilmiştir. Uygulanan hidrodestilasyon işlemi sonucunda uçucu yağ verimi %3.63 olarak elde edilmiştir. Uçucu yağdaki 66 bileşiğin yapısı cihazdaki veri tabanları ve literatür bilgileri ile karşılaştırılarak aydınlatılmıştır. Analiz sonucunda 64 bileşiğin yapısı belirlenmiş ancak 2 bileşiğin yapısı belirlenememiştir. *cis*-3-pinanon (isokamfopinon), β -pinen ve okaliptol bileşiklerinin sırasıyla %33.43, %25.27 ve %23.91 oranlarında ana bileşenler oldukları tespit edilmiştir. Analiz edilen uçucu yağda yüzde olarak en yüksek kimyasal bileşik sınıfları %52.84 ile monoterpenler ve %44.11 ile monoterpenoidler olarak bulunmuştur. Uçucu yağda yer alan kimyasal sınıfların bileşik sayısı olarak en fazla bulunan gruplar, 27 adet ile monoterpenoidler ve 16 adet ile monoterpenler olmuştur. Uçucu yağın antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon test yöntemi ile aktifleşen 13 farklı mikroorganizmaya karşı araştırılmıştır. Bitki örneklerinden elde edilen uçucu yağın antimikrobiyal aktivite analizleri sonucuna göre; gram pozitif bakterilerden *Staphylococcus aureus* (6.50±0,01 mm) ve *Listeria monocytogenes* (5.65±0,01 mm)’a karşı, gram negatif bakterilerden ise *Escherichia coli* O157:H7 (4.55±0,01 mm)’a karşı aktivitesi tespit edilirken, test edilen maya-küflerden herhangi birine karşı bir antifungal aktivite göstermedikleri tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler – Antimikrobiyal aktivite, *Cyclotrichium origanifolium*, gc-ms, kimyasal bileşim, uçucu yağ

Chemical Content and Antimicrobial Activity of *Cyclotrichium origanifolium* (Labill.) Manden. & Scheng. Plant Essential Oil Obtained from Adana Region


¹Gümüşhane University, Gümüşhane Vocational School, Department of Forestry, Gümüşhane, Turkey

Article History
Received: 30.08.2022
Accepted: 03.10.2022
Published: 15.12.2022

Research Article

Abstract – The aims of this paper to evaluate the chemical composition and antimicrobial properties of the essential oil obtained from the aerial parts of *Cyclotrichium origanifolium* (Labill.) Manden. & Scheng., which grows naturally in Türkiye. The essential oil of the aerial plant parts was acquired through the hydrodistillation method in a Clevenger type device, and it was examined with GC-MS/FID. As a result of the applied hydrodistillation process, the essential oil yield was obtained as 3.63%. The structure of 66 components that were detected in the essential oil was determined by comparing with the database and literature data in the appliance. As a result of the analysis, the structure of 64 compounds was determined, but the structure of 2 compounds could not be determined. *cis*-3-pinanone (isocamphopinone), β -pinene and eucalyptol compounds were determined the main components respectively at the rates of 33.43%, 25.27% and 23.91%. The highest chemical compound classes in the analyzed essential oil was determined as monoterpenes with 52.84% and as monoterpenoids with 44.11%. The groups with the highest number of compounds in the chemical classes in the essential oil were monoterpenoids with 27 compounds and monoterpenes with 16 compounds. The antimicrobial activity of the essential oil was investigated with the disc diffusion test method against 13 different microorganisms activated. According to the results of the antimicrobial activities analysis of essential oil obtained from plant samples; the highest antibacterial activity was recorded against *Escherichia coli* O157:H7 from gram-negative bacteria with inhibition zone ranging as (4.55±0.01 mm), *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* from gram-positive bacteria with inhibition zone ranging as (6.50±0.01 mm), (5.65±0.01 mm) respectively. In addition, it was determined that they did not show any antifungal activity against any of the yeast-molds tested.

Keywords – Antimicrobial activity, *Cyclotrichium origanifolium*, chemical content, gc-ms, essential oil

¹  mehmetoz@gumushane.edu.tr

*Sorumlu Yazar / Corresponding Author

1. Giriş

Türkiye farklı flora bölgelerinin kesişme noktasında bulunması, farklı iklim ve habitatlara sahip olması ve bulunduğu coğrafi konumu sebebiyle oldukça zengin bir bitki çeşitliliğine sahiptir. Yapılan floristik çalışmalar sonucunda tespit edilen 11.931 doğal ve 4028 endemik bitki taksonu ile dünyanın önemli flora bölgelerinden birisi olduğunu göstermektedir (Bozkurt ve Akkemik, 2018). Orman içi ve açıklıklarda yetişen ağaç, ağaççık, odunsu ve otsu bitki türleri ve bunların yaprak, çiçek, tohum, gövde ve köklerinden elde edilen çeşitli ürünler odun dışı orman ürünleri (ODOÜ) olarak tanımlanmaktadır. Son zamanlarda biyolojik çeşitliliğin korunması, aile ve ulusal ekonomilere katkı yapması gibi unsurlarının etkisiyle, odun dışı orman ürünleri ve tıbbi bitkilere yönelik küresel ilgi arttığı görülmektedir (Deniz, 2013).

Bitkiler geçmişten günümüze besin kaynağı, hayvan yemi, lif boyar madde, süs bitkisi ve tedavi maksatlı birçok şekilde kullanılmaktadır. Bu anlamda bitkiler gıda, tıp, kozmetik ve eczacılık gibi endüstrilerin temel hammadde kaynaklarını oluşturmaktadır. Tıbbi bitkiler yapısında bulunan zengin biyoaktif madde içeriği ile terapik aktivite gösteren insan ve hayvan hastalıklarının tedavi edilmesinde kullanılan bitkiler olarak isimlendirilmektedir. Aromatik bitkiler ise hoş koku ve tada sahip bitkiler olarak tanımlanmaktadır. Tıbbi ve aromatik bitkiler, bünyelerinde barındırdıkları önemli bileşikler sayesinde insanlık tarihi boyunca hastalıkların tedavi edilmesi ve ilaç olarak geleneksel ve modern tıpta kullanılmıştır (Boztaş vd., 2021; Avan, 2021). Aromatik bitkilerin, bitki kısımları değişen oranlarda ve farklı bileşenlere sahip uçucu yağlar içerirler (Katar vd., 2021). Tıbbi ve aromatik bitkilerin farklı kısımlarından su-buhar destilasyonu ya da presleme (mekanik yöntem) vasıtasıyla elde edilen yapısında lipofilik maddeler ve yüksek miktarda uçucu bileşiklerden oluşan kokulu, açık sarı renkli ya da renksiz doğal ürüne esansiyel yada uçucu yağ denir (Kılıç Pekgözlü vd., 2018).

Geleneksel farmakopinin önemli bir bölümünü oluşturan uçucu yağlar, ılıman iklim kuşağında yer alan Akdeniz ülkelerinde ve tropik iklime sahip sıcak ülkelerde yetişmekte olan tıbbi ve aromatik bitkilerden elde edilmektedir (Koçer vd., 2022). Uçucu yağlar kimyasal yapısı itibariyle terpenler, oksijenli terpenler, esterler, fenoller, aldehitler, azot ve kükürt içeren bileşiklerden oluşmaktadır (Karayel, 2019). Aromatik ekstratlar ve uçucu yağlar (esanslar, eterik yağlar); doğala özdeş ve yarı sentetik yararlı aroma kimyasalların üretim başlangıç maddesi ya da aroma kimyasalların kaynağı olarak kullanılmaktadır (Sarıkaya ve Fakir, 2017). Bitkilerden ekstrakte edilen uçucu yağların gıda koruyucu, mikroorganizma öldürücü, zihin açıcı, ferahlatıcı, stres azaltıcı, sakinleştirici, farmakolojik ve tıbbi amaçlı yara iyileştirici, ağrı kesici, etkilerinin olduğu bilinmektedir (Ertaş vd., 2019). Bitkisel kökenli bu kıymetli yağların, spazm giderici, cilt hastalıklarını iyileştirici, sindirim ve solunum sistemlerini düzenleyici gibi tıbbi faydaları da vardır. Bundan dolayı özellikle kozmetik, ilaç ve gıda sektörlerinde artan bir kullanım alanına sahiptir (Öz vd., 2021a). Tıbbi ve aromatik bitkilerden elde edilen uçucu yağların, özellikle antibakteriyel, antifungal ve antioksidan özellikler olarak bilinen biyolojik aktiviteye sahip olduğu eski zamanlardan beri bilinmektedir (Tümen vd., 2019). Bitkilerin kimyasal bileşimi; coğrafi ve toprak koşulları, hasat dönemi, yetişme mevsimi, kurutma yöntemi ve distilasyon tekniğine bağlı olarak değişim gösterebilmektedir (Paşa, 2019).

C. origanifolium (Dağ nanesi) 11-35 cm boylarında, çok dallı ve kuvvetli aromatik kokuya sahip alt kısımları odunsulaşmış gövdeye sahip çok yıllık otsu bir bitkidir. Yapraklar yeşil, grimsi-yeşil renkte (3-)6-18.5x(2-)4-14 mm, oval yuvarlak, nadiren elips biçimindedir. Çiçekler 6x10.5 mm tüylü ve mor renklidir, Temmuz-Eylül ayları arasında açar. Bitki Türkiye'de Adana, Antalya, Denizli, Isparta, İçel, Niğde ve Osmaniye illerinde doğal olarak yetişen bir türdür. Dağ nanesi Orta ve Batı Toroslar'da 1300-2200 m arası rakımlarda taşlı kireçtaşı yamaçlarda, çağlıklarda ve kuru yerlerde yetişmektedir. Bitkinin yerel isimleri naneruhu, köpeknanesi, karabaşotu, kızotu ve eşekkirıldır. *C. origanifolium* bitkisi Dünya'da Türkiye dışında Lübnan'da da yayılış göstermektedir. (Kaya vd., 2000; URL-1 2022). Şekil 1.'de *C. origanifolium* bitkisi görülmektedir. Arazi çalışmaları sırasında Adana, Pozantı yöresinde yerel isim olarak kokulu çay denildiği ve bitkinin toprak üstü kısımlarının çayı yapılarak kullanıldığı ifade edilmiştir.



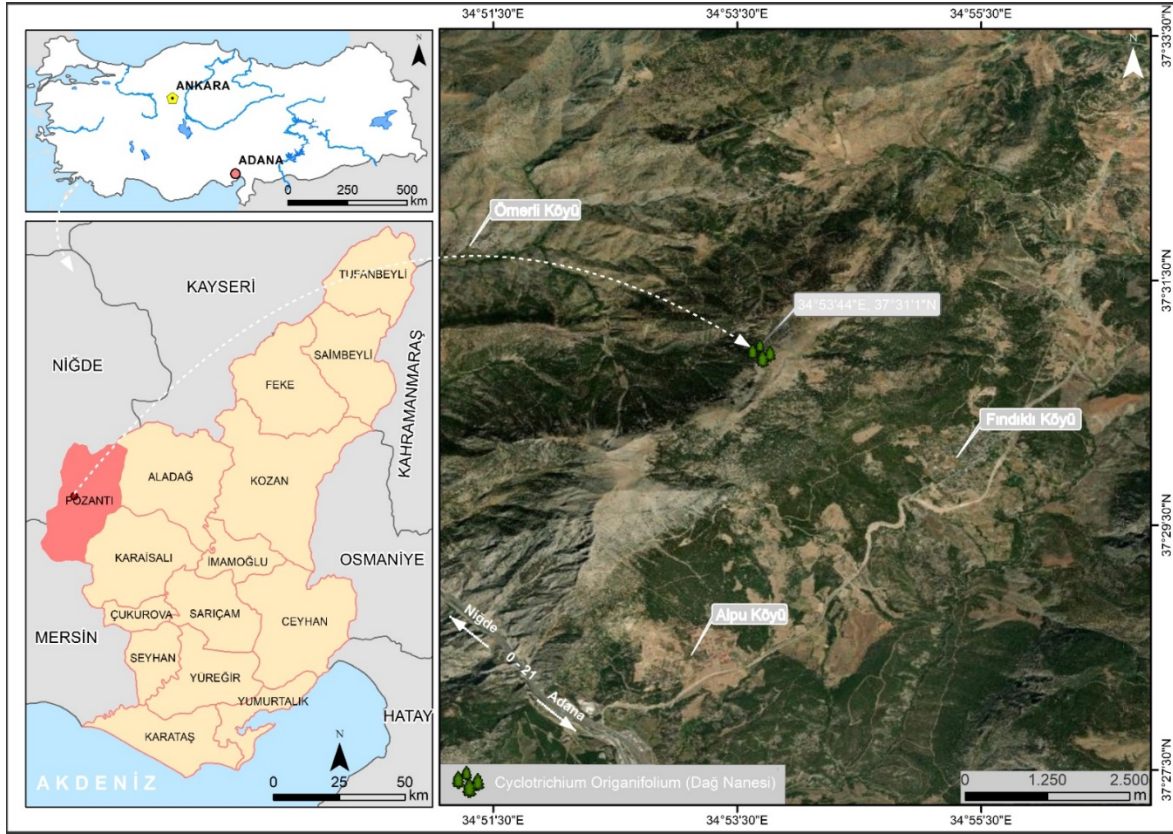
Şekil 1. *Cyclotrichium origanifolium*: Dağ Nanesi (Foto: Mehmet ÖZ, 18.08.2021)

Bu çalışmada, *C. origanifolium* (Dağ nanesi) bitkisinin tamamı (toprak üstü kısımları) kullanılarak elde edilen uçucu yağın kimyasal kompozisyonu ve antimikrobiyal özellikleri belirlenerek bitkinin tıbbi öneminin açığa çıkarılmasına katkıda bulunulması amaçlanmıştır. Adana yöresinden elde edilen Dağ nanesi bitkisi uçucu yağ bileşenlerinin kimyasal sınıflandırılması ve antimikrobiyal aktivitesi ilk kez bu çalışma kapsamında incelenmiştir.

2. Materyal ve Yöntem

2.1.1. Bitki Materyali

Bu çalışmada materyal olarak *C. origanifolium* bitkisi kullanıldı. Numune Türkiye'nin Adana İli, Pozantı İlçe sınırları içinde bulunan, Ömerli Köyü'nde toplandı (34°53'44"E, 37°31'01"N yükselti: 1750m). Analizler için Dağ nanesi bitkisinin gölgede kurutulmuş gövde, yaprak ve çiçekleri bulunan toprak üstü kısımları kullanıldı. Bitki teşhisi Doç. Dr. Mutlu Gültepe (Giresun Üniversitesi, Dereli Meslek Yüksek Okulu, Ormancılık Bölümü) tarafından yapılarak Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Herbaryumuna (KTUB Gültepe 660) kaydedildi. Örneklerin alındığı lokasyon Şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2. Bitkisel materyalin toplandığı lokasyon

2.1.2. Yöntem

2.1.3. Örneklerden Uçucu Yağın Elde Edilmesi

Uçucu yağın elde edilmesi hidrodestilasyon işlemi ile yapılmıştır. 70 g kuru bitki kısımları öğütülerek 2000 mL hacmindeki şilifli balonlara yerleştirildi. Numuneler üzerine 1000 mL saf su ilave edilerek 4 saat süre ile +4 °C soğutucu ile modifiye edilmiş Clevenger aparatı ile uçucu yağlar elde edilmiştir (Küçük vd., 2006). Elde edilen uçucu yağlar içerisinde sodyumsülfat bulunan filtrelerden geçirilerek içindeki su uzaklaştırıldı. Uçucu yağlar analizler bitene kadar -18°C'de kadar kapalı koyu renkli şişede muhafaza edilmiştir.

2.1.4. Uçucu Yağ Bileşenlerinin GC-MS/FID İle Analizi

Uçucu yağın bileşen analizleri Gaz Kromatografisi Kütle Dedektörü-Alev İyonizasyon Detektörü (GC-MS/FID) (GC Agilent-7890, MS Agilent 5975 model) cihazında yapılmıştır. Elde edilen uçucu yağdan 100 µL alınarak, 1.5 mL GC saflıktaki hegzanda çözüldü, 0.45 mikron filtreden geçirilerek 1 µL GC-MS/FID cihazına enjekte edildi. HP-5 model apolar kapılar kolon analiz için (30 m x 0.32 mm, film kalınlığı 0.25 µm) kullanıldı. Taşıyıcı gaz olarak 1 mL/min akış hızıyla helyum kullanılarak enjeksiyonlar 230 °C'de ve 1:10 split modunda uygulandı. Başlangıçta 60 °C'de 2 dakika tutularak sonrasında 3 °C/min artışla 240 °C'ye çıkarılarak kromatogram ve kütle spektrumları alındı. Uçucu yağların kütle spektrumlarının analizi MS dedektöründe, miktar analizi ise FID dedektöründe yapıldı. Tespit edilen bileşiklerin yapısı, alikonma değerleri (RI) deneysel olarak hesaplandıktan sonra NIST, WILEY gibi kütüphanelerle ve literatür verileriyle karşılaştırılması sonucu aydınlatılmıştır (Adams, 2007).

2.1.5. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Ekstrakte edilen uçucu yağın antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek için disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır (Karataş vd., 2022). Antimikrobiyal aktivite tayini (antibakteriyel ve antifungal), numunelerin hazırlanması ile bakteri ve mayaların hazırlanması olmak üzere iki aşamada yapılmıştır.

Antibakteriyel aktivite analizi için aktifleşme gerçekleştiren *Escherichia coli* O157:H7 35150, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus cereus* ATCC 9634, *Aeromonas hydrophila* ATCC 35654, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella typhimurium* ATCC 23566, *Shigella flexneri* ATCC 12022 olmak üzere 10 bakteri kullanılmıştır. Antifungal aktivite analizi aktifleşme sağlayan *Aspergillus flavus* ATCC 46283, *Saccharomyces cerevisiae* S288C ve *Candida albicans* ATCC 10231 olmak üzere 3 adet maya-küf ile gerçekleştirildi.

Bakteriler Nutrient Broth besiyerinde birinci aktifleştirmenin (36 °C’de 24 saat) akabinde ikinci aktifleştirme (36 °C’de 18 saat) sonrasında analiz yapılmıştır. İkinci aktifleştirmenin ardından hazırlanan steril Nutrient Agar besiyerlerinin üzerlerine swap metodu ile sürülerek analize hazır hale getirilmiştir. Maya ve küfler ise Malt Özüt Broth besiyerinde birinci aktifleştirmenin (27 °C’de 48 saat) ardından ikinci aktifleştirmeden (27 °C’de 24 saat) sonra analiz edilmiştir. Maya ve küfler iki kez aktifleştirildikten sonra Malt Özüt Agar üzerine, bakteriler de olduğu gibi swap metodu ile sürme yapılmıştır. Su destilasyonu ile elde edilen uçucu yağ steril haldeki antimikrobiyal disklerle 20 µL emdirilerek hazırlanan petrilere üzerine konulmuştur. İnkübasyon bakterileri için 36 °C’de 24 saat, maya ve küf içeren petrilere için ise 27 °C’de 48 saat sürmüştür. Sonuçlar, disklerin etrafında meydana gelen şeffaf zonlar belirlenen süre sonunda hassas kumpas ile ölçülerek (mm cinsinden) belirlenmiştir.

3. Bulgular ve Tartışma

3.1.1. Uçucu Yağ Oranı (%)

70 g kurutulmuş bitki örneklerine uygulanan hidrodestilasyon işlemi sonucunda %3.63 verimle 2.54 g uçucu yağ elde edilmiştir.

C. origanifolium ile yapılan farklı çalışmalarda uçucu yağ verimlerinin; dört farklı bölgeden (Muğla-Fethiye, Isparta-Sütçüler, Isparta-Senirken ve Antalya-Alanya) alınan toprak üstü kısımlarının analizinde verimin %0.35-1.41 arasında olduğunu (Başer vd., 1996), Osmaniye-Düziçi’nden toplanan bitki ile yapılan farklı bir çalışmada verimin %2.17 bulunduğunu (Tepe vd., 2005), Niğde-Ulukışladan toplanan örneklerde ise verimin %1.70 belirlendiğini (Göktürk vd., 2013), başka bir çalışmada ise Kahramanmaraş-Göksun’dan toplanan toprak üstü kısımlarında verimin %0.95 olduğunu (Karabörklü vd., 2019) bildirmişlerdir. Çalışmamızda elde edilen uçucu yağ veriminin diğer çalışmalardan daha yüksek olduğu görülmektedir. Bunun sebebi olarak uçucu yağ veriminin değişken olduğu, bitki biyokütlesine bağlı olmakla beraber, yağ yüzdesinin kısmen bitki gücü ve metabolik aktivitelerinden etkilenebileceği ifade edilebilir (Başer ve Buchbauer, 2015).

3.1.2. Uçucu Yağ Bileşenlerinin GC-MS/FID İle Analiz Sonuçları

Dağ nanesi bitkisinden elde edilen uçucu yağın GC-MS/FID analiz sonuçları Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1

Dağ nanesi (*C. origanifolium*) bitkisinden elde edilen uçucu yağın GC-MS/FID analiz sonuçları

Sıra No	Alıkonma Zamanı	% Alan	Bileşik Adı	Bileşik Sınıfı	Alıkonma İndeksi	Literatür Alıkonma İndeksi
1	5.00	0.01	Heptan	Hidrokarbon	700	700
2	5.49	0.03	Metilsiklohegzan	Hidrokarbon	720	720
3	7.41	0.02	Hegzanal	Aldehid	801	801
4	9.28	0.01	(E)-2-Hegzenal	Aldehid	850	850
5	11.02	0.04	2,5-Dietiltetrahidro-furan	Diğer	896	896
6	12.14	0.01	Siklofensen	Monoterpen	921	927
7	12.38	0.41	α-Thujen	Monoterpen	926	926
8	12.74	2.28	α-Pinen	Monoterpen	934	934

Tablo 1
Devam Ediyor

9	13.37	0.24	Kamfen	Monoterpen	948	948
10	13.62	0.02	Verbenen	Monoterpen	953	953
11	13.70	0.01	Dehidrosabinen	Monoterpen	955	955
12	15.13	25.27	β-Pinen	Monoterpen	986	986
13	15.40	0.07	β -Mirsen	Monoterpen	992	992
14	15.99	0.06	α -Fellandren	Monoterpen	1005	1005
15	16.33	0.01	β -Fellandren	Monoterpen	1012	1012
16	16.69	0.12	α -Terpinen	Monoterpen	1019	1019
17	17.00	0.01	<i>o</i> -Simen	Monoterpen	1025	1025
18	17.06	0.01	<i>p</i> -Simen	Monoterpen	1027	1027
19	17.79	23.91	Okaliptol	Monoterpen	1042	1042
20	18.01	0.02	Benzenasetaldehid	Aldehid	1046	1046
21	18.70	0.30	γ -Terpinen	Monoterpen	1060	1060
22	19.11	0.12	<i>trans</i> -Sabinen hidrat	Monoterpenoid	1069	1069
23	20.11	0.11	α -Terpinolen	Monoterpen	1089	1089
24	21.05	0.04	<i>p</i> -Ment-2-en-1-ol	Monoterpenoid	1109	1109
25	21.28	0.05	Linalool	Monoterpenoid	1113	1113
26	21.54	0.02	β -Thujon	Monoterpenoid	1119	1119
27	21.89	0.10	3-Oktanöl asetat	Ester	1126	1126
28	23.43	0.04	<i>trans</i> -Pinokarveol	Monoterpenoid	1158	1157
29	24.59	33.43	<i>cis</i>-3-Pinanon (Isokamfopinin)	Monoterpenoid	1182	1182
30	24.85	2.03	Terpinen-4-ol	Monoterpenoid	1187	1182
31	25.02	0.01	<i>p</i> -Simen-8-ol	Monoterpenoid	1191	1190
32	25.30	0.27	α -Terpineol	Monoterpenoid	1197	1197
33	25.44	0.01	Metil salisilat	Ester	1199	1199
34	25.55	0.25	Mirtenol	Monoterpenoid	1202	1202
35	26.30	0.01	2-Oksosineol	Monoterpenoid	1218	1217
36	26.50	0.03	<i>trans</i> -Karveol	Monoterpenoid	1222	1222
37	26.65	0.02	<i>cis</i> -Karveol	Monoterpenoid	1226	1226
38	27.63	0.01	Karvon	Monoterpenoid	1247	1247
39	28.01	0.04	Fellandral	Monoterpenoid	1255	1255
40	29.03	0.02	<i>p</i> -Menta-1,8-dien-7-al	Monoterpenoid	1277	1277
41	29.53	0.11	Bornil asetat	Monoterpenoid	1288	1288
42	29.83	0.15	Sabinil asetat	Monoterpenoid	1295	1295
43	30.19	0.36	Timol	Monoterpenoid	1303	1305
44	30.60	0.03	Karvakrol	Monoterpenoid	1312	1312
45	31.04	0.02	2-Metoksi-4-vinilfenol	Diğer	1322	1322
46	31.62	6.36	Mirtenil asetat	Monoterpenoid	1335	1335
47	32.07	0.12	ekso-2-Hidroksisineol asetat	Monoterpenoid	1345	1345
48	32.41	1.80	Bulunamadı		1353	MS
49	32.49	0.02	Sitronellol asetat	Monoterpenoid	1355	1355
50	32.80	0.02	Öjanol	Terpen benzeri	1362	1362
51	32.99	0.45	<i>cis</i> -Karvil asetat	Monoterpenoid	1367	1367
52	33.52	0.09	+3-Karen-2-asetil metil	Monoterpenoid	1378	1380
53	34.02	0.05	β -Borbonen	Seskiterpen	1390	1390
54	34.27	0.02	β -Elemen	Seskiterpen	1396	1396

Tablo 1
Devam Ediyor

55	34.64	0.34	Bulunamadı		1404	MS
56	35.51	0.18	Karyofilen	Seskiterpen	1425	1425
57	36.02	0.02	Perilla asetat	Monoterpenoid	1437	1436
58	36.69	0.01	<i>trans</i> -Geranilaseton	Monoterpenoid	1454	1454
59	36.91	0.01	Humulen	Seskiterpen	1459	1459
60	38.05	0.12	Germakren D	Seskiterpen	1486	1486
61	38.69	0.12	Bisiklogermakren	Seskiterpen	1502	1502
62	39.70	0.01	γ -Kadinen	Seskiterpen	1527	1527
63	41.93	0.06	Spatulenol	Seskiterpenoid	1584	1583
64	42.16	0.04	Karyofilen oksit	Seskiterpenoid	1590	1590
65	48.78	0.01	Benzil benzoat	Ester	1770	1770
66	53.92	0.01	Farnesil aseton	Seskiterpenoid	1920	1921
Toplam		100.00				

Alıkonma indeksi için (C₆-C₃₂) karbon sayılı hidrokarbonlar standart olarak alındı,

GC-MS şartları: Apolar HP-5 kolon, 30. m/0.32 mm/0.25 μ m, He, 3. K/min; Tbaşlama: 60. °C; Tbitiş: 230. °C

Uçucu yağın GC-MS/FID yöntemleri ile analizi sonucunda, *C. origanifolium* bitkisinin toprak üstü kısımlarında toplam 64 bileşiğin yapısı belirlenmiş ancak 2 bileşiğin yapısı tanımlanamamıştır. Tanımlanan bileşenler uçucu yağın %97.86'sini oluşturmaktadır. Bitkiden izole edilen uçucu yağdaki yüzde oran olarak en yüksek bileşiklerin *cis*-3-pinanon (%33.43), β -pinen (%25.27) ve okaliptol (%23.91) olduğu tespit edilmiştir. Dağ nanesi uçucu yağında en fazla bulunan ana bileşiğin *cis*-3-pinanon (isokamfopinin; isopinokamfon; 2,6,6-trimetilbisiklo[3.1.1]heptan-3-on, (1 α ,2 β ,5 α)-) olduğu görülmektedir (Tablo 1).

Başer vd., (1996) dört farklı bölgeden topladıkları örneklerle yaptıkları araştırmalarında izole edilen uçucu yağlardaki yüzde oran olarak en fazla bulunan bileşiklerin *cis*-isopulegon (%3.52-52.17), pulegon (%6.85-37.15), isomenton (%1.98-30.67), isokamfopinin (%0.02-26.93) ve isomentol (%0.28-11.22) olduğu ifade etmişlerdir (Başer vd., 1996). Tepe vd., (2005) yaptıkları çalışmalarında tespit edilen bileşenlerin uçucu yağın %99.6'sını oluşturduğunu, ayrıca izole edilen uçucu yağlardaki yüzde oran olarak en fazla bulunan bileşiklerin pulegon (%49.8), menton (%32.5) ve limonen (%6.0) olduğunu bildirmişlerdir (Tepe vd., 2017).

C. origanifolium ile yapılan diğer bir araştırmada uçucu yağın ana bileşenlerinin bisiklo [3.1.1]heptan-3-on,2,6,6-trimetil-,(1 α ,2 β ,5 α) (%21.28), pulegon (%16.15) ve 2-sikloheksen-1-ol,1-metil-4-(1-metiletil)-,*cis* (%15.42) olduğu ifade edilmiştir (Göktürk vd., 2013). Bir başka çalışmada analiz edilen uçucu yağda toplam alanın %99.02'sini oluşturduğu ve izole edilen uçucu yağlardaki yüzde oran olarak en fazla bulunan bileşiklerin pulegon (%74.60), menton (%16.61), limonen (%1.12) ve isopulegon (%1.09) olduğu bildirmişlerdir (Karabörklü vd., 2019).

Literatürdeki diğer çalışmalara bakıldığında Başer vd., (1996)'da isokamfopinin oranlarını %0.02-26.93 arasında, Göktürk vd., (2013)'de bisiklo [3.1.1]heptan-3-on,2,6,6-trimetil-,(1 α ,2 β ,5 α) oranını (%21.28) olarak ifade etmişlerdir. *cis*-3-pinanon oranı diğer çalışmalarda elde edilen oranlara yakın olmakla birlikte bir miktar yüksek çıktığı görülmektedir.

Literatürde farklı bölgelerden ve farklı yıllarda toplanan örnekler arasında uçucu yağ çalışmaları incelendiğinde tespit edilen bileşenler ve miktarları bakımından bazı farklılıkların olduğu görülmektedir. Çalışmalarda uçucu yağların kompozisyonunda ortaya çıkan bazı farklılıkların sebebi olarak kullanılan bitki kısmı, toplama zamanı, analiz parametreleri, doğal varyasyon, iklim, büyüme yeri, depolama, kurutma şekli, gibi birçok faktör sayılabilmektedir. Değişikliğe sebep olabilen bu etkenlerin bazıları yıldan yıla bile farklılık gösterebilmektedir (Başer ve Buchbauer, 2015; Öz vd., 2021b).

Höld vd., (2002) *cis*-3-pinanon'un *trans*-3-pinanon ile birlikte fare ve insan karaciğer mikrozoamlarının incelenmesinde kullanıldığını ifade etmişlerdir (Höld vd., 2002). β -pinen gıda, parfümeri, kozmetik endüstrilerinde ve ilaç sanayisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Kılıç Pekgözlü ve Ceylan, 2021). Okaliptol soğuk algınlığı ve gripden oluşan nezle ve burun tıkanıklığı durumlarında üst solunum yollarının rahatlatılmasına yardımcı olur (Onbaşı vd., 2019).

C. origanifolium uçucu yağında tespit edilen bileşiklerin kimyasal sınıflandırılması Tablo 2.'de gösterilmiştir.

Tablo 2.

C. origanifolium uçucu yağında tespit edilen bileşiklerin kimyasal sınıflandırılması

Bileşik Sınıfı	Bileşik Sayısı	% Oranı	Ana Bileşen
Aldehitler	3	0.05	Hegzanal
Esterler	3	0.12	3-Oktanöl asetat
Hidrokarbonlar	2	0.04	Metilsiklohegzan
Monoterpenler	16	52.84	β -Pinen
Monoterpenoidler	27	44.11	<i>cis</i> -3-Pinanon
Seskiterpenler	7	0.51	Karyofilen
Seskiterpenoidler	3	0.11	Spatulenol
Terpen Benzeri	1	0.02	Öjanol
Diğerleri	2	0.06	2,5-Dietiltetrahidro-furan
Bilinmeyenler	2	2.14	
Toplam	66	100	

Yapılan analiz sonuçlarına göre uçucu yağda tespit edilen 66 adet bileşiğin kimyasal sınıflandırılması 10 grup olarak tespit edilmiştir. Bu sınıflarda belirlenenler ve içerdikleri bileşik sayısı çoktan aza doğru sırasıyla monoterpenoidler 27 adet, monoterpenler 16 adet, seskiterpenler 7 adet, seskiterpenoidler 3 adet, esterler 3 adet, aldehitler 3 adet, hidrokarbonlar 2 adet, diğer bileşikler 2 adet, bilinmeyen bileşikler 2 adet ve terpen benzeri bileşik ise 1 adet olarak tespit edilmiştir.

Analiz sonucunda bileşiklerin kimyasal sınıfların yüzdesel olarak yüksekten düşüğe doğru sırasıyla, monoterpenler %52.84, monoterpenoidler %44.11, bilinmeyen bileşikler %2.14, seskiterpenler %0.51, esterler %0.12, seskiterpenoidler %0.11, diğer bileşikler %0.06, aldehitler %0.05, hidrokarbonlar %0.04 ve terpen benzeri bileşik %0.02 olduğu görülmüştür. Yüzdesel oranları en fazla belirlenen kimyasal sınıfın %52.84 ile monoterpenler olduğu belirlenmiştir. Literatür araştırmasında *C. origanifolium* uçucu yağından elde edilen bileşiklerin kimyasal sınıflandırılması ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

3.1.3. Antimikrobiyal Aktivite Tayini Sonuçları

Yapılan antimikrobiyal aktivite (antibakteriyel ve antifungal) analizi sonunda dağ nanesi uçucu yağ ekstraktlarının aktifleşen test mikroorganizmalara karşı inhibisyon seviyeleri Tablo 3.'de verilmiştir. Çalışma kapsamında elde edilen uçucu yağın antimikrobiyal aktiviteleri analiz edilmiş ve kullanılan mikroorganizmalara karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktivite seviyeleri belirlenmiştir.

Tablo 3.

C. origanifolium uçucu yağının antimikrobiyal aktivitesi (mm)

Dağ nanesi uçucu yağ inhibisyon bölgelerinin çapı (mm)

Bakteri türleri

<i>Staphylococcus aureus</i> * ATCC 25923	6.50±0.01
<i>Listeria monocytogenes</i> * ATCC 7644	5.65±0.01
<i>Bacillus cereus</i> * ATCC 9634	-

Tablo 3.

Devam Ediyor

<i>Bacillus subtilis</i> * ATCC 6633	-
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 35150	4.55±0.01
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-
<i>Aeromonas hydrophila</i> ATCC 35654	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	-
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 23566	-
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	-
Maya ve Küfler	
<i>Aspergillus flavus</i> ATCC 46283	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S288C	-

* Çalışmada kullanılan gram pozitif bakterileri belirtmektedir

Kullanılan uçucu yağın gram pozitif bakterilerden *Staphylococcus aureus* (6.50±0.01 mm) ve *Listeria monocytogenes* (5.65±0.01 mm)'e karşı, gram negatif bakterilerden ise sadece *Escherichia coli* O157:H7 (4.55±0.01 mm)'ye karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Uçucu yağın analizi yapılan maya-küflerden herhangi birine karşı antifungal aktivitesinin bulunmadığı tespit edilmiştir.

Tepe vd., (2005) *C. origanifolium* uçucu yağının disk difüzyon metodu ile yaptıkları antimikrobiyal analiz sonucunda *Acinetobacter lwoffii*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* ve *Candida krusei* mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etki tespit etmişlerdir. (Tepe vd., 2005).

Göktürk vd., (2013) *C. origanifolium*'dan elde edilen uçucu yağın agar difüzyon metoduna göre yapılan antimikrobiyal analiz çalışmasında, test edilen gram pozitif bakterilerden *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus subtilis* var. *niger* ve *Bacillus brevis*'e karşı, gram negatif bakterilerden *Aeromonas hydrophila*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii* ve *Proteus mirabilis*'e karşı antibakteriyel aktivite gösterdiğini, ayrıca test edilen maya ve küflerden ise *Saccharomyces cerevisiae*'e karşı antifungal aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir (Göktürk vd., 2013).

4. Sonuçlar

Çalışma kapsamında *C. origanifolium* (Dağ nanesi) bitkisinden ekstrakte edilen uçucu yağın kompozisyonu ve antimikrobiyal özellikleri incelendi. Analizi yapılan numunelerin uçucu yağ verimi %3.63 olarak belirlendi. Elde edilen uçucu yağda 66 adet monoterpen, monoterpenoid, seskiterpen, seskiterpenoid, hidrokarbon, ester, aldehit ve terpen benzeri gruplarına ait uçucu bileşenler bulundu. Uçucu yağ içeriğinin yaklaşık %82.61'ini *cis*-3-pinanon, β -pinen ve okaliptol bileşikleridir. Mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonlara karşı, bitkisel kökenli uçucu yağların güçlü antimikrobiyal özelliğe sahip olması, doğal antibiyotik olarak kullanılmasını sağlamaktadır. Dağ nanesi örneklerinden elde edilen uçucu yağlar en yoğun antimikrobiyal duyarlılığı *S. aureus*, *L. monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7'a karşı sergilemiştir. Dağ nanesi bitki örnekleri ile yapılan uçucu yağ analizleri ve antimikrobiyal verileri gelecekte yeni çalışmalara katkıda bulunacağı düşünülmektedir.

Yazar Katkıları

Yazar Mehmet Öz: Fikir/kavram, veri toplama, literatür taraması, analiz ve yorum süreçlerini gerçekleştirmiştir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Teşekkür

Bitkinin taksonomik teşhisi için Doç. Dr. Mutlu GÜLTEPE'ye ve antimikrobiyal aktivite testleri için Dr. Şeyda Merve KARATAŞ'a teşekkür ederim.

Kaynaklar

- Adams, R. P. (2007). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 4th ed. Allured publishing, Carol stream, IL, USA.
- Avan, M. (2021). Türkiye'de ve Dünya'da görülen önemli tıbbi ve aromatik bitkiler, özellikleri ve hastalıkları üzerine araştırmalar. *Uluslararası Doğu Anadolu Fen Mühendislik ve Tasarım Dergisi* 3(1), 129-156. <https://doi.org/10.47898/ijeased.864877>
- Başer, K. H. C., Kirimer, N., Kurkcuoglu, M., Özek, T. ve Tümen, G. (1996). Essential oil of *Cyclotrichium organifolium* (Labill.) Manden. et Scheng. from Turkey. *Journal of Essential Oil Research* 8, 569–570. <https://doi.org/10.1080/10412905.1996.9700692>
- Başer, K. H. C. ve Buchbauer, G. (2015). *Handbook of essential oils: Science, technology, and applications*. Second edition, CRC Press, New York, USA, pp. 70-537.
- Boztaş, G., Avcı, A. B., Arabacı, O. ve Bayram, E. (2021). Tıbbi ve aromatik bitkilerin dünyadaki ve Türkiye'deki ekonomik durumu. *Teorik ve Uygulamalı Ormanlık* 1, 27-33. <https://doi.org/10.53463/tafor.2021vol1iss1pp27-33>
- Bozkurt, S. ve Akkemik, Ü. (2018). Flora of Gürün district (Sivas) and its immediate surroundings. *Eurasian Journal of Forest Science* 6(3), 35-68. <https://doi.org/10.31195/ejefjs.434860>
- Deniz, İ. (2013). *Odun dışı orman ürünleri endüstrisi*, Ders notu, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Orman Fakültesi, Orman Endüstri Mühendisliği Bölümü, 203 sy.
- Ertaş, M., Fidan, M. S., Kaya, S. ve Angın, N. (2019). Kara Ardıç (*Juniperus sabina* L.) kozalaklarından elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşimi üzerine mikrodalga ve hidrodestilasyon yöntemlerinin etkisi. *Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi* 20(2), 272-277. <https://doi.org/10.17474/artvinofd.492069>
- Göktürk, R. S., Sağıdic, O., Özkan, G., Ünal, O., Aksoy, A., Albayrak, S., Arıcı, M. ve Durak, M. Z. (2013). Essential oil compositions and bioactivities of *Thymus revolutus* and *Cyclotrichium organifolium*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 16(6), 795-805. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2013.813208>
- Höld, K. M., Sirisoma, N. S., Sparks S. E ve Casida, J. E. (2002) Metabolism and mode of action of *cis*- and *trans*-3-pinanones (the active ingredients of hyssop oil). *Xenobiotica*, 32(4), 251-265. <https://doi.org/10.1080/00498250110095745>
- Karabörklü, S., Azizoglu, U., Yilmaz, S., Ayvaz, A. ve Akdeniz, M. (2019). The chemical composition of *Cyclotrichium organifolium* essential oil and its insecticidal activity against four stored-product insect pests. *Comptes Rendus de L Academie Bulgare Des Sciences* 72(6), 841-850. <https://doi.org/10.7546/CRABS.2019.06.18>
- Karataş, Ş. M., Öz, M., Fidan, M. S., Baltacı, C. ve Üçüncü, O. (2022). Gümüşhane yöresinde yetişen *Ribes petraeum* Wulfen (Frenk Üzümü) bitkisinden uçucu yağının elde edilmesi, kimyasal içerik ve biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi* 12(2), 498-511. <https://doi.org/10.17714/gumusfenbil.997171>
- Karayel, H. B. (2019). Kütahya (Gediz) yöresinde yetiştirilen tıbbi adaçayı (*Salvia officinalis* L.) türünün tohum ve yaprağında uçucu yağ bileşenlerin değerlendirilmesi. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi* 22(Ek Sayı 1), 1-5. <https://orcid.org/0000-0002-4271-0540>
- Katar, N., Katar, D. ve Can, M. (2021). Eskişehir ekolojik koşullarında rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.) bitkisinin morfolojik varyabilitesinin belirlenmesi. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi* 24 (5), 1021-1028. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.773567>
- Kaya, A., Başer, K. H., Satıl, F. ve Tümen, G. (2000). Morphological and anatomical studies on *Cyclotrichium organifolium* (Labill.) Manden. & Scheng.(Labiatae). *Turkish Journal of*

- Botany* 24(5), 273-278. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/tbtkbotany/issue/11849/141496>
- Kılıç-Pekgözlü, A., Ceylan, E. ve Çakal, Ö. (2018). Hangisi gerçek defne yaprağı uçucu yağı?. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 20 (3), 477-485. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/barofd/issue/38873/435287>
- Kılıç Pekgözlü, A. ve Ceylan, E. (2021). Sıcaklığın terebentin kompozisyonu üzerine etkisi. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 23(3), 878-884. <https://doi.org/10.24011/barofd.994641>
- Küçük, M., Gülec, C., Yasar, A., Üçüncü, O., Yaylı, N., Coskuncebi, K., Terzioglu, S. ve Yaylı, N. (2006). Chemical composition and antimicrobial activities of the essential oils of *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys*, *T. orientale* var. *puberulens*, and *T. chamaedrys* subsp. *lydium*. *Pharmaceutical Biology* 44(8), 592-599. <https://doi.org/10.1080/13880200600896868>
- Onbaşı, D., Yuvalı Çelik, G., Ceylan, A. ve Dal, A. (2019). Türkiye’de eczanelerde bulunan bitkisel ilaçlar. *ERÜ Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi*, 6(1), 18-31. <https://dergipark.org.tr/en/pub/erusaglik/issue/47133/593145>
- Öz, M., Deniz, İ., Okan, O. T., Baltacı, C. ve Karatas, S.M. (2021a). Determination of the chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of different parts of *Rosa canina* L. and *Rosa pimpinellifolia* L. essential oils, *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 24(3), 519-537. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2021.1936204>
- Öz, M., Fidan, M. S., Baltacı, C., Üçüncü, O. ve Karatas, S. M. (2021b). Determination of antimicrobial and antioxidant activities and chemical components of volatile oils of *Atropa belladonna* L. growing in Turkey, *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 24(5), 1072-1086. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2021.1987334>
- Paşa, C. (2019). Türkiye’de doğal olarak yetişen *Thymus zygoides* (Lamiaceae)’in uçucu yağı ve bileşenlerinin diurnal varyasyonu. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi* 22(Ek Sayı 1), 6-9. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.556254>
- Sarıkaya, A. G. ve Fakir, H. (2017). Göynük Yöresinde (Antalya) Yetişen *Phlomis leucophracta* P. H. Davis & Hub.-Mor. ve *Phlomis lycia* D. Don türlerinin yaprak ve çiçeklerine ait uçucu bileşenler. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi* 19(2), 69-73. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/barofd/issue/30631/337404>
- Tepe, B., Sokmen, M., Sokmen, A., Daferera, D. ve Polissiou, M. (2005). Antimicrobial and antioxidative activity of the essential oil and various extracts of *Cyclotrichium organifolium* (Labill.) Manden. & Scheng. *Journal of Food Engineering* 69(3), 335-342. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.08.024>
- Tümen, İ., Hafizoglu, H., Kilic, A., Dönmez, İ.E., Sivrikaya, H. ve Reunanen, M. (2010). Yields and constituents of essential oil from cones of Pinaceae spp. natively grown in Turkey. *Molecules* 15(8), 5797-5806. <https://doi.org/10.3390/molecules15085797>
- URL-1 (2022). Türkiye bitkileri veri servisi (Tübives). [http://www.tubives.com/Cyclotrichium organifolium](http://www.tubives.com/Cyclotrichium_organifolium) (Labill.) Manden. Et Scheng. (Erişim Tarihi: 10.05.2022).