

***Gladiolus italicus* Miller Bitkisinin Uçucu Yağının Kimyasal Bileşimi ve Biyoaktif Özellikleri**

Osman ÜÇÜNCÜ*, Cemalettin BALTACI, Şeyda Merve İLTER

Gümüşhane Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, 29100, Gümüşhane

Geliş tarihi/Received 16.06.2016

Düzeltilerek geliş tarihi/Received in revised form 15.07.2016

Kabul tarihi/Accepted 18.07.2016

Öz

Gladiolus italicus Miller (Iridaceae) bitkisinin uçucu yağı GC-FID/MS teknikleriyle analiz edilmiştir. *G. italicus* uçucu yağında %88.75'lik kısmı oluşturan toplam 34 bileşiğin yapısı aydınlatılmıştır. Palmitik asit (%35.84) ve etil linoleat (%11.62) *G. italicus*'un uçucu yağının ana bileşenleridir. Bitkiden elde edilen uçucu yağın antimikrobiyal aktivitesi on iki adet gram negatif ve gram pozitif patojen bakteri ve beş mantara karşı araştırılmıştır. Uçucu yağın orta derecede antibakteriyal aktivite gösterdiği belirlenirken, antifungal aktiviteye sahip olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca *G. italicus*'un toplam fenolik miktarı 437.3 GGA/L olarak belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Biyoaktivite, GC-MS/FID, *Gladiolus italicus* Miller, Uçucu Yağ

Chemical Composition and Bioactive Properties of the Volatile Oil of *Gladiolus italicus* Miller

Abstract

The essential oil of *Gladiolus italicus* Miller (Iridaceae) was investigated by means of GC-FID/MS techniques. A total of 34 compounds were identified, constituting over 88.75 % of the oil composition of *G. italicus*. Palmitic acid (35.84 %) and ethyl linoleate (11.62 %) were the major compounds in the volatile of *G. italicus*. The antimicrobial activity of the isolated essential oil of the plant was also investigated against to twelve G+ and G- bacterian and five fungus. It was determined that essential oil showed moderate antibacterial activity and no antifungal activity. And also, the amount of total phenolic quantified in *G. italicus* essential oil was found 437.3 GGA/L.

Keywords: Bioactivity, GC-FID/MS, *Gladiolus italicus* Miller, Essential oil

1. Giriş

Çok yıllık soğanlı bir bitki olan ve Iridaceae ailesinin en geniş sınıflarından olan *Gladiolus* L. (Iridaceae)'nin 260'tan fazla türü bulunmaktadır (Goldblatt, 1996). *Gladiolus* türleri daha çok Sahraaltı Afrika bölgesinde bulunur ve burada 160 endemik türün bulunduğu bildirilmiştir (Manning ve

Goldblatt, 2008). Türkiye'de 11 türü bulunan *Gladiolus*'un 9 türü Tan ve Edmonson (1984) tarafından tanımlanmıştır ve bunlardan 4 tanesi endemik olarak bulunmaktadır. *Gladiolus italicus* daha çok yol kenarlarında ve taşlık alanlarda 1900 metre yüksekliğe kadar yetişmektedir. *Gladiolus* soğanları Afrika'nın bazı ülkelerinde halk arasında dizanteri ve belsoğukluğu tedavisinde

* Osman ÜÇÜNCÜ, osmanucuncu@yahoo.com, Tel: (456) 233 10 00-1861

kullanılmaktadır (Ngedia vd., 2004). Türkiye’de ise geleneksel olarak afrodizyak ve kusturucu özelliğinden dolayı halk arasında kullanılmaktadır (T. Baytop, 1999). Ayrıca *Gladiolus italicus* ve *G. atroviolaceus* soğanları ise dondurma ve diğer sütü gıdalarda kullanılmaktadır (Öztürk ve Özçelik, 1991).

Yapılan literatür araştırmaları bazı *Gladiolus* L. türlerinde (*G. atroviolaceus*, *G. gandavensis* ve *G. segetum*) flavonol, antosiyanidin, antrakinon ve saponinler gibi doğal bileşiklerin olduğunu ve bu türlerin çeşitli biyolojik aktivitelerinin olduğunu göstermiştir (Hajiboland ve Manafi, 2007, Wang vd., 2003, Bazzaz vd., 1997). Ayrıca *G. atroviolaceus* bitkisinin uçucu yağının kimyasal bileşimi ve antimikrobiyal aktivitesi çalışılmıştır (Kahriman vd., 2012). Ancak *Gladiolus italicus* Miller bitkisinin uçucu yağının hem kimyasal kompozisyon hem de biyolojik aktiviteleri hakkında herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada Türkiye’de bulunan *G. italicus* bitkisinin uçucu yağının kimyasal kompozisyonu ile uçucu yağ ekstraktının antibakteriyel, antifungal ve antioksidan özellikleri araştırılmıştır.

2. Metaryal ve Yöntem

2.1. Yapılan Çalışmalar

Gladiolus italicus Miller bitkisi Gümüşhane ili Torul ilçesi Limni Gölü kenarlarından (yaklaşık 1700 m) 2013 yılı ağustos ayında toplanmıştır. Bitki materyali Dr. Mutlu GÜLTEPE tarafından teşhis edilmiş ve KTUB-509 numarası verilerek depolanmıştır.

2.1.1. Clevenger Tipi Hidrodestilasyon İşlemi:

Toplanan bitki materyalleri gölgede kurutulmuş ve 130 g tartılmıştır. Blender yardımıyla küçük parçalara ayrılan kurutulmuş bitki, 2 litrelik cam balona alınarak üzerine 800 mL saf su ilave edilmiş ve clevenger tipi su buharı destilasyon cihazında 4 saat ısıtılmıştır. Oluşan buharlar -15 C°’de soğutulmuş ve 14.9 mg (w/w

%0.012) uçucu yağ elde edilmiştir. Oluşan uçucu yağ HPLC kalitesinde 1 mL hegzan ile kahverengi vialer alınmış ve susuz Na₂SO₄ ile kurutulmuş analizler için -5 C°’de saklanmıştır (Tunalier vd., 2002).

2.1.2. GC ve GC-MS Analizleri:

Bu çalışmada yapılan GC-MS ve GC-FID analizleri literatüre göre yapılmıştır (Üçüncü vd., 2010).

2.1.3. Bileşenlerin Tanımlanması:

Uçucu yağın kimyasal içeriğinin belirlenmesi için her bir bileşik, öncelikle kütle spektrumları analizini yapıldığı bilgisayarın WILEY ve NIST kütüphaneleri ile, daha sonra ise alıkonma süreleri otantik örnekler (limonen, nonadekan, heneikosan ve trikosan) ve literatür verileri ile karşılaştırılarak belirlenmiştir (Adams 2004, Kahriman vd., 2010, Üçüncü vd., 2009, Skaltsa vd., 2003).

2.1.4. Antimikrobiyal Aktivite Analizi:

Bütün test mikroorganizmaları Gümüşhane Üniversitesi Gıda Mühendisliği Laboratuvarlarından temin edilmiştir. Uçucu yağ ekstraktının antimikrobiyal aktiviteleri *Aeromonas hydrophila* ATCC 7965, *Bacillus cereus* ATCC 33019, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047, *Escherichia coli* ATCC 11230, *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 33150, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Proteus vulgaris* ATCC 13319, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 17853, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Saccharomyces cerevisiae* BC 5461, *Candida albicans* ATCC 1223’a karşı agar difüzyon metodu kullanılarak belirlenmiştir. Ekstraktlar 1000 ppm olacak şekilde hegzanda çözülerek stok çözüldüden hazırlanmıştır (Maksimovic vd., 2005, Sağdıç ve Özcan 2003).

Agar Difüzyon metodu:

Bütün mikroorganizmalar 18 saat 37°C’ de nutrient broth ile *C. albicans*, *S. cerevisiae*,

A.niger, *A.flavus*, *Penicillium* ise 42 saat 27°C'de malt ekstrakt besiyerinde geliştirilmiştir. Steril nutrient agar ve malt ekstrakt agar 45°C'ye soğutulmuş olarak geliştirilen mikroorganizmalar %1 olacak şekilde inoküle edilmiş ve petrilere dökülmüştür. Agarlar katılaştıktan sonra, agarların üzerine 5 mm çapında kuyucuklar açılmıştır. Ön ekstraksiyonu yapılan örnekler kuyucuklara 50 µL olacak şekilde ilave edilmiştir. Kontrol amacıyla hekzan kullanılmıştır. Daha sonra petrilere bakteriler için 37°C 24 saat, küfler için ise 27°C 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Antimikrobiyal aktivite, test mikroorganizmalarının inhibisyon zonları ölçülerek belirlenmiştir. Zonlar milimetre olacak şekilde ölçülmüştür (Perez vd., 1990).

2.1.5. Antioksidan Aktivite Testleri:

Serbest Radikal Süpürücü Aktivitenin Belirlenmesi:

Serbest radikal süpürücü aktivite değeri DPPH metodu ile belirlenmiştir. 4 mL 0.1 mM olacak şekilde metanol ile hazırlanan DPPH çözeltisi *G. italicus* bitkisinin uçucu yağ ekstraktına ilave edilmiştir. Karışım 30 dakika oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletilerek 517 nm'de metanole karşı okunmuştur. Ölçümler 5 paralel şeklinde tekrarlanmış ve ortalaması hesaplanmıştır (Sanchez-Moreno, C. vd., 1998). % inhibisyon sonuçları aşağıda belirtilen formüle göre hesaplanmıştır;

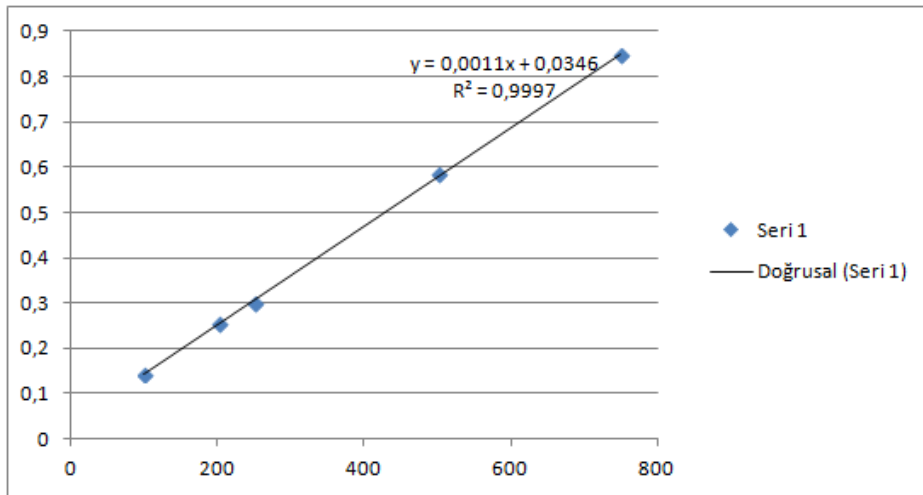
$$\% \text{ inhibisyon} = \left(\frac{\text{Kontrol Absorbansı} - \text{Örnek Absorbansı}}{\text{Kontrol Absorbansı}} \right) \times 10$$

Toplam Fenolik Miktarı:

Toplam fenolik madde miktarının analizi için Sagdıç ve arkadaşlarının kullandığı Folin-Ciocalteu metodu kullanılmıştır. Özetle, ön ekstraksiyon yapılan ekstraktlar 40 µL test tüplerine ilave edilip üzerine 2.4 mL saf su ilave edilir. Karışıma 200 µL Folin-Ciocalteu fenolik ayırıcı, 600 µL sodyum karbonat çözeltisi ve 760 µL saf su ilave edilir. Karışım 15 sn boyunca karıştırılır. Folin Ciocalteu ayırıcının indirgenmesi alkali ortamda mavi rengin ortaya çıkması ile sonuçlanır. 2 saat inkübasyondan sonra 765 nm de absorbansı ölçülür. Tüm ölçümler beş paralel olarak yapılmış ve ortalamaları alınmıştır. Hesaplamalarda kullanılan grafik Şekil 1'de görülmektedir. Sonuçlar GAE/L olarak verilmiştir (Gámez-Meza, N. vd., 1999).

3. Bulgular, Sonuç ve Tartışma

130 g kurutulmuş *G. italicus* bitkisine uygulanan hidrodestilasyon işlemi sonucunda %0.012 verimle 14.9 mg uçucu yağ elde edilmiştir. Uçucu yağın kimyasal yapısında GC-MS analizi sonucunda literatür verileri ile karşılaştırılarak %88.75 oranında 34 bileşik tanımlandı.



Şekil 1. Toplam fenolik madde miktarı için kullanılan gallik asit kütlesi

Yapısı aydınlatılan bileşikler Tablo 1’de görüldüğü gibi terpen veya terpen benzeri, aldehidler, alkoller, esterler, asitler ve diğer bileşikler olmak üzere 6 gruba ayrıldı. Asitler %40.15 ile ana bileşen sınıfını

oluşturmaktadır. Uçucu yağın ana bileşenleri ise %35.84 palmitik asit, %11.62 etil linoleat ve %8.58 oranında hegzahidrofarnesil asetondur.

Tablo 1. *G. italicus* bitkisi uçucu yağının tanımlanan kimyasal içeriği

No	Alıkonma Zamanı	Bileşiğin Adı	% Alan	Deneyisel RI
<i>Terpen veya terpen benzeri</i>				
1	13.095	Limonen	0.66	1031
2	25.091	Thimol	0.94	1299
3	27.930	2-Propiladamantan	0.52	1366
4	28.981	Damaskenon	0.52	1389
5	30.219	2-Izobutil adamantan	0.57	1418
6	31.784	Geranilaseton	0.81	1456
7	33.198	(<i>E</i>)- β -Ionon	0.62	1490
8	36.094	1- <i>sek</i> -Butiladamantan	0.44	1564
9	37.199	Hegzahidrofarnesol	0.62	1592
10	46.416	Hegzahidrofarnesil aseton	8.58	1847
11	46.919	Galaksolid	0.89	1861
12	47.951	Sklareoloksit	0.50	1892
<i>Aldehidler</i>				
13	4.503	3-Metil pentanal	1.56	728
14	25.927	(<i>E,E</i>)-2,4-Dekadienal	0.54	1320
<i>Alkoller</i>				
15	5.146	3-Penten-2-ol	1.73	770
16	9.695	5-metil-3-heptanol	1.26	943
17	10.021	6-metil-2-heptanol	0.62	952
<i>Esterler</i>				
18	29.208	<i>p</i> -Metoksibenzoikasit metil ester	1.81	1394
19	47.266	Isobutil fitalat	1.39	1872
20	51.330	Palmitik asit etil ester	1.20	1996
21	52.256	13-Tetradeken-1-ol asetat	0.95	2025
22	55.933	Etil linoleat	11.62	2148
23	56.473	Etil oleat	0.52	2164
<i>Asitler</i>				
24	43.477	Tetradekanoik asit	0.89	1762
25	50.569	Palmitik asit	35.84	1973
26	54.874	9-Oktadekanoik asit	2.13	2106
27	56.222	Linoleik asit	0.76	2155
28	56.684	Oleik asit	0.53	2171
<i>Diğer bileşikler</i>				
29	4.29	<i>cis</i> -2,5-Dimetil tetrahidro furan	6.31	714
30	4.775	2,4-Dimetilhegzan	0.41	746
31	40.355	Siklotetradekan	0.46	1676
32	48.237	Nonadekan	0.34	1900
33	54.558	Heneikosan	1.35	2101
34	60.376	Trikosan	0.86	2302
		Toplam	88.75	

Yapılan literatür araştırmaları sonucunda *G. atroviolaceus* bitkisinin uçucu yağ kompozisyonu ile *G. italicus* bitkisinin uçucu yağ kompozisyonu karşılaştırıldığında palmitik asit, hegzahidrofarneasil aseton, etil linoleat, limonen, (*E*)- β -Ionon gibi bileşiklerin ortak oldukları görülmektedir (Kahriman vd., 2012). Ancak kimyasal yapının çoğunlukla farklı olduğu tespit edilmiştir. Bu farklılıklar coğrafi konum, tür ve iklim şartlarına göre değişiklik gösterebilir.

G. italicus Miller bitkisinin uçucu yağ ekstraktlarının seçilen test bakteri ve küflerine karşı inhibisyon seviyeleri Tablo 2’de gösterilmiştir. Antimikrobiyal çalışmada, ekstraktların konsantrasyonu arttıkça inhibisyon zonları da artmıştır. 1000 ppm ve 500 ppm’ lik konsantrasyonlarda uçucu yağ ekstraktları güçlü bir antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Uçucu yağ ekstraktı *B.subtilis*’e karşı *E.coli*’ye daha hassas bir etki göstermiştir. Ayrıca, uçucu yağ ekstraktlarının antifungal aktivite göstermedikleri görülmüştür.

Uçucu yağ ekstraktının yüksek antioksidan aktivitesi olduğu tespit edilmiştir. *G. italicus* Miller’in uçucu yağ ekstraktı sarı renkli difenilpikrilhidrazin’e DPPH radikal süpürücü aktivitesi %35.25 bulunmuştur.

Gladiolus italicus Miller’in uçucu yağ ekstraktının toplam fenolik aktivitesi 437.3 GGA/L bulunmuştur. Bitkinin yüksek fenolik madde içeriği, günlük diyetle yada fonksiyonel gıdalarda kullanılabilceğini göstermektedir. Tıbbi bitkilerde bulunan antioksidanların güvenli ve etkili olmasının yanı sıra çeşitli biyolojik etkilere sahip olduğu da belirtilmiştir.

Türkiye florasında bulunan *G. italicus* bitkisinin antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin incelendiği bu çalışma literatürdeki ilk çalışmadır. Bu çalışma bitkinin biyoaktif özellikleriyle ilgili daha sonraki çalışmalara katkıda bulunabilir.

Tablo 2. *Gladiolus italicus* Bitkisinin Uçucu Yağ Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Bakteriler	1000 ppm	500 ppm	200 ppm	100 ppm
<i>A. hydrophila</i>	-	-	-	-
<i>B. cereus</i> *	6.02±0.10	-	-	-
<i>B. subtilis</i> *	8.10±0.10	-	-	-
<i>Ent. cloacae</i>	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	9.90±0.10	5.18±0.10	-	-
<i>E.coli</i> O157:H7	-	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-
<i>L.monocytogenes</i> *	10.10±0.10	-	-	-
<i>P. vulgaris</i>	-	-	-	-
<i>Pseu. aeruginosa</i>	-	-	-	-
<i>Sal. typhimurium</i>	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> *	-	-	-	-
Maya-Küf				
<i>Sac. cerevisiae</i>	-	-	-	-
<i>C. albicans</i>	-	-	-	-
<i>A.niger</i>	-	-	-	-
<i>A.flavus</i>	-	-	-	-
<i>Penicillium</i>	-	-	-	-

* Çalışmada kullanılan gram pozitif bakterileri belirtmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma, Gümüşhane Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (GÜBAP) birimi tarafından 13.F5115.02.2 nolu proje kapsamında desteklenmiştir. Bitki teşhisini yapan Dr. Mutlu GÜLTEPE'ye teşekkürlerimizi sunarız.

4. Kaynaklar

- Fazly Bazzaz, B. S., Haririzadeh, G., Imami, S.A. ve Rashed, M.H., 1997. Survey of Iranian Plants for Alkaloids, Flavonoids, Saponins, and Tannins [Khorasan Province], International Journal of Pharmacognosy, 35, 17-30.
- Gámez-Meza, N., Noriega-Rodríguez, J. A., Medina-Juárez, L.A., Ortega-García J., Cázarez-Casanova R. ve Angulo-Guerrero O., 1999. Antioxidant activity in soybean oil of extracts from thompson grape bagasse, Journal of the American Oil Chemists' Society, 76, 1445-1447.
- Goldblatt, P., 1996, *Gladiolus in Tropical Africa, Systematics Biology & Evolution*. Portland, OR, USA: Timber Press, 7-9p.
- Hajiboland, R. ve Manafi, M. H. 2007. Flora of heavy metal-rich soils in NW Iran and some potential hyperaccumulator and accumulation species, Acta Botanica. Croatica, 66, 177-195.
- Kahriman, N., Yücel, M., Yaylı, B., Aslan, T., Karaoğlu, S. A. ve Yaylı, N., 2012. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Volatile of *Gladiolus atrovioleaceus* Boiss., Asian J. Chem., 24, 1461-1464.
- Kahriman, N., Albay, C. G., Dogan, N., A. Usta, Karaoğlu, S. A. ve Yaylı, N., 2010. Volatile Constituents and Antimicrobial Activities from Flower and Fruit of *Arbutus unedo* L., Asian J. Chem., 22, 6437-6442.
- Maksimovic, Z.A., Dordevic, S. Ve Mraovic, M., 2005. Antimicrobial Activity of *Chenopodium botrys* Essential Oil, Fitoterapia, 76: 112-114.
- Manning, J., ve Goldblatt. P., 2008, *The Iris Family: Natural History and Classification*. Portland, Oregon: Timber Press, 138-142p.
- Nguedia, J. C. A., Etoa, F. X., Benga, V. P., Lontsi, D., Kuete, Y. ve Moyou R. S., 2004. Anti-candidal property and acute toxicity of *Gladiolus gregasius* Baker (Iridaceae), Pharm. Méd. Trad. Afr., 13, 149-159.
- Öztürk, M. ve Özçelik, H., 1991. Useful plants of East Anatolia. SİSKAV (Siirt İlim, Spor, Kültür ve Araştırma Vakfı), 196 p.
- Perez, C., Pauli, M. ve Bazerque, P., 1990. An Antimicrobial Assay by the Agar Well Diffusion Method, Acta Biologica et Medicine Experimentalis, 15, 113-115.
- Sağdıç, O. ve Özcan, M., 2003. Antibacterial Activity of Turkish Spice Hydrosols, Food Control, vol.14, 141-143.
- Sağıroğlu, M., ve Akgül, G., 2014. *Gladiolus osmaniyensis* (Iridaceae), a new species from South Anatolia, Turkey. Turkish Journal of Botany, 38: 31-36.
- Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J. A. ve Saura-Calixto, F., 1998. A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols, Journal of the Science of Food and Agriculture, 76, 270-276.
- Skaltsa, H. D., Demetzos, C. Lazari, D. ve Sokovic, M. 2003. Essential oil analysis and antimicrobial activity of eight *Stachys* species from Greece, Phytochemistry, 64, 743.
- Tan, K., ve Edmondson, J. R., 1984. *Gladiolus* L. In: Davis, PH, editor. *Flora of Turkey and the East Aegean*

- Islands, Vol. 8. Edinburgh: Edinburgh University Press, 441–450p.
- Tan, K., Mathew, B., ve Baytop, A., 2006. *Gladiolus attilae* (Iridaceae), A new species from East Anatolia, Turkey. *Phytol Balcan* 12: 71–73p.
- Tunalıer, Z., Kırimer, N. ve Başer, K.H.C., 2002. The composition of essential oils from various parts of *Juniperus foetidissima*, *Chem. Nat. Comp.*, 38, 43-47.
- Üçüncü, O., Yaylı, N., Volga, C., Yaylı, N. ve Terzioğlu, S. 2009. Chemical Composition of the Essential Oils from the Flower, Leaf and Stem of *Aquilegia olympica* Grown in Turkey, *Asian J. Chem.*, 21, 6569.
- Wang, D. Y., Ye, Q., Li, B. G. ve Zhang, G. L. 2003. A New Anthraquinone from *Gladiolus gandavensis*, *Natural Product Research*, 17, 365-368.