



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK
LİSANS
TEZİ**

**PIYASADA SATILAN ÇAY AĞACI
YAĞLARININ AVRUPA FARMAKOPESİ
MONOGRAF KRİTERLERİ YÖNÜNDEN
DEĞERLENDİRİLMESİ VE
ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ**

İMGE ECE GÖÇMEN

**FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI
FİTOTERAPİ PROGRAMI**

OCAK 2020



**PİYASADA SATILAN ÇAY AĞACI YAĞLARININ AVRUPA
FARMAKOPESİ MONOGRAF KRİTERLERİ YÖNÜNDEN
DEĞERLENDİRİLMESİ VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ**

İmge Ece GÖÇMEN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI
FİTOTERAPİ PROGRAMI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

OCAK 2020

İmge Ece GÖÇMEN tarafından hazırlanan “PİYASADA SATILAN ÇAY AĞACI YAĞLARININ AVRUPA FARMAKOPESİ MONOGRAF KRİTERLERİ YÖNÜNDEN DEĞERLENDİRİLMESİ VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ/OY ÇOKLUĞU ile Gazi Üniversitesi Farmakognozi Anabilim Dalı Fitoterapi Programı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Didem DELİORMAN ORHAN

Farmakognozi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye : Prof. Dr. Mine KÜRKÇÜOĞLU

Farmakognozi Anabilim Dalı, Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye : Prof. Dr. Berrin ÖZÇELİK

Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum



Tez Savunma Tarihi: 27/01/2020

Jüri üyeleri tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

.....

Prof. Dr. Mustafa ASLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

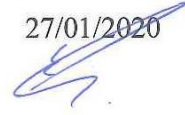
Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

İmge Ece GÖÇMEN

27/01/2020



PİYASADA SATILAN ÇAY AĞACI YAĞLARININ AVRUPA FARMAKOPESİ
MONOGRAF KRİTERLERİ YÖNÜNDEN DEĞERLENDİRİLMESİ VE
ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ
(Yüksek Lisans Tezi)

İmge Ece GÖÇMEN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Ocak 2020

ÖZET

Bu çalışmada, eczanelerde, aktarlarda ve sağlık ürünü satılan yerlerden satın alınan 12 çay ağacı yağı numunelerinin Avrupa Farmakopesi 8,0’da yer alan “Tea tree oil” monografında belirlenen kriterler yönünden analizleri yapılmıştır. Bu amaçla; numunelerde görünüş, çözünürlük, leke kontrolü, ince tabaka kromatografisi analizi, Gaz Kromatografisi ve Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi yöntemi ile bileşen analizleri yapılmıştır. Ayrıca numunelerin antimikrobiyal aktiviteleri de çalışılmıştır. Çalışmada numunelerin sonuçları, Avustralya’dan getirtilen organik saf çay ağacının sonuçları ile mukayese edilmiştir. 12 numuneden hiçbirinin Avrupa Farmakopesi standartlarına uygun olmadığı görülürken; antimikrobiyal aktivitenin 12 piyasa numunesinde organik saf çay ağacı yağına göre çok düşük olduğu tespit edilmiştir. Halk sağlığı açısından bu yağların farmakope kriterleri yönünden standardize edilmesi ve kalite kontrol çalışmaları sonrasında bu yağların eczacı gözetiminde eczanelerde satılması önemlidir.

Bilim Kodu : 1017

Anahtar Kelimeler : Antimikrobiyal Aktivite, Avrupa Farmakopesi 8,0, Çay Ağacı Yağı

Sayfa Adedi : 99

Danışman : Prof. Dr. Didem DELİORMAN ORHAN

ASSESSMENT IN TERMS OF THE EUROPEAN PHARMACOPOEIA CRITERIA OF
TEA TREE OILS SOLD IN THE MARKET AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES
(M.Sc. Thesis)

İmge Ece GÖÇMEN

GAZI UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
January 2020

ABSTRACT

In this study, 12 tea tree oil samples purchased from pharmacies, aktar and health product sotres were analyzed in terms of the criteria determined in “Tea tree oil ”monograph in European Pharmacopoeia 8,0. For this purpose; appearance, solubility, stain control, thin layer chromatography analysis, Gas Chromatography and Gas Chromatography-Mass Spectrometry method were used. Antimicrobial activities of the samples were also studied. The results of the samples were compared with the results of the organic pure tea tree brought from Australia. None of the 12 samples were found to be in compliance with European Pharmacopoeia standards; antimicrobial activity was found to be very low in 12 market samples compared to organic pure tea tree oil. In terms of public health, it is important to standardize these oils in terms of pharmacopeia criteria and to sell these oils in pharmacies under the supervision of pharmacist after quality control studies.

Science Code : 1017

Key Words : Antimicrobial Activity, European Pharmacopoeia 8,0, Tea Tree Oil

Page Number : 99

Advisor : Prof. Dr. Didem DELİORMAN ORHAN

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi ve tez çalışmam boyunca her aşamada bilgi ve tecrübesiyle bana yardımcı olan, emeğini, zamanını ve desteğini benden hiçbir zaman esirgemeyen, karşılaştığım tüm zorluklarda bana yol gösteren Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Didem DELİORMAN ORHAN'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Mine KÜRKÇÜOĞLU'na, Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Berrin ÖZÇELİK'e, Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Arş. Gör. İsmet KUTLUK'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Antimikrobiyal aktivite deneylerim için *Propionibacterium acnes* suşunu temin eden Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Meral SAĞIROĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında yardım ve desteklerini esirgemeyen Farmakognozi Anabilim Dalı'nın tüm araştırma görevlilerine;

Başarımdaki katkıları çok büyük olan bana her zaman güvenen her koşulda ve her kararında beni destekleyen canım aileme ve arkadaşım Merve Tuba BAKAL'a sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu tezin (Proje kodu: 02/2018-01) gerçekleşmesinde desteğini aldığım Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xi
RESİMLERİN LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Botanik Bölüm	3
2.1.1. <i>Melaleuca</i> cinsinin taksonomik yeri	3
2.1.2. Myrtaceae familyası	4
2.1.3. <i>Melaleuca</i> L.	4
2.1.4. <i>Melaleuca alternifolia</i>	5
2.1.5. Habitat	6
2.1.6. <i>M. alternifolia</i> 'nın Türkiye'deki yayılışı	7
2.1.7. <i>M. alternifolia</i> ve <i>M. linariifolia</i> 'ya verilen isimler ve sinonimleri.....	7
2.1.8. Tarihçe.....	8
2.1.9. Çay ağacı yağının (<i>Melaleuca aetheroleum</i>) kayıtlı olduğu monograflar ve farmakopeler	9
2.2. Kimyasal Bölüm.....	10
2.2.1. Çay ağacı yağının bileşimi	10
2.2.2. Çay ağacı yağının kalite parametreleri.....	13
2.2.3. Çay ağacı yağının stabilitesi.....	15

	Sayfa
2.2.4. Formüle ürünlerde çay ağacı yağının stabilitesi.....	17
2.3. Çay Ağacı Yağının Kullanımı.....	19
2.3.1. Çay ağacı yağı ve aromaterapi	22
2.4. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	23
2.4.1. <i>İn vitro</i> çalışmalar	23
2.4.2. <i>İn vivo</i> çalışmalar	35
2.4.3. Klinik çalışmalar	36
2.5. Çay Ağacı Yağının Kullanılmaması Gereken Durumlar	45
2.6. Gebelik ve Emzirmedeki Kullanımı.....	45
2.7. İlaç Etkileşimleri ve Diğer Etkileşimler.....	45
2.8. Çay Ağacı Yağı ile Görülen Advers Reaksiyonlar	46
2.9. Çay Ağacı Yağının Toksisitesi.....	49
2.10. Ticarete Önemi.....	50
2.11. Eczanede Satılan Preparatları.....	50
3. GEREÇ VE YÖNTEM	51
3.1. Gereç	51
3.2. Yöntemler.....	51
3.2.1. Melaleuca aetheroleum'un Avrupa Farmakopesi 8,0 'a göre analizi.....	52
3.3. Yöntemlerin Uygulanması	54
3.3.1. Makroskobik analiz.....	54
3.3.2. Çözünürlük tayini.....	55
3.3.3. İTK	55
3.3.4. Uçucu yağların analizi.....	55
3.3.5. Antimikrobiyal aktivite	56
4. BULGULAR	61

	Sayfa
4.1. Satın Alınan Örneklerin Görünümleri.....	61
4.2. Bulgular.....	63
4.2.1. Makroskobik analiz.....	63
4.2.2. Çözünürlük tayini.....	66
4.2.3. İTK analiz sonuçları.....	66
4.2.4. GC/MS analiz sonuçları	67
4.2.5. Antimikrobiyal aktivite sonuçları	74
5. TARTIŞMA.....	79
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	87
KAYNAKLAR	89
ÖZGEÇMİŞ	99

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Çay ağacı standartları ve kayıtlı olduğu Farmakopeler	10
Çizelge 2.2. ISO/FDIS 4730:2004'e göre çay ağacı yağının kromatografik profili	11
Çizelge 2.3. ISO ve Avrupa Farmakopesi monografına dayanarak çay ağacı yağındaki ana bileşenler	12
Çizelge 2.4. Çay ağacı yağının kemotipleri	12
Çizelge 2.5. Çay ağacı yağındaki kiral bileşiklerin enantiometrik oranları.....	14
Çizelge 2.6. Çay ağacı yağından hazırlanmış çeşitli formülasyonlarda yapılan stabilite çalışmaları.....	17
Çizelge 2.7. Literatürde çay ağacı yağının bazı seçilmiş patentleri.....	18
Çizelge 2.8. Çay ağacı yağı içeren bazı Aromaterapi formülasyonları	22
Çizelge 2.9. Çay ağacının çeşitli bileşenlerinin etki gösterdikleri mikroorganizmalar	24
Çizelge 2.10. Demodikozis üzerinde çay ağacı ile yapılan klinik çalışmalar]	41
Çizelge 3.1. Çay ağacı yağı örneklerinin satın alındıkları tarih ve yer bilgileri	51
Çizelge 3.2. Avrupa Farmakopesi 8,0'da çay ağacı yağı monografında verilen İTK görünümü	52
Çizelge 3.3. Avrupa Farmakopesi 8,0'da çay ağacı yağı monografında verilen GC analiz koşulları	53
Çizelge 4.1. Çay ağacı yağı numunelerinin çözünürlük tayin sonuçları.....	66
Çizelge 4.2. 1-8 numaralı örneklere ait HS-SPME-GC/MS analiz sonuçları.....	68
Çizelge 4.3. 9-14 numaralı örneklere ait HS-SPME-GC/MS analiz sonuçları.....	71
Çizelge 4.4. Numunelerin antibakteriyel aktivitede MİK (h/h) ve anti-biyofilm (Minimum Anti-biofilm konsantrasyon; MABCs; µg/ml) sonuçları	76
Çizelge 4.5. Numunelerin antifungal aktivitede MİK (µg/ml) ve anti-biyofilm (Minimum Antibiofilm konsantrasyon; MABCs; µg/ml) sonuçları	77

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Çay ağacının ana bileşenlerinin kimyasal yapıları	13
Şekil 2.2. Çay ağacı bileşenlerinin hidroliz ve oksidasyonunun son ürünleri	16
Şekil 2.3. Yağdaki bozulma ürünü olan p-simen'den oluşan bileşikler	17

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 1.1. <i>Melaleuca alternifolia</i>	2
Resim 2.1. <i>M. alternifolia</i>	4
Resim 2.2. <i>M. alternifolia</i>	6
Resim 2.3. Çay ağacı yağının eczanede satılan preparatları	50
Resim 4.1. Numune 1-6	61
Resim 4.2. Numune 7-12	62
Resim 4.3. Standart çay ağacı yağı ve numune 1-7	63
Resim 4.4. Numune 8-12	64
Resim 4.5. Numune 1-12 ve standart çay ağacı yağı karışımı	65
Resim 4.6. Numune 1-11 ve standartların İTK kromatogramı (Std: sineol: terpinen-4-ol: α -terpineol karışımı, a: α -terpineol, b: terpinen-4-ol, c: sineol, mobil faz: Etil asetat R.: heptan R. (20:80 h/h))	66
Resim 4.7. Numune 12, 13 ve standartların İTK kromatogramı (Std: sineol: terpinen-4-ol: α -terpineol karışımı, 13: standart çay ağacı yağı, mobil faz: Etil asetat R.: heptan R. (20:80 h/h))	67
Resim 4.8. Laboratuvarda yapılan antimikrobiyal aktivite çalışmaları	75

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler Açıklamalar

µg/ml	1 Mikrogram/Mililitre
a/a	Ağırlık/Ağırlık
g/l	Gram/Litre
h/h	Hacim/Hacim
ppm	Milyonda Bir Birim

Kısaltmalar Açıklamalar

ADR	Adrinomisin-Dirençli
ATTO	Australian Tea Tree Oil
BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung
BgVV	Bundesinstitut für Gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin
CLSI	Clinical Laboratory Standards Institute
CoNS	Coagulase negative <i>Staphylococcus</i>
DMSO	Dimetilsülfoksit
FDIS	Final Draft International Standard
FID	Flame İonization Detector
GC	Gas Chromatography
GC-FID	Gas Chromatography - Flame İonization Detector
GC-MS	Gas Chromatography – Mass Spectrometer
GFAAS	Graphite Furnace Atomic Absorption Spectroscopy
HS-SPME	Headspace-SPME (Tepe boşluğu- Katı Faz Mikro Ekstraksiyon)
HPV	Human Papilloma Virus
HSV-1	Herpes Simplex Virus 1
HSV-2	Herpes Simplex Virus 2
IM	Identification Method

Kısaltmalar	Açıklamalar
ISO	International Organization for Standardization
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
KFME	Katı Faz Mikroekstraksiyon
LD₅₀	Letal Doz (% 50 Öldürücü Doz)
LFCO	<i>Lactobacillus</i> ile Fermente Edilmiş <i>Chamaecyparis Obtusa</i>
MABCs	Minimum Antibiofilm Concentration
MBK	Minimum Bakterisit Konsantrasyonu
MİK	Minimum İnhibisyon Konsantrasyon
MBK	Minimum Bakterisidal Konsantrasyon
MHA	Mueller-Hinton Agar
MHB	Mueller-Hinton Broth
MRSA	Methicillin-Resistance <i>Staphylococcus Aureus</i>
MSSA	Methicillin-Sensitive <i>Staphylococcus Aureus</i>
PDMS/DVB	Polidimetilsiloksan-Divinilbenzen
PDA	Patates Dekstroz Agar
RRI	Relative Retention Index
SD	Standard Deviation
SDA	Sabora Dekstroz Agar
TTO	Tea Tree Oil

1. GİRİŞ

Ülkemizde son yıllarda fitoterapiye olan ilgi giderek artmaktadır, kısaca bitkisel ilaçlarla tedavi anlamına gelen “Fitoterapi” aynı zamanda rasyonel, kanıta dayalı ve fitoterapötiklerle yapılan allopatik bir tedavi yöntemidir. Fitoterapi alternatif bir tedavi yöntemi değildir, destekleyici ya da tamamlayıcı bir tedavi şeklidir. Tedavide fitoterapötikler kullanılır. Fitoterapi’de fitoterapötiklerin hammaddesini oluşturan drogların farmakope monograflarına göre standardizasyonları önemlidir. Uluslararası platformda bitkisel tıbbi ürünlerin ilaç olarak değerlendirilmesi ancak konvansiyonel ilaçların sahip olduğu kalite, güvenilirlik ve etkinlik kriterlerini sağlamaları ile mümkündür [1]. Bitkisel tıbbi ürünlerin ilaç olarak değerlendirilebilmesi için standardize edilmiş bitkisel preparatların üretilmesi gerekmektedir. Standardizasyon, bu ürünlerin güvenilirliklerinin kanıtlanması için gereklidir. Fitoterapi; hekim eczacı işbirliği ile uygulanmalıdır. Ülkemizde gerek görsel medya gerek bitkisel ürünlerin halk tarafından temin edilmesinin kolay yolu aktarlar olduğu için bitkisel ürünler, fitoterapi eğitimi almamış kişilerin elindedir ve dolayısıyla bu ürünlerin kalite kontrol analizleri yapılmamaktadır. Bu yüzden halk sağlığı ciddi tehdit altındadır. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognozi Ana Bilim Dalı Fitoterapi Yüksek Lisans Programında, 2001 yılından bu yana piyasadaki birçok bitki ve bitkisel ürünün kalite kontrol analizleri yapılmış ve durum tespitleri rapor edilmiştir [2].

Çay ağacı yağı; *Melaleuca alternifolia* (Maiden ve Betch) Cheel, *M. linariifolia* Smith, *M.dissitiflora* F. Mueller ve/veya diğer türlerinin terminal dallarından veya yapraklarından buhar distilasyonu ile elde edilen uçucu yağdır [3]. Çay ağacı (*Melaleuca alternifolia* [Maiden et Bettle] Cheel), [Sin: *M. linariifolia* Sm. var. *alternifolia* Maiden et Bettle] bitkisi; mersingiller (Myrtaceae) ailesindendir. Hint defnesi adıyla da bilinir ve vatani Avustralya’dır [4]. Tea tree oil, *M.alternifolia*’nın geniş çapta kültüre alındığı Avusturalya’da (New South Wales ve Queensland) ticari olarak üretilmektedir. Bitkinin doğal olarak yetiştiği alan ise New South Wales’in Kuzeydoğu kıyısında Clarence ve Richmond nehirleri civarı ile sınırlıdır [5]. *M. alternifolia*; Brezilya, Çin, Endonezya, Kenya, Madagaskar, Malezya, Güney Afrika, Tanzanya, Tayland, Amerika Birleşik Devletleri ve Zimbabve’de yetiştirilmektedir [6]. Çay ağacı yağı antibakteriyel, antiviral (Örn: *Herpes simplex*), insektisit, antidermatofit, analjezik, antienflamatuar, antitümör ve

akarisit aktivitelere sahiptir. Ayrıca ciltte akne ve blefarit tedavisinde de yaygın kullanımı mevcuttur [4].

“Piyasada Satılan Çay Ağacı Yağlarının Avrupa Farmakopesi Monograf Kriterleri Yönünden Değerlendirilmesi ve Antimikrobiyal Aktiviteleri” isimli tezimizde; eczaneler, aktarlar ve sağlık ürünü satan yerlerden alınan çay ağacı yağı örneklerinde Avrupa Farmakopesi 8,0’da [3] yer alan “Tea Tree Oil” monografına göre kalite kontrol analizleri yapılacak ve özellikle antimikrobiyal özellikleri ile satışı provake edilen piyasa ürünleri antimikrobiyal aktivite yönünden test edilerek bir durum tespiti yapılacaktır.



Resim 1.1. *Melaleuca alternifolia* [7]

2. GENEL BİLGİLER

Genel bilgiler; botanik, kimyasal içerik ve biyolojik aktivite çalışmaları olmak üzere üç ana bölümde verilmiştir.

Botanik bilgiler bölümünde; *Melaleuca* cinsinin taksonomik yeri, Myrtaceae familyası, *Melaleuca* genusu, *M. alternifolia* botanik özellikleri, habitat, *M. alternifolia*'ya verilen isimler ve sinonimleri, tarihçe ve *M. alternifolia*'nın kayıtlı olduğu monograflar ve farmakopeler ile ilgili bilgiler,

Kimyasal içerik bölümünde; çay ağacı yağının kimyasal bileşimi, stabilitesi, kullanım alanlarına ait bilgiler,

Biyolojik aktivite çalışmaları bölümünde; çay ağacı yağı ile yapılan *in vitro*, *in vivo* ve klinik çalışmalara ait sonuçlar ile çay ağacı yağının yan etkileri, toksisite ve kullanılmaması gereken durumlarla ilgili bilgiler sunulmuştur.

2.1. Botanik Bölüm

2.1.1. *Melaleuca* cinsinin taksonomik yeri

Alem: Plantae

Alt Alem: Tracheobionta

Üst Bölüm: Spermatophyta

Bölüm: Magnoliophyta

Sınıf: Magnoliopsida

Alt sınıf: Rosidae

Takım: Myrtales

Familya: Myrtaceae

Cins: *Melaleuca*

Tür: *Melaleuca alternifolia* [8]



Resim 2.1. *M. alternifolia* [4]

2.1.2. Myrtaceae familyası

Myrtaceae familyasına ait bitkiler kışın yaprak dökmeyen ağaç ve çalılardır. Yapraklar basit, tam, karşılıklı ve stipulasızdır; şizolizigen salgı cebi taşırlar. Familya bitkilerinin çoğu Amerika ve Avustralya'nın tropik bölgelerinde yayılış gösterir. Meyveler çoğunlukla bakka bazen kapsula tipinde olup; tabanda kaliks artığı taşırlar [9].

Familyanın 80 kadar cins ve 3000 kadar türü bulunur. Memleketimizde bir cins ve bir türü yetişmektedir [10].

Adı *Myrtus communis* L. (mersin, murt) olup, Akdeniz havzasında yetişen, yapraklarını dökmeyen 1-5 m boyunda bir maki bitkisidir [9].

2.1.3. *Melaleuca* L.

Melaleuca kelimesi, bitkinin büyümesi sırasında gövde kabuklarındaki renk değişimini ifade etmek üzere Yunancada mela-: siyah ve leuc(o)-: beyaz anlamına gelen kelimelerden oluşturulmuştur. Yeryüzünde *Melaleuca* cinsine ait 230'a yakın tür bulunmaktadır [5].

Melaleuca, Avustralya, Yeni Zelanda, Papua, Yeni Gine, Solomon Adaları, Endonezya, Malezya, Myanmar, Kamboçya, Thaland ve Vietnam'a özgü hızlı büyüyen bir bitkidir. *M. cajuputi*; Avustralya, Burma, Malezya, Vietnam, Yeni Gine ve Borneo ve Timor adaları dahil olmak üzere Güneydoğu Asya ve Okyanusya'da yaygın şekilde yayılsa bile, Hindistan ve Çin'de de bulunabilir [11].

2.1.4. *Melaleuca alternifolia*

Tıbbi olarak kullanılan *M. alternifolia* türü doğal olarak Avusturalya'da yetişmektedir ve bitkinin endüstriyel öneme sahip uçucu yağı nedeniyle özellikle Avustralya'da kültürü de yapılmaktadır. Nisan-Eylül aylarında çok miktarda suya ihtiyaç duyar ve killi topraklarda yetişir [5]. Bitkinin boyu 5-7 metreye kadar uzamaktadır [4]. Her zaman yeşildir [12]. Ağaç şeklindeki bu türün genç filizleri sık yumuşak tüylerle kaplı iken yaşlı dallar tüy taşımamaktadır. Gövdesinin kağıt gibi ince ve beyazımsı olan kabuğu geniş şeritler halinde soyulabilen, bitkinin çiçekleri ise arıcılık açısından önemlidir. Tıbbi olarak kullanılan kısım olan yapraklar basit, 1- 2,5 cm uzunluğunda ve derimsidir, bu yapraklar "Tea tree oil (TTO)" olarak bilinen değerli terapötik yağın kaynağıdır [5].

Maksimum yaz sıcaklığının 27-31°C, minimum kış sıcaklığının 19-21 °C olduğu, pH 4,5-7 olan topraklarda, ortalama 1000-1600 mm. yağış alan, 300 m. rakımdaki Doğu Avustralya'nın ılıman ve nemli kıyılarında yetişir. İnce kabuk ve bir katman ile yoğun bataklıklarda yetişen 7 metreye ulaşan uzun bir çalıdır. *M. alternifolia*, yoğun olarak çiçeklenir, genellikle Ekim ve Kasım aylarında çiçek açar. Her tomurcukta 3 mm. uzunluğunda bir kaliks tüpü, 3 mm. uzunluğunda yapraklar, 30-60 stamen, 3 mm. uzunluğunda bir stilus ile bir dişi organ ve bir stigma vardır. Meyvesi çok tohumlu, fincan şeklinde ve 23 mm. çapındadır. Tohumların rüzgârla salıverilmesini ve dağılmasını sağlayan 1,5-2,5 mm çapında bir deliğe sahiptir [7].

Melaleuca türlerinin kültüre alınması Avustralya'da başlamıştır. Kültüre alınmasının temel amacı, çay ağacı yağı üretimini arttırmak olmuştur. Yetiştirme alanındaki başlıca *Melaleuca* türleri; ağlayan paperbark (*M. viridiflora*), gümüş paperbark (*M. argentea*), mavi paperbark (*M. dealbata*) ve sarı kabuklu/paperbark (*M. nervosa*)'dır. Bununla birlikte, *M. citrolens*, *M. cajuputi*, *M. stenostachya*, *M. minutifolia*, *M. acacioides*, *M. tamariscina*, *M. bracteata*, *M. stenostachya*, *M. saligna*, *M. arcana* ve *M. clarksonii* gibi

bazı türlerler de sıklıkla kültüre alınmaktadır. *M. alternifolia*, subtropikal iklimlerde geniş bir toprak yelpazesinde yetişebilir, ancak en çok tercih edilen ortam tam güneş alan yerler ve nemli topraktır. Sık budamaya iyi yanıt verir. Aşırı düşük sıcaklığa toleranslı değildir. Bu türler oldukça dirençlidir ve asidik toprak, tuzlu toprak, su basmış toprak ve hatta kuru topraklar dahil olmak üzere çok çeşitli çevresel koşullarda büyüyebilirler. Ayrıca, özellikle bataklıklarda, su altındaki ovalar ve diğer su altındaki alanlarda da yetişebilmektedir. Güney Florida'da *Melaleuca* için tahmini değişmeyen mahsul biyokütle değeri, hektar başına 122 ile 170 kuru kütle metrik ton olarak kaydedilmiştir. Oysa Güneydoğu Avustralya'nın subtropikal ormanlarında yıllık ölü örtü döküntü miktarı hektar başına 7,6 ve 8,1 kuru ağırlık tondur. En yüksek verim, hektar başına 27.000 ağaçtır. Yapraklarda uçucu yağ içeren salgı bezleri bulunmaktadır. Kazançlı kültür, daha fazla tohum üretimini gerektirir [11].



Resim 2.2. *M. alternifolia* [6]

2.1.5. Habitat

M. alternifolia ve *M. linariifolia*, Kuzey Avustralya'daki Queensland, İngiltere'nin güneyindeki ve güneybatısındaki Yeni Güney Galler (Avustralya eyaleti) ve Great Dividing Range (Avustralya'da bir sıradağ), Maryborough'dan Avusturalya kıtasının doğu

kıyı kısmına kadar uzanan bölge için yerli türlerdir. *M. alternifolia*'nın doğal habitatı alçak konumlu, bataklık, subtropikal, kıyı zeminidir [6].

Kıyı bölgesi (sulak alanlar ve turba arazileri türleri) *Melaleuca* için en uygun habitatıdır [11].

2.1.6. *M. alternifolia*'nın Türkiye'deki yayılışı

Avustralya dışında yetişen *M. alternifolia* çeşitlerinin dağılımı kolaylıkla belirlenmemektedir [6]. *M. alternifolia* türü Türkiye'de yetişmemektedir.

2.1.7. *M. alternifolia* ve *M. linariifolia*'ya verilen isimler ve sinonimleri

Yaygın ismi: Çay ağacı, çay ağacı yaprağı yağı, Melaleuca yağı, Avustralya çay ağacı yağıdır.

Diğer yaygın isimler:

İngilizce:

Melaleuca alternifolia: Tea tree, paperbark tree, narrow-leaved paperbark

Melaleuca linariifolia: Flax-leaved paperbark tree, snow-in-summer

Avustralya yerlisi: *Melaleuca alternifolia*: Kimulli, Buhlam

Melaleuca linariifolia: Budjur

Almanca: Teebaum, Australischer Teebaum

İtalyanca: Melaleuca, tea tree, albero del tè

İspanyolca: Árbol de té, *Melaleuca alternifolia*

Yeni Zelanda yerlileri: Ti Tree

Flemenkçe: Theeboom

Çince: 茶树精油 (Australian tea tree oil: 澳洲 茶树精油)

Fransızca: Méléaleuca (arbre à thé), mélaleuque, tea tree, théier Australien

Norveççe: Tea tree

Türkçe: Çay ağacı

Her iki tür için kabul edilen Latin binomu:

Melaleuca alternifolia (Maiden & Betcher) Cheel

Melaleuca linariifolia Sm.

Her iki tür için sinonimler:

Melaleuca alternifolia: *Melaleuca linariifolia* var. *alternifolia* Maiden & Betcher.

Melaleuca linariifolia: *Melaleuca hyssopifolia* (Cav.) Dum. Cours, *Myrtoleucodendron linariifolium* (Sm.) Kuntze, and *Ozandra hyssopifolia* (Cav.) Raf [6].

2.1.8. Tarihçe

Çay ağacı olarak adlandırılan bitkilerin yaprakları antiseptik etkisi nedeniyle geleneksel tıpta yıllar boyu kullanılmış olmasına rağmen dünyaya tanıtımı 1700’lü yıllarda gerçekleşmiştir. Bilimsel ismi *M. alternifolia* olan çay ağacı bitkisi (tea tree), 1770 yılında ilk kez Kaptan James Cook (İngiliz denizci ve kaşif) tarafından keşfedilmiştir. “Tea tree (çay ağacı)” ismi Avustralya seyahati dönüşünde denizcilerin çay hazırlamak amacıyla bu bölgeden gemiye aldıkları yapraklar için kullanılmıştır. Bu bitki o zamana kadar Avustralya yerlileri (Aborjinler) tarafından deri enfeksiyonlarını tedavi etmek amacı ile kullanılmaktaydı. James Cook Büyük Okyanus’ta seyirler yapmıştır ve bu seyirler esnasında keşfettiği adalar ile ünlenmiştir. 1770 yılı Nisan ayında Avustralya’nın güney kıyıları keşfedildi. Endeavour, Avustralya’nın güney doğu açıklarında karaya oturduğunda gemi kıyıda onarıma alınırken Avustralya bitkileri üzerine ilk koleksiyonlar oluşturuldu. Bu ağaç formundaki bitki daha sonra Botanikçi Sir Joseph Banks’ın ilgisini çekmiş ve araştırma yapmak için ağacın yapraklarını toplayarak İngiltere’ye getirmiştir. Dr. AR Penfold 1923 yılında, bitkinin yaprakları ile çalışmaya başlamış ve uçucu yağın elde etmiştir. Bu yağın bakterisit ve antiseptik etkisi ise 1925 yılında açıklanmıştır [12]. Bu uçucu yağ ilk kez 1930 yılında Avustralyalı bir cerrah tarafından, yaraların temizlenmesi amacıyla kullandığında etkileyici sonuçlar elde etmesi ile ilgili bulgularını "Medical Journal of Australian”da paylaşmıştır. Bu yağ 2. Dünya savaşı sırasında yaralanmaları takiben görülen cilt enfeksiyonlarını azaltmak için genel bir antimikrobiyal ve böcek kaçırmacı ürün olarak ilk yardım kutularında yer almıştır. Çay ağacı yağının geniş çapta

üretimi özellikle Avustralya ordusunun bu yağın önemine dikkat çekmesiyle başlamıştır. Savaştan sonraki yıllarda antibiyotiklerin teminindeki güçlükler nedeniyle doğal bir antiseptik olan *M. alternifolia* yağına ilgi artmıştır. Ancak sentetik bileşiklere olan eğilim Çay Ağacı Yağı Endüstrisi'nin ilerlemesini 30 yıl kadar engellemiştir. 1970'li yılların sonlarında Avustralya'da çay ağacı yağı endüstrisi yeniden doğmuş, bitkinin kültüre alınma çalışmaları hızla gelişmiş ve geniş çapta üretimi, yüksek kalitede yağ elde edilişi ve standardizasyonu mümkün olmuştur.

Günümüzde Myrtaceae familyasından *Leptospermum*, *Melaleuca* ve *Kunzea* cinslerine ait bitkiler de “Tea tree” olarak bilinir. Bitkilerin, gerçek çay bitkisi (*Camelia sinensis*) ile tat, koku ve bileşim açısından herhangi bir benzerlikleri bulunmamaktadır. Söz konusu bitkilerin yaprakları bir uçucu yağ taşımaktadır ve bu yağların hepsi “tea tree oil (çay ağacı yağı)” olarak tanınmaktadır. “Tea tree” olarak bilinen bitkiler ve elde edilen uçucu yağların isimleri aşağıda verilmiştir.

Melaleuca alternifolia (Australian Tea Tree), Australian Tea Tree Oil (ATTO)

M. bracteata F. Muell., Kara çay ağacı yağı

M. cajuputi (Swamp Tea tree, Paperbark Tea Tree), Cajeput Oil

M. quinquenervia (Broad-leaved Tea tree, Broad-leaved Paperbark), Niaouli Oil

Leptospermum scoparium, Manuka Oil

Kunzea ericoides (A. Rich.) Joy Thomps, Kanuka Oil [4, 5,12]

2.1.9. Çay ağacı yağının (*Melaleuca aetheroleum*) kayıtlı olduğu monograflar ve farmakopeler

Çay ağacı yağının saflığı, bileşimi ve fiziko-kimyasal özellikleri çeşitli farmakopelerde ve monograflarda tanımlanmıştır.

Aşağıda farmakope, monograf ve standartlar içinde yer almaktadır:

- 2782-1997 Avustralya Standardı: *Melaleuca* yağı, terpinen-4-ol türü (Çay Ağacı yağı)
- Alman İlaç Kodeksi (DAC 1986) 8. ek, 1996
- Avrupa Farmakopesi
- Avrupa İlaç Ajansı

- Fransız Standardı T75-358
- İngiliz Farmakopesi
- ISO 4730:2004 - Melaleuca yağı, terpinen-4-ol tipi (Çay Ağacı yağı)
- Martindale Ekstra Farmakope
- *Melaleuca alternifolia* Uçucu Yağı, Seçilen Tıbbi Bitkilerde WHO Monografı Vol. 2, P172-179, 2002
- Teknik Corrigendum 1: 1997'den ISO 4730: 2005 [13, 14]

Çizelge 2.1. Çay ağacı standartları ve kayıtlı olduğu Farmakopeler [5]

Standart ve Farmakopeler	Yıl	İsim	İçerik
British Pharmaceutical Codex	1949	Oleum Melaleuca	Tanım, çözünürlük, yoğunluk, refraksiyon indisi, optik çevirme, ester indisi, bileşenler listesi
Australian Standart K-175	1967	Oil of <i>Melaleuca alternifolia</i>	Tanım, çözünürlük, yoğunluk, refraksiyon indisi, optik çevirme
Martindale, The Extra Pharmacopoeia	1972 1993	Melaleuca Oil	Sinominleri, tanım, çözünürlük, yoğunluk başlıca bileşenler, saklama, kullanım
Deutscher Arzneimittel Codex Draft	1996	Teebaumol	ISO 4730 asitlik derecesi, İnce Tabka Kromatografisi (ITK) için yöntem
French Standart T75-358	1991	Huile essentielle de <i>Melaleuca</i> terpinen-4-ol type)	Gaz Kromatografisi (GC) analiz tablosu (13 bileşen) ve tipik eser bileşikler
Australian Standart 2782	1985 1997	Oil of <i>Melaleuca</i> (terpinen-4-ol type)	AS K-175 için maksimum sineol, minimum terpinen-4-ol yüzdesi
International Standart 473	1996	Oil of <i>Melaleuca</i> (terpinen-4-ol type)	T75-358'de belirtilen özellikler, 14 bileşik ve 3 eser bileşen

2.2. Kimyasal Bölüm

2.2.1. Çay ağacı yağının bileşimi

Bilimsel olarak Avrupa Farmakopesi'nde, *M. alternifolia* (Maiden and Betch) Cheel, *M. linariifolia* Smith, *M. dissitiflora* F. Mueller ve diğer *Melaleuca* türlerinin terminal dallarından ve yapraklarından buhar distilasyonu ile elde edilen uçucu yağ olarak tanımlanmaktadır. Yapraklar, %2 oranında uçucu yağ içermektedir. Yine piyasada özellikle aromaterapide kullanılan değişik *Melaleuca* türlerinden elde edilen uçucu yağlar da mevcuttur. *M. cajuputi* Powell'dan elde edilene "Cajeput yağı", *M. viridiflora* Sol. Ex Gaetrn.'den elde edilene de "Niaouli yağı" adı verilmektedir. Bitki Avustralya'ya özgü olduğundan, bu yağ genellikle Avustralya çay ağacı yağı olarak adlandırılır. Keskin kafur benzeri bir koku ve mentol benzeri bir soğutma hissi veren soluk sarı renksiz bir sıvıdır. Ayrıca, alkol, aseton ve diğer organik çözücülerde çözüldüğü bildirilmiştir [15].

Fiziksel ve kimyasal özellikleri

Fiziksel form	: Renksiz-soluk sarı sıvı
Çözünürlük	: Suda çözünmez, % 85 etanol ile karışabilir (h/h)
Organoleptik özellikler	: Miristik koku
Erime noktası	: Uygulanamaz (oda sıcaklığında sıvı)
Kaynama noktası	: Yaklaşık 176°C
20°C’de yoğunluk	: 0,885-0,906
20°C’de kırılma indisi	: 1,4750-1,4820
Optik rotasyon	: + 5° ile + 15° [13,16]

Çay ağacı yağı, aromatik bileşiklerin yanı sıra çeşitli mono- ve seskiterpen yapısında maddeler içerir. Uçucu yağın %80-90'ını oluşturan monoterpenlerden; terpinen-4-ol, γ -terpinen, α -terpinen, 1,8-sineol, *p*-simen, α -terpineol, α -pinen, terpinolenler, limonen ve sabinen ana bileşikleridir. Seskiterpen yapısında ise; aromadendren, δ -kadinen ve globulol isimli maddeler sıklıkla tespit edilmiştir [17]. Çay ağacı yağında bulunan terpenlerin çeşitliliğine; *M. alternifolia* popülasyonu, iklim, yaprak yaşı ve distilasyon süresi etki edebilmektedir [15].

Çay ağacı yağının kalitesini düzenlemek için gerekli olan kriterler; Avustralya Standardı'nda Uluslararası Standart ISO 4730'da (ISO 4730, 1996) ve tek tek bileşenlerin seviyesi ile ilgili olarak da Alman İlaç Kodu'nun eski bir sayısında uygulamaya konmuştur. Final Draft International Standard ISO (ISO/FDIS) 4730:2004 tarafından belirlenen çay ağacı yağının bileşenleri, maksimum ve minimum miktarları, Çizelge 2.2'de verilmiştir. Bu çizelgede, 'Melaleuca Yağı, terpinen-4-ol tipi (çay ağacı yağı)'nın 15 bileşeni için maksimum ve minimum değerler belirlenmiştir [11, 15,16].

Çizelge 2.2. ISO/FDIS 4730:2004'e göre çay ağacı yağının kromatografik profili [16]

Bileşen	Minimum (%)	Maksimum (%)
α -Pinen	1	6
Sabinen	Eser miktarda	3,5
α -Terpinen	5	13
Limonen	0,5	1,5
<i>p</i> -Simen	0,5	8
1,8-Sineol (ökaliptol)	Eser miktarda	15
γ -Terpinen	10	28
Terpinolen	1,5	5
Terpinen-4-ol	30	48
α -Terpineol	1,5	8
Aromadendren	Eser miktarda	3
Leden (viridiflorene)	Eser miktarda	3
δ -Kadinen	Eser miktarda	3
Globulol	Eser miktarda	1
Viridiflorol	Eser miktarda	1

Çizelge 2.3’de ise çay ağacı yağının bileşenleri, ISO ve Avrupa Farmakopesi’nde beyan edildiği şekilde karşılaştırmalı olarak verilmiştir.

Çizelge 2.3. ISO ve Avrupa Farmakopesi monografına dayanarak çay ağacı yağındaki ana bileşenler [7]

Bileşenler	ISO (%)	Avrupa Farmakopesi (%)
Terpinen-4-ol	30-48	Minimum 30
γ -Terpinen	10-28	10-28
1,8-Sineol	17’ye kadar	15’den az
α -Terpinen	5-13	5-13
α -Terpineol	1,5-8	1,5-8
<i>p</i> -Simen	-	0,5-12
α -Pinen	-	1-6
Terpinolen	-	1,5-5
Aromadendren	-	7’den az
Limonen	-	0,5-4
Sabinen	-	3,5’dan az

M. alternifolia uçucu yağının altı farklı kemotipi vardır, üçü ana kemotip önemlidir:

1. Terpinen-4-ol bakımından zengin çay ağacı yağı veren terpinen-4-ol kemotipi.
Ticari çay ağacı yağı her zaman terpinen-4-ol kemotipinde, tip 1’dir [18].
2. 1,8-sineol bakımından zengin çay ağacı yağı veren sineol kemotipi.
3. Terpinolen bakımından zengin çay ağacı yağı veren terpinolen kemotipi [6].

Çizelge 2.4. Çay ağacı yağının kemotipleri [18]

	Terpinen-4-ol*	1,8-Sineol*	Terpinolen*
Tip 1	22–40	0–17	2–6
Tip 2	<3	22–44	41–60
Tip 3	10–14	34–46	16–24
Tip 4	6–14	41–63	0–3
Tip 5	<1	72–86	<1
Tip 6	<1	65–80	6–14

*% (ağırlık/ ağırlık)

2017 yılında yapılan bir çalışmada, bu kemotiplerin oluşumunda yapraklarda bulunan 1,8-sineol sentaz, terpinolen sentaz ve sabinen hidrat sentaz enzimlerin rol aldığı tespit edilmiştir [19].

Terpinolen	1,8-Sineol	α -Terpinen
γ -Terpinen	<i>p</i> -Simen	(+)-Terpinen-4-ol
(+)- α -Terpineol	D-Limonen	(+)-Sabinen
(+)-Aromadendren	δ -Kadinen	(-)-Globulol
(+)-Viridiflorol	(+)-Leden (sinonimi viridifloren)	α -Pinen

Şekil 2.1. Çay ağacının ana bileşenlerinin kimyasal yapıları [13, 16]

2.2.2. Çay ağacı yağının kalite parametreleri

Brophy, Davies, Southwell, Stiff ve Williams (1989) yaptıkları çalışmada, buhar veya su distilasyonu ile elde edilmiş piyasada satılan çay ağacı yağı örnekleri ve yapraklardan absölü etanol ile elde edilen ekstrelerde yapılan ayrıntılı Gaz Kromatografisi (GC) ve Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) analizleri ile numunelerin terpenik bileşimlerini değerlendirmişlerdir. Çalışmada, distilasyon süresinin yağ kalitesine etki ettiğini tespit etmişlerdir. Tamamlanmamış bir distilasyon ile elde edilen çay ağacı yağında terpinen-4-ol seviyesinin arttığı ve seskiterpenoitlerin ise azaldığı görülmüştür. Tipik bir yağda *p*-simen ve 1,8-sineol miktarları belirgin bir şekilde az iken α -terpinen, γ -terpinen ve

terpinolen miktarları ise yüksektir. Yağın bileşiminde; bekletme veya diğer faktörlerle (nem, ışık, depolama koşulları veya oksijen) oluşan oksidasyonla değişiklikler oluşmaktadır. 21 ay süre ile saklanan yağ örneklerinde, %20-40 oranında *p*-simen tespit edilmiştir. α -terpinen, γ -terpinen ve terpinolenlerin *p*-simen'e okside olduğu sonucuna varılmıştır. Hazırlanan ekstrenin analizi sonucunda da; terpinen-4-ol ve 1,8-sineol seviyelerinden uçucu yağın doğru *Melaleuca* türü olup olmadığının tespitinin Mikroekstraksiyon tekniği ile yapılabileceği görülmüştür [20].

Uçucu yağların kalitesi, çoğunlukla bitkinin toplama evresi ve uçucu yağın depolama koşullarıyla bağlantılı olarak oksidatif bozulmalar sonucunda değişir. Bu bozulmaların, çay ağacı yağı özelinde nelere sebep olabileceğini daha önce de belirtmiştik. Çok boyutlu gaz kromatografi-kütle spektrometresi ve enantio-GC teknikleri kullanılarak kaliteli bir çay ağacı yağındaki kiral bileşiklerin enantiometrik oranları belirlenmiştir (Çizelge 2.5) [21].

Çizelge 2.5. Çay ağacı yağındaki kiral bileşiklerin enantiometrik oranları

Bileşik	+ (%)	- (%)
β -pinen	60,7	39,3
Sabinen	60,2	39,8
α -Fellandren	37,3	62,7
Linalol	65,1	34,9
Terpinen-4-ol	66,2	33,8
α -Terpineol	76,8	23,2

Çay ağacı yağının rafine etmek üzere yapılan bir çalışmada, ISO 4730 Uluslararası Standardını karşılayan yağın saflaştırılması iki adımda gerçekleştirilmiştir. İlk adım, ham yağ (terpinen-4-ol, % 35 h/h) elde etmek için buhar distilasyonu yapılmış ve ortalama verim % 2,37 (h/ h-ıslak ağırlık) veya % 1,23 (h/h- kuru ağırlık) olarak bulunmuştur. İkinci aşamada, vakum distilasyonu kolonu kullanılarak temizlenmiş çay ağacı yağı elde edilmiştir. Verim yaklaşık % 0,3 (a/a) olarak bulunmuştur. Terpinen 4-ol miktarı; ham yağda % 35-48 (h/h) ve temizlenmiş yağda ise % 95-100 h/h olarak tespit edilmiştir [22].

Tankeu, Vermaak, Kamatou ve Viljoen (2014) ticari olarak önemli uçucu yağlardan biri olduğunu düşündükleri çay ağacı yağının kalitatif ve kantitatif analizlerinde kullanılan GC-MS tekniğini hem pahalı hem de zaman alıyor olmasından dolayı, kalite kontrol için hızlı ve düşük maliyetli bir alternatif yöntem olarak kemometrik veri analizi ile birlikte titreşim spektroskopisinin kullanımı değerlendirmişlerdir. Spektral veriler hem orta kızılötesi hem de yakın kızılötesi dalga boyu bölgelerinde ve alev iyonizasyon dedektörü ile GC-MS

kullanılarak elde edilmiştir. Çay ağacı yağının ana bileşiklerinin miktarının belirlenmesi için bu yöntemlerin değerli oldukları doğrulanmıştır. Bu sonuçlardan, çay ağacı yağının ana bileşiklerinin kalitatif ve kantitatif analizlerini yapmak için (1,8-sineol, terpinen-4-ol, limonen, terpinolen, α -terpineol, α -terpinen ve γ -terpinen) numune hazırlamadan veya kimyasal madde kullanımı olmadan bir dakikadan daha kısa sürede ölçüm yapılabilen, verimli, bileşimi bozmayan alternatif yöntemler olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır [23].

Çay ağacı yağlarının tahşışatını tespit edebilmek için anahtar monotermenlerin enantiomerik oranlarının kullanılabileceği düşünülerek; 2016 yılında Avustralya’da bir çalışma yapılmıştır. 57 adet gerçek çay ağacı yağında yapılan GC-MS analiz sonuçlarına göre; (+)-terpinen-4-ol %67,4-69,6; (+)- α -terpineol %71,0-78,0; (+) ve (-)- terpinen-4-ol oranının 2,067-2,289 ve (+) ve (-)- α -terpineol oranının ise 2,450-3,540 arasında değişmesi gerektiği sonucuna ulaşılmıştır [24].

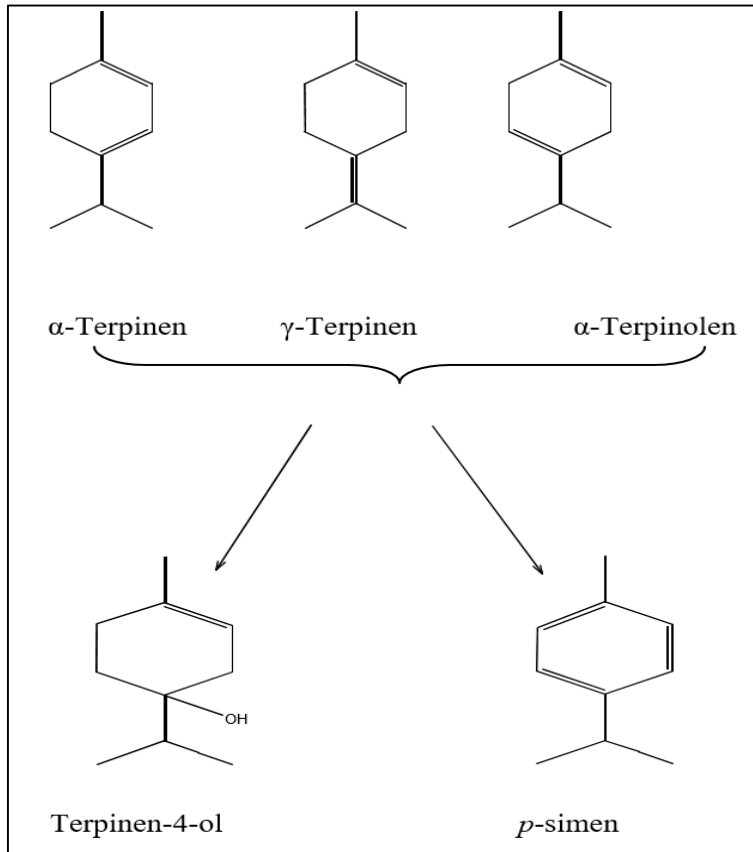
2.2.3. Çay ağacı yağının stabilitesi

Çay ağacı yağının bileşimi, özellikle atmosferik oksijen varlığında, ayrıca ışığa, neme ve yüksek sıcaklıklara maruz kaldığında da değişir. Bu koşullar altında, α -terpinen, γ -terpinen ve terpinolen, *p*-simen'e oksitlenir. Sonuç olarak, α -terpinen, γ -terpinen ve terpinolen seviyeleri düşerken, *p*-simen seviyesi 10 kat artar. Bekleme süresi arttıkça, yağın rengi yeşil-kahverengiye döner, viskozite değişir ve koku terebentin benzeri bir hal alır. Son olarak, 1,2,4-trihidroksimentandan oluşan uzun ince iğneler kristallenir [18].

Seyreltilmemiş çay ağacı yağının 12 aylık kullanım sonrasındaki stabilitesinin değerlendirildiği bir çalışmada, çay ağacı yağları vida boyunlu 100 ml.lik amber polipropilen kapaklı cam şişelerde, ısı ve ışık kaynaklarından uzakta bir kabinde 22°C'de saklanmıştır. Her hafta kapaklar açılarak hava ile temas edilmesi sağlanmıştır. Her ay şişelerden 5,61 ml numune alınıp GC tekniği ile bileşimleri ve oksitlenme durumları peroksit indeksi hesaplanarak tespit edilmiştir. Yağın bileşiminin ilk 6 ay sonunda değişmeden kaldığı, daha uzun saklama süreleri sonunda *p*-simen seviyelerinde hafif bir artış, α -terpinen seviyelerinde ise hafif bir azalma görülmüştür. Bununla birlikte, *p*-simen seviyelerinin 12 aylık deneme süresinden sonra %6,7'den daha az olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde, peroksit indeksi ilk 6 ay boyunca 5 mili-ekivalan O₂ seviyesinde veya daha

az iken, 12 ay sonunda ise 8,6 mili-ekivalan O₂ seviyesini aşmamıştır. Bu belirtilen koşullar altında yağda 12 ay sonunda kayda değer bir oksidasyon/bozunma görülmemiştir. Örnek alınma zamanlarında, herhangi bir yağ numunesinde 1,2,4-trihidroksimetan tespit edilmemiştir [13].

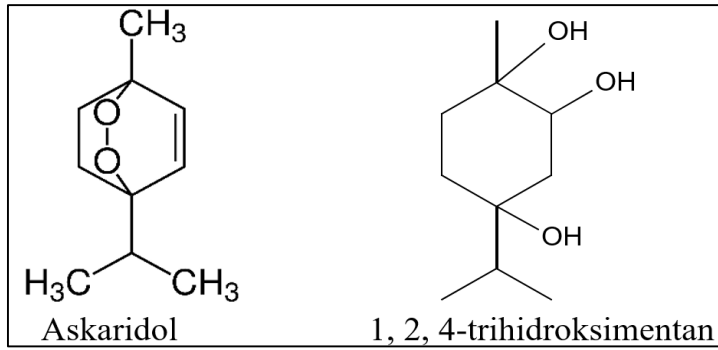
Aynı kimyasal grup içindeki yapısal ilişkilerinden dolayı, uçucu yağ bileşenlerinin enzimatik veya kimyasal olarak tetiklenen oksidasyon, izomerizasyon, siklizasyon veya dehidrojenasyon reaksiyonları ile kolayca birbirlerine dönüştüğü bilinmektedir. Terpenoitler uçucu ve ısıl kararsız olduklarından, kendi yapılarına bağlı olarak kolayca oksitlenebilir/hidrolize edilebilirler. Çay ağacı yağı bileşenlerinin bozulması genellikle iki ana yoldan oluşur: oksidasyon ve hidroliz. Bozunma üzerindeki α -terpinen, α -terpinolen ve γ -terpinen, Şekil 2.4.'de gösterildiği gibi terpinen-4-ol (hidroliz ile) ve *p*-simen (oksidasyonla) oluşumuna yol açar [15, 16].



Şekil 2.2. Çay ağacı bileşenlerinin hidroliz ve oksidasyonunun son ürünleri [16]

p-simen yüzdesi, çay ağacı yağının oksidatif bozunmasının iyi bir göstergesidir. Hidrolizden sonra, terpinen-4-ol konsantrasyonunun üretimindeki artıştan dolayı antimikrobiyal aktivitede artış olabileceği için, terpinen-4-ol'ün çay ağacı yağının

antimikrobiyal etkisinde hayati bir rol oynadığı bildirilmiştir. Bu yüzden, çoğu zaman, terpinen-4-ol içeriği zengin; 1,8-sineol içeriği düşük yağ tercih edilir. Yüksek sineol içerikli çay ağacı yağı, ökaliptüs yağına çok benzeyen bir kokuya sahiptir. Ayrıca çay ağacı yağındaki oksidasyon ürünü olan *p*-simen, askaridol (endoperoksitler) ve daha stabil bir alkol 1, 2, 4-trihidroksi-metan (triol) oluşumuna yol açar (Şekil 2.5) [15, 16].



Şekil 2.3. Yağdaki bozulma ürünü olan *p*-simen'den oluşan bileşikler [16]

2.2.4. Formüle ürünlerde çay ağacı yağının stabilitesi

Çay ağacı yağından hazırlanmış çeşitli formülasyonların, farklı sıcaklık ve süre koşulları altında yapılan stabilite çalışmalarında *p*-simen miktarlarındaki değişimler izlenmiştir. Çalışmada formülasyonların bileşimi verilmemiştir (Çizelge 2.6) [13].

Çizelge 2.6. Çay ağacı yağından hazırlanmış çeşitli formülasyonlarda yapılan stabilite çalışmaları [13]

Formülasyon	Kod	Saklama	<i>p</i> -simen Başlangıç değeri (%)	<i>p</i> -simen Son değer (%)
Beyaz krem	#2923	18 ay, 30°C	1,72	9,02
Beyaz krem	#3174	18 ay, 30°C	3,09	6,25
Jel	#11J1	60 ay, 22°C	-	3,25
Jel	#11J1	18 ay, 40°C	-	3,53
Jel	#1131	12 ay, 40°C	-	3,70
Jel	#1131	60 ay, 22°C	-	3,25
Jel	#13AK	48 ay, 22°C	-	3,49
Jel	#13AK	18 ay, 40°C	-	4,02
Solüsyon	#7959	36 ay, 2 °C	-	3,42
Solüsyon	#7959	18 ay, 40°C	-	4,08
Solüsyon	#9612	36 ay, 22°C	2,93	3,98
Solüsyon	#9612	18 ay, 40°C	2,93	3,53

Çalışmanın sonuçları değerlendirildiğinde; *p*-simen içeriğinin saklama süresine bağlı olarak arttığı fakat ISO Standartlarının belirlediği üst limitlerin altında kaldığı (%8) tespit edilmiştir. Yağdaki bozulmaya, yağı içeren formülasyondaki taşıyıcının da etkili olduğu bulunmuştur. Krem formülasyonlarındaki çay ağacı yağındaki bozulmanın solüsyon ve jel formülasyonlarına göre daha hızlı olduğu görülmüştür. Jel formülasyonundaki çay ağacı yağı 5 yılın üzerinde bir stabilite gösterirken, bu süre solüsyon formülasyonunda 3 yıl, krem formülasyonunda ise 1,5 yıla gerilemiştir [13].

Shabir (2005), çay ağacı yağı formülasyonlarında izotermal gaz kromatografisi-alev iyonizasyon dedektörü (GC-FID) yöntemi ile *p*-simen tespiti için valide bir yöntem geliştirmiştir. %5 Carbowax kolon (20 m x 0,25 mm), taşıyıcı gaz olarak hidrojen (36 ml/dk.) kullanılmış, dedektör sıcaklığı 220°C, fırın sıcaklığı ise 100°C ve enjeksiyon hacmi de 1,5 µl. olarak optimize edilmiştir. Çay ağacı yağı formülasyonunda *p*-simen tayini için bu yöntem yüksek verim kapasitesine sahiptir. Çalışmanın sonucunda, terapötik ve farmasötik olarak formüle edilmiş çay ağacı yağı ürünleri için bu yöntemin, doğruluk ve hassasiyet kriterleri yönünden kalite kontrollerde kullanılması önerilmiştir [25].

Araştırmacılar, formülasyon zorluklarının üstesinden gelmek için bazı yeni dağıtım sistemlerini test etmişlerdir. Literatürde bu yağ için bildirilen sınırlı sayıda formülasyon (mikroemülsiyon, lipozom, nanoemülsiyon, yamalar, siklodekstrin kompleksleri) vardır. Bu tür formülasyonlar yağın stabilitesini arttırmayı, uçucu hale gelmesini önlemeyi, kontrollü salınımını mümkün kılmayı ve lipofilik bileşenlerinin çözünürlüğünü arttırmayı amaçlamaktadır. Birçok ticari ve tezgah üstü ürün, jeller, sabunlar, şampuanlar, temizleyiciler, losyonlar, kremler ve çubuklar içinde de yer almaktadır. Çay ağacı yağı ile ilgili patentlerin bir listesi Çizelge 2.7'de verilmiştir [15].

Çizelge 2.7. Literatürde çay ağacı yağının bazı seçilmiş patentleri [15]

Sıra no	Patent no	Patent ismi
1.	EP 0521143 a1	Burn dressing with tea tree oil
2.	US 5,449,517 a	Method and formulation for eliminating fleas on animals
3.	Wo 1996020267 a1	a process for deodorizing tea tree oil and deodorized tea tree oil
4.	Wo 1998042386 a1	Preservative composition containing tea tree oil (tto)
5.	us 5,738,863 a	honeybee repellent composition containing tea tree oil
6.	Wo 1999046993 a1	tea tree oil pesticidal composition
7.	us 6,019,963 a	Deodorizing composition containing tea tree and eucalyptus oils
8.	us 6,342,253 B1	use of essential oils to repel and treat head lice
9.	us 2002/0054858 a1	oral hygiene formulation and method of use
10.	Wo 2003002132 a1	tea tree oil formulations
11.	us 6,518,227 B2	solvent composition for denture adhesive

Çizelge 2.7. (devam) Literatürde çay ağacı yağının bazı seçilmiş patentleri [15]

Sıra no	Patent no	Patent ismi
12.	Wo 2004073674 a1	tea tree oil-based preparation, methods for the production and use thereof
13.	us 2005/0084545 a1	non-phytotoxic biocide composition containing tea tree oil and method of production of the same
14.	us 2007/0207115 a1	tea tree oil and benzoyl peroxide acne treatment
15.	210105	fungicidal emulsion comprising tea tree oil
16.	us 7,311,928 B2	topical compositions containing tea tree oil for treatment of viral lesions
17.	us 7,368,135 B1	herbal healing oil
18.	us 7,666,453 B2	topical composition and method for the treatment and prophylaxis dermal irritations
19.	us 2011/0070323 a1	Pediculicide compositions
20.	EP2370057 a1	topical herbal formulation for treatment of acne and skin disorders
21.	us 2012/0024310 a1	Method of applying a protective film over natural hair or scalp prior to application of bonding glue
22.	EP 2575477 a2	combinations of antifungal compounds and tea tree oil
23.	us 8,496,914 B2	antibacterial oral rinse formulation for preventing coronary artery disease
24.	us 2013/0158,127	tea tree oil derivatives
25.	Wo 2014042604 a1	clindamycin phosphate, salicylic acid and tea tree oil combinations
26.	us 2015/0010598 a1	composition for transdermal delivery and methods thereof
27.	us 2015/0030708 a1	compositions comprising extracts of boswellia, tea tree, aloe and lavender oil and methods of treating wounds, burns and skin injuries therewith
28.	us 2015/0072030 a1	Biocompatible tea tree oil compositions

2.3. Çay Ağacı Yağının Kullanımı

M. alternifolia'nın antifungal, antienflamatuar, antibakteriyel, topikal antiseptik ve antiviral bir uçucu yağ olarak Avustralya'da geleneksel tıbbi kullanımı uzun bir tarihe sahiptir. Avustralya ürün kayıtlarında tanımlanan bazı özel tıbbi kullanımlar şunları içerir: bronş tahrişi veya bronşit nedeniyle oluşan öksürüğün rahatlatılması, topikal uygulama ile nezle, soğuk algınlığı, uçuk, influenza/grip, sinüzit ve tinea semptomlarının giderilmesidir. Çay ağacı yağı ayrıca sağlığın korunmasında veya devam ettirilmesinde, alerji semptomlarının giderilmesinde, aromaterapide ve masajda küçük yanıkların ilk yardım tedavisinde de kullanılır. Avrupa İlaç Ajansı; küçük yüzeysel yaralar ve böcek ısırıkları, küçük kabarcıklar (çıban ve hafif akne), hafif Tinea pedis durumunda kaşıntı ve irritasyonun hafifletilmesi ve oral mukozanın küçük enflamasyonlarının semptomatik tedavisi için önermektedir. Ticari ürünler; jeller, kremler, losyonlar, şampuan, saç kremi, yüz maskeleri, deodorantlar, ayak bakım ürünleri, sabunlar, diş macunları, ağız suları, böcek kovucular ve oda spreyleridir [6, 26].

Çay ağacı yağı, birçok evcil hayvan şampuanında, keneleri ve pireleri öldürmek için kullanılır ve böcekleri uzaklaştırdığı da iddia edilmektedir [27].

Çay ağacı yağı; saf yağ, merhem, siğil boyası, akne tedavisinde kullanılan formülasyonlar içinde bulunduğu gibi kumaş yumuşatıcıları, deterjanlar ve temizleyiciler gibi ev ürünleri dahil birçok farklı formülasyonların içinde de bulunur. Bu yağ ayrıca birçok kozmetik ürün türünde ve aromaterapide cilt hastalıkları, solunum sistemi hastalıkları (örneğin astım, bronşit, sinüzit, tüberküloz ve boğmaca öksürüğü), genitoüriner hastalıklar (kandidiyazis, vajinit, sistit ve genital prurit), soğuk algınlığı, grip ve suçiçeği gibi bulaşıcı hastalıklar ve ateşte kullanılmaktadır [18].

Avrupa Kozmetik Birliği COLIPA 2002 yılında, çay ağacı yağının kozmetik ürünlerde cilde %1 yağdan daha yüksek konsantrasyonda uygulanacak şekilde kullanılmaması gerektiğini tavsiye etmiştir. Dahası, üreticilere ışıktan etkilenmesini en aza indirmek için antioksidanlar ve/veya özel ambalajları kullanmalarını önermiştir [18].

Avrupa Komisyonu, Scientific Committee on Consumer Products (2008); çay ağacı yağının eklendiği kozmetikler ve formülasyonlardaki konsantrasyonların aşağıdaki miktarlarda olması gerektiğini tavsiye eder:

- Nemlendiriciler (% 1,25)
- Şampuanlar ve gargaralar (% 0,2)
- Yüz yıkama ve el yıkama suları (% 0,7)
- Sabunlar (% 2)
- Ayak spreyleri ve tozları (%2)
- Tıraş ürünleri (% 2)
- Ağda sonrası tedaviler (%2)
- Deodorantlar (%2) [28].

Avrupa Komisyonu'nun kozmetik ürünlerin içerikleri ile ilgili olarak oluşturduğu Kozmetik İçerikler veritabanı (Cosing), kozmetiklerde oksijen nedenli bozulmalara karşı antioksidan olarak ve parfüm veya aromatik hammadde olarak kullanılmasını önermektedir [29].

Çay ağacı yağı öncelikle topikal uygulama için kullanılır. Etkili topikal tedavi için gerekli konsantrasyon konusunda halen çelişkiler mevcuttur. % 3, % 5 ve % 10'luk çay ağacı yağı formülasyonlarının, çoğu durumda yeterli olduğu görülmüştür. Çay ağacı yağından imal

edilmiş ürün bulunmayan ülkelerde, merhemler içerisine karıştırılmak suretiyle çay ağacı yağından hazırlanmış olan majistraller reçetelenebilmektedir. Antiseptik ve dezenfektan amaçlı olarak, Avustralya Terapötik Ürünler Yasası % 5 çay ağacı yağı reçetelerine izin vermektedir. Deneysel ve kayıt dışı oral uygulamalarda, örn. Kronik tekrarlayan bazı genitoüriner enfeksiyonlarda, 0,025-0,05 (-1) ml hacimde çay ağacı yağı kullanılmıştır. Sistematik bir değerlendirme yoktur ve bu uygulama ile ilgili son derece sınırlı veri mevcuttur [26].

Çay ağacı yağının 10 pratik kullanımı

Akne: Etkilenen bölgeye gerektiği kadar çay ağacı yağı sürülür. Akneye neden olan bakteri birikimini önlemek için yüz temizleyicisine birkaç damla eklenir.

Ayak mantarı: Ayakta etkilenen bölgeye iki üç damla çay ağacı yağı sürülür. Ilık su içerisine 5-10 damla çay ağacı yağı eklenir, hazırlanan solüsyonun içinde ayak bekletilir.

Soğuk algınlığı: Göğüs ve burun tıkanıklığını gidermek için bir difüzıra yaklaşık 10 damla çay ağacı yağı eklenir.

Uçuk: Çay ağacı yağı günde iki kez doğrudan ağrılı kısma uygulanır.

Baş biti: 28 g. şampuan için 5 damla çay ağacı yağı ekleyip ıslak saça masaj yapılır. 10 dk. bekletilip, durulanılır. Bitler ve yumurtalar bitene kadar hergün tekrarlanır.

Böcek ısırığı: Şişlik, kaşıntı ve kızarıklığı hafifletmek için bir veya iki damla çay ağacı yağını doğrudan böcek ısırığı veya sokması üzerine uygulayın.

Dermatit/egzema: Cilt üzerine küçük bir alana yağ sürülerek ciltte irritasyon yapıp yapmadığı test edilir. İrritasyon olmazsa etkilenen bölgeye yağ sürülür. Temizlemek için, 1/4 fincan ılık suya 10 damla yağdan ekleyerek bir solüsyon yapılır ve temiz bir pamuklu bez veya kuru bir bezle sabah ve gece etkilenen bölge yıkanır.

Kulak enfeksiyonu: 1/4 fincan ılık zeytinyağına 5 damla çay ağacı yağı karıştırılır. Başı bir tarafa doğru eğerek kulağa küçük bir miktar damlatılır. Bir kulak pamuğu ile kulak içine uygulanılır. Gerektiğinde tekrarlanır.

Kesikler & yaralar: Antiseptik bir yıkama solüsyonu olarak bir fincan ılık suya 10 damla çay ağacı yağı eklenir.

Kepek: Şampuan şişesine 20 damla çay ağacı yağı eklenir, karıştırılır veya saçınızı yıkamak için avuç içine alınan şampuana üç damla karıştırılıp, kullanılır [30].

2.3.1. Çay ağacı yağı ve aromaterapi

Aromaterapi, bitkilerin tamamen organik olan yaprağı, kökü ve çiçeğinden distilasyon tekniği ile elde edilen uçucu yağları kullanarak hastalıkları önlemek veya oluşmuş hastalıklarda vücudun bağışıklığını güçlendirerek kendi savunma sistemini desteklemek için kullanılan bir tekniktir. Aromaterapi yeni bir konsept gibi algılansa da çok eski çağlarda, tıp biliminin kurucuları tarafından keşfedilmiş ve literatüre geçmiş oldukça eski bir tıbbi yöntemdir [31].

1936'da Fransız kimyacı Gattefosse tarafından aromaterapinin ilk temelleri atılmıştır. Gattefosse, laboratuvarında yaptığı bir deney esnasında kaza ile elini yakmış (gaz lambası ile), o sırada elinde bulunan şişeden dökülen lavanta yağının elini süratle iyileştirdiğini fark etmiştir. İşte bu tarihten sonra aromaterapi ile ilgili çalışmalara daha fazla ağırlık verilmiştir ve gittikçe önemi artmıştır [32].

Aromaterapi, kullanılan uçucu yağ veya yağ karışımına göre çok çeşitli fiziksel ve ruhsal faydalar sağlar. Aromaterapide kullanılan uçucu yağlar; analjezik, antimikrobiyal, antiseptik, iltahap önleyici, doku ve damarları sıkılaştırıcı, yatıştırıcı, spazm çözücü ve idrar söktürücü özelliklere sahiptir [31].

Çizelge 2.8. Çay ağacı yağı içeren bazı Aromaterapi formülasyonları [7]

Etki	Doz	Kullanılış
Aft ve uçuk	2-3 damla	Kulak pamuğuna damlatılıp 15 sn. süreyle atuşman şeklinde uygulanılır. Günde 3-4 kez. Uçucu yağ yutulmamalı
Akne	2-3 damla	Kulak pamuğuna damlatılıp 15 sn. süreyle atuşman şeklinde uygulanılır. Günde 2-3 kez.
Atlet ayağı	2-3 damla	Kulak pamuğuna damlatılıp 15 sn. süreyle atuşman şeklinde uygulanılır. Günde 3-4 kez.
Ayak terlemesinde	10 damla çay ağacı yağı, 8 damla selvi uçucu yağı	Uçucu yağ karışımı sıcak suya konulur ve ayaklar içine ayağın tamamını kaplayacak şekilde sokulur. 15 dk. bekletilir.
Boğaz ağrısı ve ses kısıklığı	3-4 damla	Su dolu bir çay bardağına eklenir gargara yapılır. Günde 3-4 kez tekrarlanır. Yutulmamalı.

Çizelge 2.8. (devam) Çay ağacı yağı içeren bazı Aromaterapi formülasyonları [7]

Etki	Doz	Kullanılış
Diş ağrısı	3 damla çay ağacı yağı, 3 damla nane uçucu yağı	Su doldurulmuş yarım veya dolu bir çay bardağına yağlar ilave edilir. Ağız yıkama suyu şeklinde kullanılır.
Ağız kokusu	5 damla çay ağacı yağı, 1 damla tıbbi papatya uçucu yağı veya 1 damla nane uçucu yağı	Bir çay bardağı ılık suya uçucu yağlar eklenir ve ağız yıkama suyu şeklinde kullanılır.
Saç egzeması ve kepek	80 damla çay ağacı yağı, 80 damla selvi uçucu yağı	200 ml. organik şampuan içine ilave edilir.
Vajinal mantar enfeksiyonu	5 ml. çay ağacı yağı	100 ml. distile su içine uçucu yağ eklenir, haricen yıkama işlemi uygulanır.
Yatak yaraları	2 ml. çay ağacı yağı, 2 ml. Lavanta uçucu yağı 50 ml. sarı kantaron yağı içinde çözülür.	Karışım günde birkaç kez enfekte olmuş bölgeye uygulanır.

2.4. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

2.4.1. *In vitro* çalışmalar

Antibakteriyal aktivite

Carson, Cookson, Farrelly ve Riley (1995), çay ağacı yağının 66 *Staphylococcus aureus* izolatu üzerindeki etkisini disk difüzyonu ve modifiye Broth mikrodilüsyon yöntemleri ile test etmişlerdir. Test edilen izolatların 64'ünün metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve 33'ünün de mupirosine dirençli olduğu tespit edilmiştir. 60 Avustralya izolatu için Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) ve Minimum Bakterisit Konsantrasyonu (MBK) sırasıyla % 0,25 ve % 0,50 (h/h) olarak hesaplanmıştır. Bu *in vitro* sonuçlar çay ağacı yağının MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde yararlı olabileceğini düşündürmüştür [33].

Çay ağacı yağının, *Staphylococcus aureus* [MRSA ve metisilline hassas (MSSA)] ve koagülaz-negatif *Staphylococcus* türlerine (CoNS) karşı etkisi, broth mikrodilüsyon ve kantitatif *in vitro* zamana bağlı öldürme testleri kullanılarak test edilmiştir. Çay ağacı yağı MRSA ve MSSA izolatlarına karşı, hem MİK hem de MBK değerleri göz önüne alındığında CoNS izolatlarından belirgin olarak daha az hassas bulunmuştur. Kantitatif *in vitro* zamana bağlı öldürme testinde, her zaman aralığında kontrolle kıyaslandığında tüm izolatların ortalama canlı sayısında önemli bir azalma görülmüştür. Ayrıca, MSSA ve MRSA izolatları tarafından oluşturulan biyofilmler, 1 saat süreyle %5'lik çay ağacına maruz bırakıldıktan sonra tamamen yok olmuştur. Buna karşılık, test edilen dokuz CoNS izolatının oluşturduğu biyofilmlerin sadece beşi tamamen öldürülmüş, diğer dört izolat için sayımda bir azalma görülmüştür. Bu sonuçlar, çay ağacı yağının biyofilm oluşturan MRSA ve MSSA izolatlarına karşı, biyofilm oluşturan CoNS izolatlarına kıyasla daha büyük bir bakterisidal aktivite sergilediğini göstermiştir [34].

Piyasada antimikrobiyal etkisi olduğu bilinen lavanta, çay ağacı ve limon yağı gibi uçucu yağların ve sentetik preservative etkili maddeler olan 1,3-dimetil-ol-5,5-dimetilhidantoin ve 3-iyodo-2-propinil butil karbamat karışımları ile hazırlanmış olan kombinasyonların etkinlikleri İmpedimetrik bir yöntemle karşılaştırılmıştır. Etkinin değerlendirilmesinde; *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Candida* sp. LOCK 0008 ve *Aspergillus niger* ATCC 16404 mikroorganizmaları kullanılmıştır. Test edilen mikroorganizmaların seçilmiş uçucu yağlara duyarlılıklarının çok farklı oldukları tespit edilmiştir. MİK değerlerinin; *Pseudomonas aeruginosa* için %0,10, *Aspergillus niger* için %0,02-0,04, *Staphylococcus aureus* için %0,04-0,05 ve *Candida* türleri için %0,03-0,04 arasında değiştiği görülmüştür. MİK değerleri göz önüne alındığında hazırlanan uçucu yağ kombinasyonlarının sıralaması; Çay ağacı yağı> lavanta yağı> limon yağı şeklinde olmuştur. Mikroorganizmaların duyarlılığı ise; *Aspergillus niger*> *Candida* sp.> *Staphylococcus aureus* > *Pseudomonas aeruginosa* şeklinde tespit edilip, maya ve küflerin bakterilerden daha duyarlı oldukları görülmüştür. Sonuçta, kozmetik ürünlerde sentetik preservative maddelerin yerine uçucu yağların da aynı amaçla kullanılabilecekleri düşünülmüştür [35].

Çay ağacı yağının antibakteriyal etki mekanizması [15]

Streptococcus aureus, Potasyum iyon sızıntısı ve solunum inhibisyonu. Sodyum klorüre karşı artan hassasiyet ve morfolojideki değişim *Escherichia coli*, Potasyum homeostazında, glukozu bağlı solunum ve morfoloji üzerinde zararlı etkiler,

Pseudomonas aeruginosa, çay ağacı yağı ve bileşenlerinin yüksek konsantrasyonuna karşı toleranslıdır. Bu durum mikroorganizmanın dış zar bütünlüğü ile ilişkilidir.

Çizelge 2.9. Çay ağacının çeşitli bileşenlerinin etki gösterdikleri mikroorganizmalar [15]

Bileşen	Mikroorganizma
Terpinolen 1,8-Sineol	– <i>Staphylococcus epidermidis</i> (G ⁺), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (G ⁻), <i>Salmonella typhimurium</i> (G ⁻)
α -Terpinen	–
γ -Terpinen	–
p- simen	–
Terpinen-4-ol	<i>Streptococcus pyogenes</i> (G ⁺), <i>Streptococcus gordonii</i> (G ⁺), MRSA <i>Fusobacterium nucleatum</i> (G ⁻), <i>Prevotella intermedia</i> (G ⁻), <i>Porphyromonas gingivalis</i> (G ⁻)

Çizelge 2.9. (devam) Çay ağacının çeşitli bileşenlerinin etki gösterdikleri mikroorganizmalar [15]

Bileşen	Mikroorganizma
α -Terpineol	<i>Streptococcus gordonii</i> (G ⁺), <i>Fusobacterium nucleatum</i> (G ⁺), <i>Prevotella intermedia</i> (G ⁻), <i>Porphyromonas gingivalis</i> (G ⁻)
Limonen	–
Sabinen	<i>Streptococcus pyogenes</i> (G ⁺), <i>Streptococcus mutans</i> (G ⁺), <i>Streptococcus sanguinis</i> (G ⁺), <i>Streptococcus sobrinus</i> (G ⁺), <i>Streptococcus criceti</i> (G ⁺)
Aromadendren	–
δ -Kadinen	–
Globulol	–
Viridiflorol	<i>Prevotella intermedia</i> (G ⁻)
α -Pinen	<i>Porphyromonas gingivalis</i> (G ⁻)
Leden (sinonimi viridifloren)	–

G⁺ = Gram pozitif; G⁻ = Gram negatif

Sonuç olarak özetlemek gerekirse; çay ağacı yağının %0,003-8 h/h MİK değeri ile antimikrobiyal etki gösterdiği mikroorganizmaların isimleri aşağıda verilmiştir [11];

Acinetobacter baumannii, *Actinomyces viscosus*, *Bacillus cereus*, *Bacteroides* spp., *Corynebacterium* spp., *Enterococcus faecalis*, *E. faecium* (vankomisin dirençli), *Escherichia coli*, *Fusobacterium nucleatum*, *Klebsiella pneumoniae*, *Lactobacillus* spp., *Micrococcus luteus*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Porphyromonas endodontalis*, *P. gingivalis*, *Prevotella* spp., *Prevotella intermedia*, *Propionibacterium acnes*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *S. aureus* (metisillin dirençli), *S. epidermidis*, *S. hominis*, *Streptococcus pyogenes*, *Veillonella* spp., *Alternaria* spp., *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. Niger*, *Blastoschizomyces capitatus*, *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *Epidermophyton floccosum*, *Fusarium* spp., *Malassezia furfur*, *M. sympodialis*, *Microsporum canis*, *M. gypseum*, *Penicillium* spp., *Rhodotorula rubra*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Trichophyton mentagrophytes*, *T. rubrum*, *T. tonsurans*, *Trichosporon* spp., *Enterococcus faecalis*, *C. tropicalis*, *Cladosporium* spp., *Cryptococcus neoformans*

Tolere edilebilirlik ve direnç

Antibiyotikler, diğer mikroorganizmaların büyümesini engelleyen veya öldüren mikroorganizmaların ürettiği kimyasal maddelerdir. Mikroorganizmaların kolayca

antibiyotiklere direnç geliştirdiği görülmüştür.  ay ağacı yağının antibakteriyel özelliği için kanıtlar literatürde mevcuttur. Bu yüzden antibiyotiklere iyi bir alternatif olarak düşünülebilir.

Araştırmacılar,  ay ağacı yağının çeşitli bakterilere karşı tepkisini araştırmış ve sonuçlar *P. aeruginosa*'nın %2-8'lik çay ağacı preparatlarına tutarlı bir şekilde azalmış duyarlılık sergilediğini, diğer bakterilerin % 0,06 ile 0,5 arasında değişen bir konsantrasyona duyarlı olduklarını göstermiştir [36].

Antifungal aktivite

 ay ağacı yağının *in vitro* antifungal aktivitesinin; 26 adet Dermatofit, 32 adet *Candida albicans* ve 22 adet farklı *Malassezia furfur* suşuna karşı değerlendirildiği bir çalışmada, çay ağacı yağının M K değerleri, agar dilüsyon yöntemi ile tespit edilmiştir.  ay ağacı yağının bütün klinik mantar izolatlarının büyümesini inhibe ettiği görülmüştür. İncelenen dermatofitlerde, M K değerleri ortalama olarak 1,431  g/ml olarak tespit edilmiştir. Hem *C. albicans* suşlarının hem de *Candida* ve *Trichosporon* cinsine ait diğer suşların, *in vitro* ortamda çay ağacı yağına karşı daha az duyarlı oldukları görülmüştür. Bu suşlara karşı çay ağacı yağının ortalama M K değerlerinin 2,225 ila 4,450  g/ml olduğu bulunmuştur. *M. furfur*'un, çay ağacı yağına en duyarlı suş olduğu (M K 556,2-4,450  g/ml) da tespit edilmiştir. Mikonazol' n referans ilaç olarak kullanıldığı çalışmada çay ağacı yağı merheminin, cilt ve mukoza mantar enfeksiyonlarının tedavisinde olduğu gibi kepek ve hafif bir seboreik dermatit tedavisinde antifungal etkisi nedeniyle  onerilebileceği sonucuna varılmıştır [37].

Hammer, Carson ve Riley (2003),  ay ağacı yağının antifungal aktivitesini Broth mikrodilüsyon ve makrodilüsyon, zamana bağlı öldürme yöntemlerini kullanarak incelemişlerdir.  ay ağacı yağının bileşimindeki maddelerin (terpinen-4-ol,  -terpineol, linalol,  -pinen,  -pinen ve 1,8-sineol) minimum inhibitör ve minimum fungusidal konsantrasyonları %0,25'den az bulunmuştur. Diğer bileşenlerin, %0,5-2 arasında değişen aktiviteler gösterdikleri,  -mirsen'in ise herhangi bir antifungal aktivite göstermediği tespit edilmiştir [38].

Çay ağacı yağı oral kandidiasis üzerindeki etkileri yönünden, *Candida albicans* ATCC 18804 mikroorganizmasına karşı test edilmiştir. Yapılan *in vitro* deneylerde çay ağacı yağının MİK değeri %0,195; minimum biyofilm yok etme konsantrasyonu ise %12,5 olarak tespit edilmiştir. Çalışma daha sonra, immün sistemi süprese edilmiş farelerde *in vivo* olarak da yapılmıştır. Çay ağacı yağının minimum biyofilm yok etme konsantrasyonu hayvanların kandidiasisli dillerine %1 Tween 80 içinde çözüldükten sonra dilin sırt kısmına 10 dk. ara ile 3 kez 50 µl. hacimde pipet ile uygulanmıştır. Bir gün sonra hayvanlara ötenazi yapılmış ve dil dokusunun taramalı elektron mikroskopisi ile yapılan morfolojik analizinde, önemli miktarda yara alanında azalma tespit edilmiştir [39].

Sharma ve Edge'de (2014), aynı şekilde diş protezinin yumuşak astarına çay ağacı yağı ve flukonazol emdirerek yaptıkları çalışmada, çay ağacı yağının MİK değerini %30 (a/a), Flukonazol'un MİK değerini ise %5 (a/a) olarak tespit etmişlerdir. Aynı konsantrasyonda flukonazol 7 gün sonra aktivitesini kaybederken, çay ağacı yağının aktivitesinde herhangi bir değişiklik olmamıştır [40].

Candida albicans'ın diş protezlerinin yumuşak astarlarına yapışması ve kolonizasyonu protez stomatitinin gelişiminde en önemli faktördür. Bir *in vitro* çalışmada da, çay ağacı yağı emdirilmiş diskler diş protezlerinin yumuşak astarlarının içine sokularak kandidiasisteki etkileri incelenmiştir. Çalışma, çay ağacı yağının protez yumuşak astarına eklenmesi ile *C. albicans*'ın büyümesinin önemli ölçüde azalttığı ve protez stomatiti için yeni bir intra-oral etkili antifungal tedavi şekli olabileceği sonucunu ortaya koymuştur [41].

Dalwai, Rodrigues, Baliga, Shenoy, Shetty, Pai ve Saldanha (2016), flukonazol, klorheksidin glukonat ve çay ağacı yağını karşılaştırmalı olarak çalışmışlardır. Çay ağacı yağı ve klorheksidin glukonat, ısıyla polimerize edilmiş akrilik reçine üzerinde *C. albicans*'ın büyümesinin inhibisyonunda flukonazolden daha etkili bulunmuştur [42].

Antifungal etki mekanizması;

Yapılan antifungal aktivite sonuçları birçok maya, dermatofit ve diğer filamentous mantarın çay ağacı yağına duyarlı olduğunu göstermiştir.

1. Çay ağacı yağı *Candida albicans*, *C. glabrata* ve *Saccharomyces cerevisiae*'nin mantarının hücre geçirgenliğini değiştirir. Bu mekanizmayı şöyle açıklayabiliriz; çay ağacı yağı, *C. albicans*, *C. glabrata* ve *Saccharomyces cerevisiae*'nin neden olduğu glukoz-nedenli vasatın asitleşmesini inhibe etmektedir. Vasatın asitleşmesi, mantarın mitokondrisi tarafından türetilen ATP tarafından beslenen plazma zarı ATPaz enzimi tarafından ortaya çıkarılan protonlar sayesinde gerçekleşir. Bu fonksiyonun inhibisyonu, plazma ve/veya mitokondriyal zarların olumsuz yönde etkilendiğini gösterir. Bu sonuçlar, önerilen antifungal etki mekanizmasıyla tutarlıdır; çay ağacı yağı, mantar zarlarının işleyişinde değişikliklere veya hasara neden olur.
2. *C. albicans*'ın solunumunu doz bağımlı olarak inhibe eder ve morfolojisinde tersinir inhibisyon oluşturur.
3. Çay ağacı yağı, *C. albicans*'ta germ tüplerinin oluşumunu veya misel dönüşümünü inhibe eder [15, 17].

Antimikrobiyal aktivite için formülasyon çalışmaları

Çay ağacı yağının ve bileşenlerinin antimikrobiyal aktivitesi, *in vitro* olarak ve kullanıldığı lipit bazlı kişisel bakım formülasyonlarında incelenmiştir. Çay ağacı yağı, %0,2 (*Saccharomyces cerevisiae* ve *Pythium sulcatum* için), %0,4 (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* ve *Rhizopus stolonifer* için) ve %0,8 (*Botrytis cinerea* için) MİK değerlerinde antimikrobiyal etki göstermiştir. Çay ağacı yağı %0,08-0,8'lik MİK değerleri ile parabenler kadar etkili görülmüştür. Yağın bileşenleri karşılaştırıldığında ise terpinen-4-ol ve γ -terpinen'in mikrobiyal büyümeyi önlemede en etkili bileşenler olduğu tespit edilmiştir. Lipit bazlı bir kişisel bakım ürünüde çay ağacı yağının aktivitesi, hava ve suya maruz kalma, yapay aşılama ve raf ömrü çalışmaları ile değerlendirilmiştir. Yağ, açılmamış ürünlerin raf ömrünü arttırmazken, suya ve havaya maruz kalan ürünlerdeki mikroorganizma sayılarını azaltmıştır. Bu çalışmanın sonuçları çay ağacı yağının antimikrobiyal aktivitesinin, bileşenlerinin değişen seviyelerine bağlı olabileceğini ve düşük konsantrasyondaki çay ağacı yağının ürünlerde kullanımının mikroorganizma gelişimini azaltmada etkili olabileceğini düşündürmüştür. Sonuç olarak, çay ağacı yağının yağ bazlı bir formülasyon için uygun bir koruyucu sistem olarak kullanılabileceği öne sürülmüştür [43].

Sgorbini, Cagliero, Argenziano, Cavalli, Bicchi ve Rubiolo (2017), çay ağacı yağını farklı konsantrasyonlarda içeren çeşitli yarı katı formülasyonlarda (krem, merhem, jel) yağın işaretleyici bileşiklerinin geçirgenlik ve salıverme kinetiğini araştırmışlardır. *In vitro* permeasyon ve salım testleri, farklı zamanlarda (10 dk. ila 50 saat arasında) sentetik Franz ve domuz derisi membranlı dikey Franz difüzyon hücrelerinde yapılmıştır. Çalışmada hem toplam uçucu yağ hem de uçucu yağın biyolojik aktivitelerinden sorumlu olduğu bilinen bazı seçilmiş işaretleyici madde miktarları (1,8-sineol, 4-terpineol ve α -terpineol) incelenmiştir. *In vitro* salım ve geçirgenlik testlerinin sonuçları, salınan miktarın önemli ölçüde farklılık göstermesine rağmen, tüm bileşiklerin aynı kinetik profillere sahip olduklarını göstermiştir. İşaretleyici madde miktarları, Kafa Boşluk Katı-Faz Mikroekstraksiyon-GC-MS yöntemi ile tespit edilmiştir [44].

Brezilya'da soya fasulyesi, ülke genelinde yetişen başlıca tahıldır. Üretimi için nematodların neden olduğu hastalıklar, özellikle *Meloidogyne* sp., soya fasulyesi için büyük tehlikedir. Bu hastalıktan soya fasülyesini korumak ve kontrol altında tutmak için yeni alternatifler bulmak amacıyla, çay ağacı yağı içeren katı lipid nanotaşıyıcılar test edilmiştir. Hem saf uçucu yağın hem de nanoyapılı formunun, *in vitro* ve *in vivo* nematisit potansiyeli farklı zamanlarda değerlendirilmiştir. Denenen tüm konsantrasyonlarda hem saf uçucu yağın hem de nanoyapılı formun, nematisit aktiviteye sahip olan Abamektin kadar etkili olduğu bulunmuştur [45].

Çay ağacı yağından hazırlanan aljinat kalsiyum mikrokapsüllerden uçucu yağın salım davranışları incelenmiştir. Kapsüllenmiş bir arada var olan sıvı ve buhar fazlarından oluşan bir model sistem için farklı sıcaklıklardaki salım hızları ölçülmüştür. Bu model sistem için; uçucu yağın geleneksel mikrokapsül sistemlerinde görülen ve kabaca sabit bir salıverme olarak kabul edilen üssel-tür salıvermeden çok daha üniform olan bir polinom tip salıverme gösterip göstermeyeceğidir öngörülmüştür [46].

Çay ağacı yapraklarından hazırlanan sulu ekstre gümüş nanopartikül formülasyonu haline getirilmiş ve çay ağacı yağı ile birlikte antimikrobiyal MRSA (RCMB 01001945), *Staphylococcus aureus* (RCMB 010027), *Staphylococcus epidermidis* (RCMB 010024), *Streptococcus pyogenes* (RCMB 010015), *Pseudomonas aeruginosa* (RCMB 010043), *Klebsiella pneumoniae* (RCMB 0010093), *Candida albicans* (RCMB 05035) ve *Trichophyton mentagrophytes* (RCMB 0925))'e karşı aktiviteleri karşılaştırılmıştır.

Kullanılan uçucu yağın ana bileşenleri GC/MS tekniği ile terpinen-4-ol, limonen, γ -terpinen, α -terpinen, sineol ve α -terpinolen olarak belirlenmiştir. Biyoaktivite sonuçları, hem uçucu yağın hem de gümüş nanopartikül formülasyonunun test edilmiş suşlara karşı güçlü antimikrobiyal etkilere sahip olduğunu göstermiştir. Transmisyon Elektron Mikroskopisi ile gümüş nanopartiküllerin bakteriyel hücrelerin etrafında ve içinde toplandığını, net bir biyosidal etki olarak normal hücre yapısında bozulmalar olduğu tespit edilmiştir. Çay ağacı yağı ve sulu ekstresinden hazırlanmış olan gümüş nanopartikül formülasyonları seçilen cilt patojenlerine karşı iyi antimikrobiyal aktivite göstermiş ve tekli ajanlar halinde veya nanoemülsiyon kombinasyonları şeklinde tedavide ucuz alternatifler olarak kullanılabileceği öngörülmüştür [47].

Antioksidan aktivite

Çay ağacı yağının antioksidan aktivitesi, iki farklı deney kullanılarak belirlenmiştir. 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil deneyinde, metanolde hazırlanmış 10 mikrol/ml konsantrasyondaki çay ağacı yağı %80 oranında serbest radikal süpürücü etki göstermiştir. Heksanal/heksanoik asit deneyinde ise 200 mikrol/ml konsantrasyonda hazırlanmış çay ağacı yağı 30 günde heksanalın heksanoik asite olan oksidasyonunu %60 oranında inhibe etmiştir. Bu sonuçlar aynı deney koşullarında her iki testte de 30 mM bütillenmiş hidroksitoluen'in antioksidan aktivitelerine eşdeğer bulunmuştur. Sonuçlar, çay ağacı yağının iyi bir alternatif antioksidan olabileceğini göstermiştir. Ham çay ağacı yağı içindeki doğal antioksidanlar, yani α -terpinen, α -terpinolen ve γ -terpinen, silika jel açık kolon kromatografisi, C(18) yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ve GC-MS yöntemleri kullanılarak kromatografik olarak izole edilmiş ve tanımlanmıştır. Bu maddelerin antioksidan aktiviteleri her iki testte de aşağıdaki sırayla azalmıştır: α -terpinen > α -terpinolen > γ -terpinen [48].

Antiviral aktivite

Çay ağacı yağının antiviral aktivitesi ilk olarak Bishop (1995) tarafından, tütün mozaik virüsüne karşı rapor edilmiştir. *Nicotiana glutinosa* ile enfekte olmuş bitkilere, çay ağacı yağı 100, 250 ve 500 ppm. konsantrasyonlarda püskürtüldükten en az 10 gün sonra mikroorganizmanın neden olduğu lezyonların sayısında azalma meydana gelmiştir [49,50].

Schnitzler, Schön ve Reichling (2001), çay ağacı yağının Herpes Simplex Virus 1 (HSV-1) ve HSV-2'ye karşı güçlü virüsidal aktiviteye sahip olduğunu ve konakçı hücreye nüfuz ettikten sonra değil adsorpsiyon öncesi veya sırasında virüsü etkilediğini göstermiştir [51]. Çay ağacı yağının, insan papilloma virüsünün (HPV) neden olduğu el siğillerinin tedavisinde de etkili olduğu, enfekte bölgenin epitelizasyonunu tamamen kolaylaştırdığı gösterilmiştir [52].

Çay ağacı yağının antiviral etki mekanizması

Influenza A/PR/8 virus subtype H1N1, intralizozomal asidifikasyon nedeniyle virüsün kaplanmasının inhibisyonunu sağlar [15].

Antiprotozoal aktivite

Çay ağacı yağının insan HL-60 hücre hatlarında, *Leishmania major* promastigotları ve *Trypanosoma brucei* üzerindeki etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada, yağın bileşimindeki terpinen-4-ol'ün HL-60 hücre hatları ile karşılaştırıldığında *Trypanosoma brucei*'ye karşı 100 kat daha toksik olduğu tespit edilmiştir. Uçucu yağın kendisi ise 50 ila 80 kat daha fazla toksik etki göstermiştir [53].

2004 yılında yapılan bir çalışmada, %5'lik çay ağacı formülasyonunun ve aktif içeriği terpinen-4-ol'ün, *Sarcoptes scabiei* var. *hominis* isimli protozoa türüne karşı olan etkileri incelenmiştir. Bu protozoanın lindan, krotamiton, benzil benzoat, %5 permetrin ve oral ivermektin tedavilerine karşı direnç göstermesi yeni antiprotozoal etkili ilaçların keşfini gündeme getirmiştir. Çalışmada terpinen-4-ol bu türlerin tümünü 11,5 saatte öldürürken %5'lik çay ağacı formülasyonu 3 saatte öldürmüştür. Protozoaların ortalama hayatta kalma süreleri; %2,1 terpinen-4-ol içeren formülasyon için 35 dk., %5 çay ağacı formülasyonu için 60 dk., %5'lik permetrin çözeltisi için 120 dk. ve ivermektin (100 µg/g) için 150 dk. olarak tespit edilmiştir. Sonuçlar; çay ağacı yağının yeni bir topikal akarisit olabileceğini ve terpinen-4-ol'ün başlıca aktif bileşiği olduğunu göstermiştir [54].

Başka bir çalışmada, 300 mg/ml konsantrasyonda çay ağacı yağı tüm *Trichomonas vaginalis* organizmalarını öldürmüştür. Ayrıca, *T. vaginalis* enfeksiyonlarının tedavisinde etkili olabileceğine dair *in vivo* kanıtlar da vardır [17].

Başka bir çalışmada, baş bitlerine karşı alternatif bir tedavi olarak çeşitli preparatlara çay ağacı yağı ilave edilmiş ve bu bitlerdeki öldürücü etkisinin antikolinesteraz aktivitesine bağlı olduğu varsayılmıştır. Çay ağacı yağının piretrin-bazlı ürünlere alternatif olarak kullanılabileceği düşünülmüştür [52].

Demodex üzerine etkisi

MGO™ Manuka bal ve çay ağacı yağının oküler Demodex üzerinde *in vitro* antiprotozoal etkilerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, blefarit ve semptomatik kuru göz problemi olan 9 hastanın epilasyonlu kirpiklerinden 52 canlı Demodex akarı izole edilmiştir. Akarlar 5 deney grubuna bölünmüştür; siklodekstrin Manuka Bal kompleksi, Manuka Bal, %100 çay ağacı yağı, %50 çay ağacı yağı ve kontrol grubu. Tedavi uygulamasının ardından 240 dk. boyunca, akarların canlılığı, uzuv ve vücut hareketleri ve/veya görünümündeki değişiklikler değerlendirilmiştir. Değerlendirmelerin sonucunda, siklodekstrin Manuka Bal kompleksinin oküler Demodex akarlarına karşı etkinliğinin, konvansiyonel bir tedavi olan % 50 çay ağacı yağı ile karşılaştırılabilir olduğu ve Demodex nedenli blefarit hastaları için yeni bir tedavi alternatifi olabileceğini düşündürmüştür [55].

İnsektisidal aktivite

Dermestes maculatus, Mısır mumyalarına zarar veren bir haşere türüdür. Etanol içinde çözülen çay ağacı yağı farklı konsantrasyonlarda (100, 200, 400, 800, 1000 ve 1600 mg/g), *D. maculatus* larvalarına uygulanmış ve farklı zamanlarda (1, 3, 6, 12 saat, 1, 2, 3 ve 4 gün sonra) mortalite oranları ölçülmüştür. Çalışmanın sonucunda, çay ağacı yağının 4. evre *D. maculatus* larvalarında aktif (1600 mg/g) olduğu tespit edilmiştir [56].

Sitotoksik aktivite

Çay ağacı yağının ve ana oksijenli monoterpenlerinin (terpinen-4-ol, 1,8-sineol ve α -terpineol) sitotoksik aktiviteleri, (3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-5-(3-karboksimetoksifenil)-2-(4-sülfofenil)-2H-tetrazolyum (MTS) yöntemi kullanılarak 5 farklı adet insan hücre hattında (HepG2, MOLT-4, CTVR-1, K-562 ve HeLa) test edilmiştir. Çalışmada sitotoksik aktivite sonuçları; α -terpineol>çay ağacı yağı>terpinen-4-ol>1,8-sineol olarak sıralanmıştır. Kullanılan pozitif kontrollerle çay ağacı yağının sitotoksik aktivitesi

karşılaştırıldığında; merkürü kloritten daha az fakat aspirinden daha fazla etki gösterdiği tespit edilmiştir. HepG2 hücre hatlarında çay ağacı yağının IC₅₀ değeri 0,02 g/l, HeLa hücre hatlarında ise 2,8 g/l olarak hesaplanmıştır [57].

Çay ağacı yağı ve ana aktif bileşeni terpinen-4-ol, M14 WT melanom hücre hatlarında kaspaz-nedenli apoptozise neden olmuşlardır. Bu etki, M14 ADR (adrenomisin-dirençli) hücre hattında daha belirgin olarak görülmüştür. Çay ağacı yağı ve terpinen-4-ol bu etkiyi, plazma membranı ile etkileşimleri ve membran lipidlerini yeniden organize etmeleri ile ortaya çıkartmışlardır. Başka bir çalışmada da, çay ağacı yağı ve terpinen-4-ol'un murin tümör hücre hatları, AE17 mezotelyoma ve B16 melanoma hücre hatlarında da antikanser aktivitelere neden oldukları gösterilmiştir. Bu etkilerin, G1 hücre döngüsünün durdurulması ile ortaya çıktığı düşünülmüştür [58, 59].

Gıdalarla ilgili yapılmış antimikrobiyal aktivite çalışmaları

Sadekuzzaman, Rahaman Mizan, Kim, Yang ve Ha (2018), kekik ve çay ağacı yağlarının, seçilmiş gıda kaynaklı patojenlere karşı etkinliklerini biyofilm oluşturarak araştırmışlardır. Biyofilmler, abiyotik yüzeylerde *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella* spp. mikroorganizmaları tarafından oluşturulmuştur. Çay ağacı ve kekik yağına maruz bırakılan biyofilimde oluşan yapısal değişiklikler, saha emisyon taramalı elektron mikroskobu ile tespit edilmiş ve bir konfokal lazer tarama mikroskobu kullanılarak biyofilm hücrelerinin canlılığı gözlenmiştir. Genel olarak sonuçlar, çay ağacı ve kekik yağının biyofilmlerdeki gıda kaynaklı patojenleri azaltmak için kullanılabileceğini göstermiştir [60].

Penicillium expansum, meyvelerde hasara neden olabilen kozmopolit bir patojendir ve kontrolü için alternatif yöntemler araştırılmaktadır. Çay ağacı yağının *P. expansum*'a karşı antifungal etkisinin ve etki mekanizmasının açıklanmasına yönelik yapılan bir çalışmada; fungisidal/fungistatik *in vitro* olarak değerlendirilmiştir. Etki mekanizması ise; DNA, protein ve glukoz ekstravazasyonu, lipid hasarı, reaktif oksijen türlerinin birikimini tayin eden yöntemler kullanılarak araştırılmıştır. *In situ* olarak antifungal aktivitesi Fuji cinsi elmalar kullanılarak değerlendirilmiştir. *P. expansum* konidileri, çay ağacı yağı buharına farklı konsantrasyonlarda (0,125 g/l-1 g/l) ve farklı sürelerde (1-24 saat) maruz bırakılmıştır. Çalışmanın sonuçları çay ağacı yağının, hasat edilmiş olan elmalar üzerinde

gelişen mavi küf mantarlarına karşı GRAS kategorisinde de değerlendirilen bir yağ olarak güvenilir, alternatif bir fungusit olarak kullanılabileceğini göstermiştir [61].

Gıda endüstrisi, daha güvenli ve daha doğal gıdalar için gıdaları koruyacak ve tüketici talebini karşılamayı amaçlayan doğal maddelerin arayışı içindedir. Çalışmada, çay ağacı yağının *Listeria monocytogenes* ATCC 7644'e karşı antimikrobiyal etkisi değerlendirilmiştir. Katı fazda yapılan *in vitro* tarama çalışmasında, MİK ve MBK değerleri ile belirlenmiştir. Çay ağacı yağının, kıyma etinin korunmasında potansiyel bir doğal antimikrobiyal madde olarak kullanılabileceği ve düşük konsantrasyonda bile etkili olduğundan umut verici olduğu sonucuna varılmıştır [62].

Hasat sonrası üzümlerde *Aspergillus ochraceus* isimli mantar “çürüklük hastalığına” neden olmaktadır. Çay ağacı yağı ve bileşenlerinin bu mantara karşı inhibitör etkileri, taramalı elektron mikroskobu ve transmisyon elektron mikroskobu ve metabolik analiz ile değerlendirilmiştir. Çay ağacı yağının iki ana bileşeni, α -terpineol ve terpen-4-alkol, çay ağacı yağından daha yüksek antifungal etkiler sergilemiştir. Sonuçlar, çay ağacı yağındaki tüm bileşenlerin antifungal etkilere sahip olmadığını ve α -terpineol'ün, *A. ochraceus* inhibisyonunda en etkili bileşik olduğu tespit edilmiştir. Çalışma, α -terpineol'ün, üzümlerin ve diğer meyvelerin hasat sonrası depolanmasında alternatif bir doğal koruyucu olarak kullanılabileceğini göstermiştir [63].

Hayvan hastalıkları üzerindeki aktivite

Mikotik dermatitis ya da kutan Streptotrikoz adı verilen enfeksiyonun etkeni mantar benzeri, multimorfik bir yaşam siklusu olan *Dermatophilus congolensis*, Gram pozitif, fakültatif anaerob bir Actinomycetes'dir. Bu hastalığın tedavisi için çay ağacı yağının etkinliğinin belirlenmeye çalışıldığı bir çalışmada, Virginia'daki bir at çiftliğindeki atlardan streptorikoz olduğu düşünülen lezyonlarından mikroorganizmalar izole edilmiş, mikrobiyolojik ve genetik olarak organizmalar teyit edilmiştir. Minimum inhibitör konsantrasyon ve disk difüzyonu yöntemleri etkinliği test etmek için kullanılmıştır. Lezyonların *in vivo* rezolüsyonunu değerlendirmek için % 1 çay ağacı solüsyonu (bebek yağı içinde h/h) ve seçilen üç reçetesiz ilaç, lezyonlara uygulanmıştır. Çay ağacı yağı, *D. congolensis*'e karşı *in vitro* antimikrobiyal etki gösterirken ve *in vivo* olarak Streptotrikoz lezyonlarında belirgin iyileşme sağlamıştır [64].

2.4.2. *In vivo* çalışmalar

Hepatoprotektif aktivite

Mikotoksinler, gıda ve yem kaynaklarını kirleten ve çok çeşitli toksisitelere neden olabilen ve çeşitli mantar türleri tarafından üretilen sekonder metabolitlerdir. Bu problem, bitki kaynaklı proteinleri içeren balık yemlerinin kullanımını artması ile artmıştır. Mikotoksinler arasında aflatoksinler, bitki yemlerinde yaygın olarak görülme sıklıkları ve hayvanlar üzerindeki zararlı etkiler nedeniyle dikkat çekmektedir. Çay ağacı yağı ile takviye edilmiş balık yemleri ile beslenmenin, aflatoksinlerle kontamine olmuş yemle beslenen gümüş yayın balıklarında (*Rhamdia quelen*) meydana gelen toksisiteyi azaltıp azaltmayacağı yönünde bir çalışma yapılmıştır. Dört deneysel grup oluşturulmuştur. Birinci grup sadece balık yemi ile ikinci grup mikotoksin ile kontamine edilmiş balık yemi ile, üçüncü grup balık yemi ve çay ağacı yağı ile ve son grupta mikotoksin ile kontamine edilmiş balık yemi ve çay ağacı yağı ile beslenmiştir. Sadece mikotoksin ile kontamine edilmiş balık yemi ile beslenen hayvanların plazma ve karaciğerlerinde belirgin olarak azalan antioksidan enzimler (süperoksid dismutaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon S-transferaz) ve artan lipid peroksidasyon, protein karbonil, reaktif oksijen türlerinin içerikleri, aflatoksin alan gruplara çay ağacı yağının eklenmesi ile düzelmiştir. Bu nedenle, yemlerin çay ağacı yağı ile takviye edilmesinin mikotoksin toksisitesinin oluşturabileceği olumsuz etkileri azaltabileceği düşünülmüştür [65].

Yüzeyel kabarcık ve kızarıklıklardaki etkisi

Khalil, Pearce, Satkunanathan, Storer, Finlay-Jones ve Khalil (2004) tarafından çay ağacı yağının enflamatuar mikrovasküler değişiklikler üzerindeki etkisi, sıçan derisi üzerinde test edilmiştir. Çay ağacı yağında %2 oranında bulunan 1,8-sineol, duyuşal nöropeptidlerin neden olduğu vasküler değişiklikleri azaltmıştır. Yağın %40'ını oluşturan terpinen-4-ol duyuşal sinir tutulumu olmadan doğrudan nitrik oksit aracılı bir etki ile P madde nedenli mikrovasküler değişiklikleri ve protein ekstrasvasyonunu azaltmıştır. α -Terpineol ise hem pre- hem de post-duyuşal sinir uçlarını kontrol edebilmiştir. İçeriğindeki bu bileşenlerle yapılan çalışmaların sonuçları, bu uçucu yağın genellikle tip I alerjik acil aşırı duyarlılıklarla ilişkili histamin kaynaklı ödemi azaltarak yüzeyel kabarcık ve kızarıklıklarda etkili olduğunu göstermiştir [66].

Diğerleri

Çay ağacı yağının bağırsak mukozal immünitesi üzerindeki etkileri hakkında çok az şey bilinmektedir. 21 günlük doksan adet domuz yavrusu üzerinde yapılan *in vivo* bir çalışmada, yavrular rastgele 5 gruba ayrılmıştır; kontrol (CON, herhangi bir takviye içermeyen diet ile beslenir), antibiyotik destekli diyet ile beslenen grup (ANT) ve düşük, orta ve yüksek konsantrasyonda çay ağacı içeren tedavi grupları (50, 100 ve 150 mg/kg çay ağacı yağı eklenmiş diyet). Deneyden 21 gün sonra, çay ağacı yağı ile takviyeli diyet ile beslenmiş grubun günlük ortalama yem alımı ve sütten kesilmiş domuz yavrularının kilo alımında da artış gözlenmiştir. Sonuç olarak, çay ağacı yağı ile takviye edilmiş diyet ile beslenen sütten kesilmiş domuz yavrularının bağırsak mukozal bağışıklıklarından güçlenme görülmüştür. Ve bu etkinin antibiyotik ile takviye edilmiş diyet ile beslenen hayvanlarınkinle kıyasla daha güçlü olduğu tespit edilmiştir. Bu sonucun muhtemelen Neurogenic locus notch homolog protein 2'nin sinyalizasyonun aktivasyonunu ile ilgili olduğu ön görülmüştür [67].

2.4.3. Klinik çalışmalar

Akne vulgaris üzerindeki etkisi

Akne vulgaris tedavisinde, *Propionibacterium acnes*'i inhibe eden antibiyotikler kullanılmakla beraber antibiyotiklere dirençli suşların gelişimi bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Çay ağacı yağının geniş spektrumlu antimikrobiyal ve antienflamatuar etkilere sahip olduğunun tespit edilmesi, akne tedavisinde de kullanımının temelini oluşturmuştur. Çay ağacı müstahzarları, aknede cilt bakterilerinin kontrolü için topikal tedavi seçenekleri arasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Çeşitli çalışmalar akne vulgaris tedavisinde %5'lik çay ağacı yağının kullanılmasını önermektedir. Bassett, Pannowitz ve Barnetson (1990), 124 hastada hafif ve orta derecede akne tedavisinde %5'lik çay ağacı yağı jelinin etkinliğini %5 benzoil peroksit losyon ile kıyasladıkları tek kör bir klinik çalışma yürütmüşlerdir. Çay ağacı yağının etkisinin başlaması daha yavaş olmasına rağmen her iki uygulamada da enflamatuvar ve enflamatuvar olmayan oluşumları (açık ve kapalı komedonlar) azaltarak akne yaralarını önemli derecede iyileştirdikleri gözlenmiştir. Çay ağacı yağı ile tedavi edilen hastalarda daha az yan etki gözlenmiştir. İki

tedavi arasında fark olmaksızın her iki müstahzar ile 3 ay sonunda yaralar belirgin olarak iyileşmiştir [68].

Zayıf ve orta şiddette akne vulgarisi olan 60 hastada yapılan randomize, çift kör, kontrollü bir çalışmada gruplar iki eşit hasta sayısına sahip olacak şekilde bölünmüştür. Bir grup plasebo olarak değerlendirilirken diğer grup hastalara %5 çay ağacı yağı içeren jel kullanılmıştır. 45 gün süren çalışmada hastalar, her 15 günde bir takip edilmiştir. Tedaviye verilen cevaplılık; akne lezyon sayısı ve akne şiddeti indeksi kullanılarak değerlendirilmiştir. Demografik özellikler açısından anlamlı farklılıklar bulunmayan hastalardan gruplar oluşturulmuştur. Tedavi sonunda çay ağacı yağı jeli kullanan hastalarla plasebo grubu hastaları karşılaştırıldığında; çay ağacı yağı jeli grubu lehine akne lezyon sayısı (3,55 kez) ve akne şiddeti indeksinde (5,75 kez) anlamlı düzeltilmeler görülmüştür. Her iki grup için de yan etkiler benzer ve tolere edilebilir bulunmuştur [69].

Darabi, Hafezi ve Akbarloo (2005), hafif-orta şiddette aknesi olan toplam 60 hastada %5'lik çay ağacı yağı jeli ve %2'lik eritromisinin etkisini tek kör, karşılaştırmalı bir çalışma ile kıyaslamışlardır. Hastalara 6 hafta boyunca günde iki kez ürün uyguladıktan sonra, akne lezyon sayısındaki ortalama azalma yaklaşık olarak çay ağacı yağı grubu için %55, eritromisin grubu için %40 olarak tespit edilmiştir. Çay ağacı yağı grubundaki hastaların %87,5'nde, eritromisin grubundaki hastaların %53,8'nde başlangıçtaki lezyon sayıları %50'den fazla azalmıştır. Yan etkilerin sıklığı gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemiştir, ancak eritromisin grubundaki advers olaylara bağlı olarak önemli ölçüde hasta çalışmadan çekilmiştir [70].

Enshaieh, Jooya, Siadat ve Iraji (2007), hastalarda %5 çay ağacı jelinin etkinliğini çift kör, plasebo kontrollü bir çalışma ile test etmişlerdir (grup başına 30 kişi). Plasebo grubuna karbomer jel uygulanmıştır. Ürünler 20 dk. akneli bölgede bekletildikten sonra yıkanmış ve bu işlem günde iki kez olmak üzere 6 hafta (45 gün) devam etmiştir. 6 hafta sonunda yapılan değerlendirme, genel olarak çay ağacı jelinin plasebodan önemli ölçüde daha iyi olduğunu göstermiştir. Başlangıçtaki akne lezyon sayısındaki azalma çay ağacı yağı grubu için %43,6, plasebo grubu için ise %12 olarak tespit edilmiştir. Benzer şekilde akne şiddeti indeksindeki ortalama azalma, çay ağacı yağı grubunda %40,5 iken plasebo için %7 olarak rapor edilmiştir. Yan etki olarak kaşıntı, çay ağacı yağı uygulanan hastaların %10'unda ve plasebo grubu hastalarının ise %6,7'sinde görülmüştür [69].

Kwon, Yoon, Park ve Min (2014), %5 çay ağacı yağının etkisini %5 *Lactobacillus* ile fermente edilmiş *Chamaecyparis obtusa* (LFCO) ekstresi ile karşılaştıran bir çift-kör, bölünmüş yüz çalışması yayınlamışlardır. Toplam 34 katılımcıya, 8 hafta boyunca her tedavi günde iki kez yüzün sol veya sağ tarafına uygulanmıştır. 8 hafta sonra, enflamatuvar ve enflamatuvar olmayan lezyonlar, LFCO için sırasıyla %65,3 ve %52,6, çay ağacı yağı için sırasıyla %38,2 ve %23,7 oranında azalmıştır. LFCO ekstresi, çay ağacı yağı tedavisine kıyasla lezyon sayısının azaltılmasında daha etkili olmuştur. Sebumeter ile ölçülen sebum atılımı LFCO grubunda 8 hafta sonra %30 azalırken ve çay ağacı yağı grubundaki hastaların sebum atılımında herhangi bir değişiklik olmamıştır [71,72].

Mazzarello, Donadu, Ferrari, Piga, Usai, Zanetti ve Sotgiu (2018), hafif ve orta derecede akne problemi olan 60 hastada tek merkezli, çift-kör, randomize ve karşılaştırmalı bir klinik çalışmada, % 20 propolis, %3 çay ağacı yağı ve %10 Aloe vera (PTAC) (n=20) içeren bir krem formülasyonunun etkinliğini %3 eritromisin (ERC) içeren krem ile karşılatırmışlardır. Çalışmanın başında, 15 gün sonra ve 30 gün sonra, araştırmacılar her ziyarette klinik gözlem, enstrümental ölçümler ve makrofotografi yaparak gönüllülerin kutanöz durumunu değerlendirmişlerdir. Plasebo grubunun aksine 15 ve 30 günlük PTAC ve ERC uygulamasından sonra papüler ve skar lezyonların eritem indeksinde ciddi bir eritem azalması gözlenmiştir. Bulgular PTAC formülasyonunun eritem skarlarını, akne şiddet indeksini ve toplam lezyon sayısını azaltmada ERC'den daha iyi olduğunu göstermiştir [73].

Antibakteriyel aktivite

Hastane kaynaklı bakteriyel enfeksiyonlara bağlı ölüm ve hastalık dünya çapında sağlık hizmetlerinde önemli bir sorundur. Enfeksiyonların çoğuna, hastane personelinin ellerinden hastalara veya hastadan hastaya geçen bakterilerin neden olduğu düşünülmektedir. Western Australia Üniversitesi'nde yapılan bir çalışmada, % 5 çay ağacı yağı (0,001 Tween 80 içermektedir) hijyenik cilt yıkama solüsyonu (I), % 5 çay ağacı yağı içeren alkollü hijyenik cilt yıkama solüsyonu (II) ve % 3 çay ağacı yağı içeren alkollü el yıkama solüsyonu (III), *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* suşlarına karşı test edilmiştir. Bu ürünlerin dört bakteri türüne karşı etkinliği, yaygın olarak kullanılan bir hastane el yıkama ürünü olan povidon iyot ile karşılaştırılmıştır. EN 1276 testi ile III nolu örnek ile, ellerde 1 dakikalık temas süresi

içinde dört test organizması > 10(5) kat azalmıştır. II nolu örneğin ellere 1 dakika temas etmesi ile *A. baumannii* ve 5 dakika temas etmesi ile de *S. aureus*, *E. coli* ve *P. aeruginosa* >10(5) kat azalmıştır. Çay ağacı yağının etkinliğinin, formülasyona ve test edilen konsantrasyona, müdahale edilen maddelerin konsantrasyonuna ve son olarak test edilen organizmaya bağlı olduğu görülmüştür. I nolu örnek, *E. coli* ve *P. aeruginosa*'ya karşı *S. aureus* ve *A. baumannii*'ye göre anlamlı derecede daha fazla aktivite göstermiştir [74].

Antienflamatuvar aktivite

27 gönüllüde çay ağacı yağının, histamin-nedenli cilt enflamasyonu üzerindeki etkileri incelenmiştir. Değerlendirme için kızarıklık alanı, ödem çapları ve cilt kalınlığı ölçülmüştür. Gönüllülerin ön kollarına intradermal olarak histamin difosfat (50 µl içinde 5 µg) enjekte edilmiştir. Daha sonra 21 gönüllünün ön koluna 20. dakikada 25 µl. saf çay ağacı yağı topikal olarak uygulanmıştır. 6 gönüllüye de çay ağacı yerine 25 µl. parafin sürülmüştür. Sıvı parafinin, kızarıklık alanı ve ödem çaplarında anlamlı bir etki oluşturmadığı görülmüştür. Kızarıklık alanı üzerinde çay ağacı yağının da herhangi bir etki oluşturmadığı, yağın sürülmesinden 10 dk. sonra ödem çaplarında anlamlı bir azalma olduğu tespit edilmiştir [75].

Antifungal aktivite

%25 ve %50'lik çay ağacı yağı preparatlarının Tinea pedis üzerindeki etkisini belirlemek için yapılan randomize, kontrollü, çift kör çalışmada (n = 158 hasta), hastalar tedaviye mükemmel bir klinik cevap verirken, tırnaklardan kazıma ile alınan örneklerde de çay ağacı yağının hastalık etmeni dermatofitlere karşı güçlü bir inhibitör etki gösterdiği rapor edilmiştir [11].

%25 ve %50'lik çay ağacı yağı solüsyonları çift kör, randomize, kontrollü bir çalışmada interdigital tinea pedisin tedavisinde son derece etkili bir cevap oluşturmuştur. Ek olarak ayak tırnağı onikomikozlu hastalara, % 2 butenafin hidroklorür ve % 5 çay ağacı yağı tedavisi uygulanmıştır. Hastaların %80'inde hastalığın nüks etmeden tedavi olduğu tespit edilmiştir. Diğer çok merkezli, randomize, kontrollü çalışmada; distal tırnakaltı onikomikoz hastaları altı ay boyunca % 100 çay ağacı yağı ile topikal olarak tedavi edilmiştir Bu tedavi, tırnak görünümünde iyileşme ile sonuçlanmıştır [52].

Seboreik dermatit, *Malassezia furfur*'un neden olduğu bir cilt hastalığıdır. Kepeklenme olarak da bilinen bu problemde, *M. furfur* aşırı dermal hücre çoğalmasına yol açar. Bu hücrelerin ölümü üzerine kepek meydana gelir. Çay ağacı yağının antifungal özelliklere sahip olduğu bilindiğinden, *Malassezia* türleri ile mücadele edebileceği düşünölmüş ve hafif-orta şiddette kepeğı olan 126 hastayla yapılan randomize, tek kör bir klinik çalışma göstermiştir ki % 5 çay ağacı yağı şampuanı 4 hafta boyunca günlük kullanıldığında tüm kafa derisi lezyon skorlarını plasebo için % 11'lik bir azalmaya kıyasla % 40'ın üzerinde azaltmıştır. Başlangıçta tüm kafa derisi lezyon skoru 50-200 olan hastalar üzerinde çalışılmıştır ve % 5 çay ağacı yağı şampuanının, tüm kafa derisi lezyon skorları üzerinde %2 ketokonazol ve %1 terbinafin solüsyonları gibi benzer şekilde etkili olduğu görölmüşür. % 5 çay ağacı yağı şampuanının iyi tolere edildiğı de rapor edilmiştir [15, 76].

Antiprotozoal etki

Demodikozisdeki etkisi

Çay ağacı yağı ve ana bileşenlerden biri olan terpinen-4-ol, Demodex ile ilişkili hastalıkların tedavisinde etkilidir. Muhtemel etkilerinin; akar sayısını azaltmak, Demodex'e bağılı semptomları rahatlatmak, immün sistemi modöle etmek ve antienflamatuvar etkiler olduğu düşünölmektedir. *Demodex* türlerinin, blefarit (kirpik dibi iltihabı) olgusu ile de ilişkili olduğundan bahsedilmektedir. Bu konu ile ilgili yapılmış klinik çalışmalar mevcuttur [77].

Çizelge 2.10. Demodikozis üzerinde çay ağacı ile yapılan klinik çalışmalar [77]

Teşhis	Yaş	Cinsiyet	n	Dozaj	Uygulama (Doz, yol ve süre)	Etki	Advers etki
Blefarit	53.7 ± 10.3	Erkek: %34 Kadın: %66	40	Topikal	%50 uçucu yağ göz kapağı ovma, ardından %10 uçucu yağ göz kapağı fırçalama, haftada 10 kereden fazla, 1 ay	Demodex sayısında azalma, oküler yüzey rahatsızlığı indeksinde azalma, Demodex eradikasyon oranı %37,5 azalmıştır.	106 hastanın 5'nde oküler irritasyon görülmüştür.
			36		%50 uçucu yağ göz kapağı ovma, ardından %10 uçucu yağ göz kapağı fırçalama, haftada 5-9 kez, 1 ay	Demodex sayısında azalma, oküler yüzey rahatsızlığı indeksinde azalma, Demodex eradikasyon oranı %18,9 azalmıştır.	
			30		%50 uçucu yağ göz kapağı ovma, ardından %10 uçucu yağ göz kapağı fırçalama, haftada 5'den az, 1 ay	Demodex sayısında ve oküler yüzey rahatsızlığı indeksinde azalma olmamıştır. Demodex eradikasyon oranı %10 azalmıştır.	
	9-91	Erkek: %25 Kadın: %75	99	Topikal	%5 uçucu yağ ile göz banyosu takiben %5 uçucu yağ içeren merhem sürülür, 3 ay boyunca	Tedavi sonrası hastaların %80,9'nda iyileşme	
	-	-	45	Topikal	%0,02 uçucu yağ içeren köpük ile günlük olarak cilt, kaş ve göz kapağı temizliği yapılmıştır.	3 hastada akarlar yok edildi. 15 hastanın semptomları iyileşti.	
	-	-	7	-	Göz kenarlarına ve kirpiklere her gece %5 uçucu yağ içeren merhem sürülmüştür.	Hiçbir hastada akarlar tamamen yok edilemedi. 1 hastada semptomlar iyileşmiştir	
	48,3 ± 18,9	Erkek: %40 Kadın: %60	10	Topikal	%50'lik uçucu yağ ile haftada bir göz kapağı fırçalama ve %10'luk uçucu yağ içeren şampuan ile göz kapağı 1 ay boyunca günde iki kez fırçalanmıştır.	Ortalama Demodex sayısında belirgin azalma, gözyaşındaki sitokinlerin sayısında (IL-1β, IL-5, IL-7, IL-12, IL-13, IL-17, G-CSF ve MIP-1β) azalma	
	49,3 ± 17	Erkek: %66,7 Kadın: %33,3	6	Topikal	%50'lik uçucu yağ ile haftada bir göz kapağı fırçalama ve uçucu yağ içeren şampuan ile 6 hafta boyunca günlük temizlik	Ortalama Demodex sayısında belirgin azalma, tüm hastalarda sübjektif olarak oküler yüzey irritasyonun ve ağrıda azalma	
	60	Erkek	1	Topikal	3 ay boyunca %5 ve %50'lik uçucu yağ ile göz kapağı fırçalanmıştır.	Blefaritte anlamlı düzelme	
	61	Kadın	1	Topikal	Su ve uçucu yağ içeren çözelti ile günde iki kez göz kapağı ovuldu.	8 hafta sonra belirtiler belirgin şekilde iyileşmiştir. Tekrarlayan muayenede hiç akar görülmemiştir.	
Kuru göz hastalığı	9-91	Erkek: %25 Kadın: %75	31	Topikal	%5 uçucu yağ ile göz banyosu takiben %5 uçucu yağ içeren merhem geceleri sürülür, 3 ay boyunca	Tedavi sonrası hastaların %83,9'nda iyileşme	-
Meibomian bezi hastalığı	9-91	Erkek: %25 Kadın: %75	56	Topikal	%5 uçucu yağ ile göz banyosu takiben %5 uçucu yağ içeren merhem geceleri sürülür, 3 ay boyunca	Tedavi sonrası hastaların %82,2'sinde iyileşme	-

Çizelge 2.10 (devam) Demodikozis üzerinde çay ağacı ile yapılan klinik çalışmalar [77]

Teşhis	Yaş	Cinsiyet	n	Dozaj	Uygulama (Doz, yol ve süre)	Etki	Advers etki
Oküler Demodex istilası	37,2 ± 15,6	Erkek: %42 Kadın: %58	24	Topikal	Günde 2 kez, 4 hafta boyunca %5 uçucu yağ içeren merhem ile göz kapağı masajı	Demodex sayısı belirgin bir şekilde azalmıştır. 11 hastada hiç akara rastlanmamıştır.	İki hastada minimal oküler iritasyon
Oküler Demodikozis	60,2 ± 11,6	Erkek: %55 Kadın: %45	11	Topikal	%50'lik uçucu yağ ile haftada 1 kere göz kapağı fırçalama ve 0,5 ml uçucu yağ şampuanı ile göz kapağı 1 ay boyunca günde 2 kez ve daha sonra günde 1 kez fırçalama	Demodex sayısında belirgin bir azalma, 11 hastanın 9'unun semptomlarında %50-100 oranında iyileşme	6 kişide zayıf veya orta şiddette iritasyon
	59,9 ± 8,7	-	9	Topikal	%50'lik uçucu yağ ile haftada 1 kere göz kapağı fırçalama ve 0.5 ml uçucu yağ ağacı şampuanı ile göz kapağı 1 ay boyunca günde 2 kez ve daha sonra günde 1 kez fırçalama	5 hastada 3 haftada, 2iki hastada 4 haftada Demodex sayısı sıfıra düşmüştür. 1 ay sonraki kontrolde de hastalık semptomlarında tekrar görülmemiştir.	
	60	Erkek	12	Topikal	6 hasta 4-6 hafta boyunca haftada 3 kez %50'lik uçucu yağ ile ovulur, diğer 6 hasta ise %5 uçucu yağ içeren merhem ile 4-6 hafta boyunca günde iki kere masaj	Uçucu yağ içeren merhem ile göz kapağı ovma veya bu merhemle göz kapağı masajından sonra dört vakada Demodex sayıları azalmış kirpiklerden silindirik kepek kaybolmuştur. Tedaviden 1 hafta sonra tüm hastalar oküler yüzey tahrişinin subjektif olarak düzeldiğini, ardından göz kapağı kenarlarında şişlik ve konjonktival kızarıklığın tamamen düzeldiğini bildirdi; 2 hafta sonra ise papiller foliküler reaksiyon, ülser, punktat keratopati ve infiltrasyon gibi tüm kornea lezyonları düzelmiştir.	
Tekrarlayan Şalazyon	39,1 ± 10,2	Erkek: %47 Kadın: %53	30	Topikal	3 hafta için haftada 1 kere %50'lik uçucu yağ ile göz kapağı ovma ve 0,5 ml uçucu yağ içeren şampuan ile günde 2 kez göz kapağı fırçalama	%96,8 oranında tekrarlamaların önüne geçilmiştir.	-
Kronik primer konjonktivit	9-91	Erkek: %25 Kadın: %75	31	Topikal	%5 uçucu yağ ile göz banyosu takiben %5 uçucu yağ içeren merhem geceleri sürülür, 3 ay boyunca	Hastaların %100'ünde tedavi sonrası iyileşme,	106 hastanın 5'nde oküler iritasyon

Antiviral aktivite

Randomize, plasebo kontrollü, araştırmacı-kör yaklaşımlı bir klinik çalışmada, tekrarlayan *Herpes labialis*'i tedavi etmek için %6 çay ağacı yağı jeli (n = 18) kullanılmıştır. Genel olarak yeniden epitelizasyon, kültür pozitifliği süresi ve kabuk oluşum zamanı açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır. Viral titreler çay ağacı yağı ile tedavi edilen grup için biraz daha düşük bulunmuştur [11].

Oral antibakteriyal aktivite

Yapılan bir klinik pilot çalışmada, supragingival plak oluşumu ve dişlerin sağlamlığı üzerinde çay ağacı yağının etkisi klorhekzidin ile karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. 8 denegin kullanıldığı çalışmada profesyonel diş temizliği yapıldıktan 4 gün sonra herhangi bir mekanik oral hijyen bakımı yapılmadan dişler; 1. hafta su, 2. hafta klorhekzidin ve 3. hafta çay ağacı yağı ile yıkanmıştır. Klinik kontrol parametresi olarak plak indeksi kullanılmıştır. Plak oluşumu vital flüoresans tekniği kullanılarak incelenmiştir. Çay ağacı yağının supragingival plağın niceliği ve niteliği üzerinde herhangi bir pozitif etki oluşturmadığı gözlenmiştir [78].

Çay ağacı yağının 161 oral bakteri izolatına karşı *in vitro* aktivitesinin test edildiği bir çalışmada, Minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonlarının (MBK) % 0,003 ila % 2,0 (h/h) arasında değiştiği tespit edilmiştir. MİK₉₀ değerleri; *Actinomyces* spp., *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mitis* ve *Streptococcus sanguis* için %1,0 (h/h) ve *Prevotella* spp için %0,1 (h/h) olarak hesaplanmıştır. *Porphyromonas*, *Prevotella* ve *Veillonella* izolatları en düşük MİK ve MBK değerlerine, *Streptococcus*, *Fusobacterium* ve *Lactobacillus* izolatları ise en yüksek MİK ve MBK değerlerine sahip olduğu ifade edilmiştir. *Streptococcus mutans* ve *Lactobacillus rhamnosus* ile yapılan öldürme zamanı çalışmalarında, % 0,5 çay ağacı yağı ile yapılan tedaviden 5 dakika sonra canlı organizma kalmadığı görülmüştür. Bu çalışmalar, bir dizi oral bakterinin çay ağacı yağına duyarlı olduğunu göstermektedir, bu da çay ağacı yağının ağız sağlığı ürünlerinde ve ağız hijyeninin korunmasında kullanılabileceğini düşündürmektedir [79].

Kadın hastalıklarındaki etkisi

C. albicans kaynaklı vajinal enfeksiyonu olan 27 hasta, 0,2 g çay ağacı yağı içeren vajinal kapsül tedavisini takip etmişlerdir. Hastaların 23'ünde tedavi bitiminde vajinal bölgedeki yanma ve akıntı sonra ermiştir. 130 vaka üzerinde yapılan daha uzun süren bir klinik bir çalışmada, hastaların vajinal enfeksiyonlarını tedavi etmek için % 40'lık çay ağacı yağı solüsyonunu içeren vajinal duş ve topikal uygulamalar yapılmıştır. Bu uygulamaların, sadece Trikomonal vajinitte değil *C. albicans* vajiniti, rahim ağzı iltihabı ve kronik endoserviks iltihabında da oldukça etkili olduğu görülmüştür [11].

Yara iyileşmesi üzerine etkisi

The Joanna Briggs Enstitüsünün yapmış olduğu bir yayında, çay ağacı yağının yara iyileşmesi üzerindeki etkileri ile ilgili yapılmış klinik çalışmalar rapor edilmiştir. Bu raporda;

Yara iyileşmesinde;

- Bir kontrolsüz çalışmada 12 hastaya % 3,3'lük konsantrasyonda çay ağacı solüsyonu yara temizlemesinde kullanılmıştır. 4 hasta konvansiyonel antibiyotik tedavisi almak için çalışmadan çekilirken, 8 hastanın yara büyüklüğünde küçülme tespit edilmiştir.
- Küçük bir grupla yapılan randomize, kontrollü bir çalışmada (n=10), çay ağacı ile yapılan pansumanın serum fizyolojikle yapılan pansumana göre iyileşme sürecinde daha etkili olduğu görülmüştür. İyileşme, 10 günlük sürede yüzey alanında küçülme olarak değerlendirilmiştir.
- Bir seri vaka çalışmasında (n=3); seviye IV bası yarası, cerrahi debridman tedavisi gerektiren nekrotik ülser ve yarası olan hastalara % 4 çay ağacı yağı içeren hidrojel pansumanı yapılmıştır. Pansumanlar her gün değiştirilmiştir ve beşinci gün yaranın derinliği ölçülmüştür. Bu çalışmada objektif çıktılar rapor edilmemiştir.
- Diabetes mellitus ve vasküler yetmezliği olan hastaların katıldığı bir seri vaka çalışmasında (n=10); su bazlı bir çay ağacı sprey formülasyonu cilt grefti gerektiren alt ekstremitte yaraları üzerine günde 3 kere (3 mg/günlük) sıkılmıştır. Tüm vakalarda 2-3 hafta içinde granülasyon meydana gelmiştir. Cilt grefti yapıldıktan sonra da 1-2 hafta çay ağacı yağı uygulamasına devam edilmiştir.

- Ampütasyon ameliyatı sonrası iyileşmeyen kronik yarası olan bir hastanın yarasına günlük % 10 çay ağacı yağı ve % 90 kabak çekirdeği yağı topikal olarak uygulanmıştır. Uygulamadan 5 ay sonra yara tamamen iyileşmiştir.
- Kırık sonrası kabarcık komplikasyonu oluşan bir hastaya, % 90'dan fazla saf su ve % 4 çay ağacı yağı içeren polipropilen jel 10 gün boyunca yapışmayan bir pansuman ile birlikte uygulanmıştır. Çalışma, gümüş sülfadiazin kremi ile yapışmayan bir pansuman ile muamele edilen kırılma kabarcıkları için gözlemlenen 18 ila 21 günlük normal bir iyileşme süresi ile karşılaştırmıştır.

Yara enfeksiyonlarının kontrolünde;

- Küçük bir grupta yapılan randomize, kontrollü bir çalışmada (n=10), tanımlanamayan tipteki yaralarda MRSA enfeksiyonunun gelişimini kontrol etmek için çay ağacı yağı pansumanı ile serum fizyolojik pansumanı uygulaması karşılaştırılmıştır. 10 günlük tedavi ile iki grup arasında MRSA bakteri yükünde herhangi bir farklılık görülmemiştir [76].

2.5. Çay Ağacı Yağının Kullanılmaması Gereken Durumlar

Ekzematöz veya iltihaplı ciltte kullanılmamalıdır (tahrişe neden olabilir). Uçucu yağ, vajinal duş olarak veya gargara formunda dahilen kullanılmamalıdır [80].

2.6. Gebelik ve Emzirmedeki Kullanımı

FDA, Komisyon E ve EMA çay ağacı yağını kozmesötik bir formülasyonda kullanılması halinde yeterli veri bulunmadığı için gebelik ve laktasyon döneminde kullanılmasını önermemektedir. Doğurganlık üzerinde herhangi bir veri yoktur [14, 81].

2.7. İlaç Etkileşimleri ve Diğer Etkileşimler

Bilinmemektedir [80].

2.8. Çay Ağacı Yağı ile Görülen Advers Reaksiyonlar

Literatürde çay ağacı yağının neden olduğu hiçbir insan ölümü bildirilmemiştir. Topikal uygulaması, yüksek konsantrasyonlarda advers reaksiyonlara neden olabilir. Bu yağın kullanımının artmasıyla birlikte cilt tahrişi, alerjik kontakt dermatit, sistemik kontakt dermatit, lineer immünoglobulin A dermatozu, eritema multiforme benzeri reaksiyonlar ve sistemik hipersensitivite reaksiyonları gibi yan etkiler bildirilmiştir [52].

Nadiren gelişen bazı jinekomasti vakalarının çay ağacı yağından kaynaklandığı yolunda bildirimler yapılmıştır. Bu bildirimler, sağlıklı olan ve endojen steroidlerin serum konsantrasyonları normal olan üç prepubertal erkeğin, lavanta ve çay ağacı yağlarını içeren ürünleri topikal kullanımları ile tespit edilmiştir. Bu ürünleri kullanmayı bırakmalarından kısa bir süre sonra jinekomasti bulguları ortadan kalkmıştır. İnsan hücre hatlarında yapılan çalışmalar iki yağın östrojenik ve antiandrojenik aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Ancak pek çok araştırmacı bu bulgulara itiraz etmişlerdir [82].

Bazı cilt problemlerinde (dermatit, akne, dermatofit enfeksiyonlarında), çay ağacı yağı (% 5-% 100 konsantrasyonlarda) tedavisinin denendiği 10 randomize, kontrollü klinik çalışmadan beşinde orta derecede cilt irritasyonu görülmüştür. Bazı klinik çalışmalarda ise uçucu yağ kontrol gruplarından (plasebo jeller ve % 1 klotrimazol) ve bir çalışmada da çay ağacı yağı (% 5) uygulamasının % 5'lik benzoil peroksit jel grubundan daha fazla irritasyon oluşturduğu tespit edilmiştir [76].

Çay ağacı yağı ile ilgili olarak temas alerjisi ve bunun neden olduğu alerjik kontakt dermatit şikayetlerine sıklıkla rastlanmaktadır. Çay ağacı yağının neden olduğu pozitif kontakt alerji sebepleri içinde; ya okside olmuş bileşenler ya da yağa katıştırılan maddeler sayılabilir. Ayrıca, bu yağa karşı gelişen alerjik reaksiyonların bu tarz reaksiyonlara yatkın bireylerde görülme sıklığının daha çok olduğu rapor edilmiştir [6]. Alerjiye sebep olan bileşenlerin; askaridol, terpinolen, α -terpinen, 1,2,4-trihidroksimetan, α -fellandren ve limonen olduğu tespit edilmiştir. Seyreltilmemiş uçucu yağın, uçucu yağın yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu ürünlerin ve % 5 konsantrasyonda uçucu yağ içeren formülasyonların da kontakt dermatit oluşturma riskinin fazla olduğu görülmüştür. Örnek olarak sabun, krem ve şampuanın neden olduğu periorbital/göz kapağı dermatiti, traş yağının neden olduğu sakal bölgesi dermatiti, yüz kreminin neden olduğu yüz dermatiti ve el losyonunun neden olduğu yüz ve el dermatitleri

gösterilebilir. Yine bu uçucu yağı içeren bir diş macununun stomatit oluşturduğu da rapor edilmiştir [18].

Çay ağacı yağı cilde sürüldüğü zaman güvenli kabul edilir, ancak cilt tahrişine ve şişmesine de neden olabilir. Nadir durumlarda cilt kuruluğu, kaşıntı, acı, yanma ve kızarıklık gözlenmiştir. Deri tahrişi temel olarak organik bileşiklerle ilişkilidir, ancak nikel, kobalt veya krom gibi alerjenik metallerden de kaynaklanabilir. Avrupa pazarında mevcut olan çay ağacı yağı örneklerinde, seçilen cilt tahriş edici metallerin tespitine dair Grafit Fırın Atomik Absorpsiyon Spektrometresi (GFAAS) ile gerçekleştirilen analizlerde; nikel ve kobalt seviyeleri sırasıyla, 0,8 µg/l ve 0,4 µg/l altında, krom seviyesinin ise 1 µg/l altında olduğu tespit edilmiştir. Cilt üzerinde seyreltilmeden kullanıldığında çay ağacı yağının analizi yapılan ağır metaller yönünden herhangi bir risk oluşturamayacağı sonucuna varılmıştır [83].

1999'da çay ağacı yağı, Kuzey Amerika Kontakt Dermatit Grubu tarama paneline eklendi. Son prevalans oranları, alerji deneyi için başvuran hastaların % 1,4'ünün çay ağacı yağına pozitif reaksiyonu verdiğini göstermektedir [84].

Çay ağacı yağındaki alerjenik bileşikler araştırılmış ve 1,8-sineol, D-limonen, α -terpinen, aromadendren, terpinen-4-ol, α -fellandren, ρ -simen, α -pinen, terpinolen ve α -terpinen'in alerjiye sebep olabileceği rapor edilmiştir. Oksitlenmiş çay ağacı yağının, taze formundan daha etkili bir temas alerjeni olduğu, oksidasyon ürünlerinin muhtemel alerjenler olabileceğine dikkat edilmelidir. Çay ağacı yağının potansiyel bir temas alerjeni olarak değerlendirilmesinde; sadece çay ağacı yağının 100'den fazla farklı bileşen içermesi yanında çoğunlukla yanlış etiketlenme veya ISO kriterlerine uygun olup olmadığı da düşünülmelidir. Ayrıca, alerjenik özellikleri yağın içindeki kimyasal maddelerden %100 kaynaklı olmayabilir de, aksine yağ cilde uygulandığında oluşan bozunma ürünleri de bu reaksiyonları tetikleyebilmektedir [84].

Çeşitli yama testi çalışmaları, çay ağacı yağı ürünlerinde görülen olumsuz etkilerin diğer akne ürünlerinde görülenlere benzer veya daha düşük olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca akne için kullanılan farklı çay ağacı yağı formülasyonlarının (jel, krem ve merhem gibi) farklı şiddetlerde cilt irritasyonu oluşturduğu tespit edilmiştir. Organoleptik değişiklikler ve viskozite değişimlerinin yanı sıra bazı eski uçucu yağların içerdiği oksitlenmiş terpenoidler de aşırı duyarlılık reaksiyonlarına yani alerjik kontakt dermatite neden olmaktadır [15].

Çay ağacı yağının yutulması ile ilgili yapılan bildirimler

Kontakt dermatit, diyare, santral sinir sistemi toksisitesi, yeterli miktarda yutulduğunda koma hali oluşabilir. Kazayla 25 ml. çay ağacı yağı içen iki çocukta bulantı ve diyare oluşumu gözlenmiştir. Semptomlar 48 saat içinde ortadan kaybolmuştur [26, 80].

İnsanlarda zehirlenme raporları;

İnsanlarda çay ağacı yağının neden olduğu advers reaksiyonlara örnek vermek gerekirse;

4 yaşındaki bir erkek çocuk çay ağacının küçük bir miktarını yutmuş ve ataksi oluşmuştur. Bu durum 24 saat sonra düzelmiştir.

17 aylık bir erkek çocuğun 10 ml'den daha az çay ağacı yağı yutmasını takiben ataksi ve sersemlik gelişmiştir.

23 aylık bir erkek çocuk % 100 Çay ağacı yağı içeren ticari bir ürünün 10 ml'den az miktarını yuttuktan sonra 30 dk. yürüyememiş, sersemleşmiştir. Yuttuktan 5 saat sonra semptomlar düzelmiştir.

60 yaşında bir erkek yaklaşık yarım tatlı kaşığı kadar çay ağacı yağı yutmuş ve lökositoz ile beraber ciddi bir döküntü oluşmuştur.

Bir kişi yarım fincan saf çay ağacı yağını yuttuktan sonra 12 saat komada kalmış ve sonraki 36 saatte bilinç bozukluğu yaşamıştır [16].

Alman Federal Risk Değerlendirme Enstitüsü (BfR)'nin önceliği olan 16. Kimyasallar Yasası uyarınca, Tüketicilerin ve Veteriner hekimlik sağlığının korunmasına yönelik Federal Enstitüsü'ne (BgVV), 1996 ve 2002 yılları arasında çay ağacı yağı ile ilgili toplam yedi zehirlenme bildirimi gelmiştir. İki bebekte bulantı, yorgunluk ve kusma semptomları çay ağacı yağının oral alımını takiben ortaya çıkmıştır; başka bir bebekte herhangi bir semptom gelişmemiştir. Bir yetişkin çay ağacı yağı kapsülleri aldıktan sonra bulantı, mide ağrısı, iştah kaybı ve geğirme başlamıştır. Diğer üç olguda dermal uygulamadan sonra alerjik reaksiyonlar gözlenmiştir [16].

2.9. Çay Ağacı Yağının Toksisitesi

Tavşanlarda deri tahrişi testi, parafin yağında % 25'lik çay ağacı yağı ile yapıldı ve solüsyon traş edilmiş tavşan derisine 30 gün boyunca tekrar tekrar uygulandı. Başlangıçtaki küçük tahrişler dikkate alınmadı; bununla birlikte deri değişiklikleri mikroskopik olarak tespit edildi. OECD 404'e göre yarı-kapalı koşullar altında yapılan yama testinde % 12,5 ve % 25'lik konsantrasyondaki çay ağacı yağı örneklerinin tahriş edici olmadığı, % 50'lik konsantrasyonda minimal ve % 75'lik konsantrasyondaki çay ağacı yağının tavşanlarda hafif tahriş edici olduğu; yama testinde ise seyreltilmemiş çay ağacı yağının 24 saat içinde tahrişleri tetiklediği rapor edilmiştir. Tavşanlarda akut dermal letal doz (LD₅₀) doz 5,0 g/kg (saf çay ağacı yağı (%100) uygulanması ile) olarak saptanmıştır [5, 16]. Albino tavşanlara hem sağlam hem de tahriş olmuş cilde saf çay ağacı yağı uygulandığında cildi tahriş edici potansiyele sahip olduğu bulunmuştur (Draize indeks: 5). Bu nedenle, çay ağacı yağı cildin tahrişinin mevcut olduğu durumlar için kullanılmamalıdır (örn: dermatit) [26].

Çay ağacı yağının mutajenitesi ile ilgili 2005 yılında yayımlanmış bir makalede, ticari çay ağacı yağları ve ana bileşen olan terpinen-4-ol, AMES testi kullanılarak test edilmiştir. Sonuçta yağ ve terpinen-4-ol'ün mutajenik etkili olmadığı saptanmıştır. Önceki yıllarda sadece bir yağ örneği kullanılarak yapılmış bir araştırmada mutajeniteden söz edilmişken bu araştırma ile yağın mutajenik olmadığı ortaya konmuştur [5]. Çay ağacı yağı ve bileşenleri genotoksik değildir [52].

Özel patojensiz (SPF) sıçanlarda yapılan akut toksisite sonuçları (oral): Hayvanların ön ayaklarında tonus eksikliği gözlenmiş ve LD₅₀, kg vücut ağırlığı başına 2,6 ml (= 2,3 mg) olarak hesaplanmıştır. SPF olmayan sıçanlardaki akut toksisite sonuçları (oral) sonuçları: Hayvanlar benzer semptomlar göstermiş ve LD₅₀, kg vücut ağırlığı başına 1,9 ml (= 1,7 mg) olarak hesaplanmıştır [5, 16, 27].

Seyreltilmemiş çay ağacı yağı ağızdan alınmamalı ve Avrupa Birliği Tehlikeli Preparatlar Yönetmeliğine göre oral yoldan zararlı olarak sınıflandırılmaktadır. İnsanlarda tesadüfi çay ağacı yağı zehirlenmesi üzerine yayınlanmış beş çalışma yapılmıştır. Yanlışlıkla yutulan yağ miktarının 10 ml'den yarım bardağa kadar değiştiği rapor edilmiştir [15, 27, 36].

2.10. Ticarete Önemi

Çay ağacı yağının ticari ürünlerde bir bileşen olarak kullanımı oldukça yaygındır. Küresel üretim 1995 yılında 200 metrik tondan (MT) 2012'de 540-580 MT'ye yükseldi. 2013'te Dünya'da çay ağacı yağı ticareti 36 milyon Avustralya dolarını aşmış ve Avustralya en büyük üretici ve ihracatçı ülke olmuştur. Avustralya'da, 2013 yılında bildirilen 450-500 MT'luk uçucu yağ üretimini 3.000 hektar alana dikilmiş olan *M. alternifolia* ağaçları sağlamıştır. Avustralya Çay Ağacı Endüstrisi Birliği, 2015 yılında 800 MT'den fazla çay ağacı yağı üretildiğini bildirmiştir. 2018'de bu miktar sırf Avustralya için 1000 MT olmuştur [6].

2.11. Eczanede Satılan Preparatları

Tea tree oil yani çay ağacı yağının farklı markalara ait pek çok ürünü vardır. Eczanelerde sadece yağ formunda satıldığı gibi ayrıca çay ağacı yağının terkibine girdiği ürünler de vardır. Bunlar; sıvı sabun, şampuan, göz dezenfektan şampuanı, ağız spreyi, diş macunu, güneş kremi, yüz yıkama jeli, vajinal sprey, intim jel, lubrikant jel, kil maskesi, uçuk kremi, tonik, nemlendirici krem vb. gibidir.



Resim 2.3. Çay ağacı yağının eczanede satılan preparatları [85]

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Deneysel çalışmamızda çay ağacı yağı numunesi olarak eczane, aktar ve sağlık ürünü satan merkezlerden alınan 12 farklı marka çay ağacı yağı tez gereçlerimizi oluşturmuştur. Standart çay ağacı yağı olarak (13 numaralı numune), Jeomed-Medikal İlaç Pazarlama A.Ş.'nden temin edilmiş Avustralya orijinli organik çay ağacı yağı kullanılmıştır. Satın alınan örneklerle ilgili bilgiler Çizelge 3.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Çay ağacı yağı örneklerinin satın alındıkları tarih ve yer bilgileri

Numune no	Alınan yer	Alınma tarihi
1	Kurtuluş, Ankara	Aralık 2017
2	Bahçelievler, Ankara	Ocak 2018
3	Bahçelievler, Ankara	Aralık 2017
4	Kızılay, Ankara	Mart 2018
5	Emek, Ankara	Aralık 2017
6	Tarsus, Mersin	Aralık 2017
7	Tarsus, Mersin	Aralık 2017
8	Emek, Ankara	Ekim 2018
9	Maltepe, Ankara	Ekim 2018
10	İnternet	Ekim 2018
11	Kurtuluş, Ankara	Ekim 2018
12	Emek, Ankara	Ekim 2018
13	Standart Çay ağacı yağı	Mayıs 2018

3.2. Yöntemler

Eczane, aktar ve sağlık ürünü satan merkezlerden alınan 12 farklı marka çay ağacı yağı ve 13 numaralı standart olarak kullandığımız çay ağacı yağında Avrupa Farmakopesi 8.0 referans alınarak makroskobik incelemeler (renk, leke kontrolü), çözünürlük tayini, İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) analizi ve GC/MS analizleri yapılmıştır. Ayrıca yağ örneklerinin antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir.

3.2.1. Melaleuca aetheroleum'un Avrupa Farmakopesi 8,0 'a göre analizi [3]

Tea Tree Oil

Melaleuca aetheroleum

Tanım: *Melaleuca alternifolia* (Maiden and Betch) Cheel, *M. linariifolia* Smith, *M. dissitiflora* F. Mueller ve/veya *Melaleuca*'nın diğer türlerinin terminal dallarından veya yapraklarından buhar distilasyonu ile elde edilen uçucu yağdır.

Görünüş: Berrak, akışkan, renksiz ila uçuk sarı sıvı karakteristik bir koku

Teşhis

A. İTK

Test çözeltisi : 0,1 ml. numune 5 ml. heptan R.de çözülür.

Referans çözeltisi: 10 ml. heptan R. içinde 30 µl. sineol R., 60 µl. terpinen-4-ol R. ve 10 mg. α -terpineol R. çözülür.

Plak : İTK silika jel plak (60GF₂₅₄ plak, Aluminium sheets 20x20 cm)

Mobil faz : Etil asetat R.: heptan R. (20:80 h/h)

Uygulama : 10 µl. bant şeklinde tatbik edilir.

Sürüklenme : 10 cm.

Kurutma : Havada

Sonuçlar :

Çizelge 3.2. Avrupa Farmakopesi 8,0'da çay ağacı yağı monografında verilen İTK görünümü

Plâğin tepe noktası	
Sineol: Mor-kahverengi leke Terpinen-4-ol: kahverengimsi-mor leke α -terpineol R: mor veya kahverengimsi-mor leke	Mor-kahverengi leke, daha az yoğun (sineol) Kahverengimsi-mor leke (terpinen-4-ol) Mor veya kahverengimsi-mor leke (α -terpineol)
Referans çözeltisi	Test çözeltisi

Testler (European Pharmacopoeia 8,0) [3]

Rölatif dansite : 0,885-0,906

Refraktif indeks : 1,475-1,482

Optik çevirme : + 5° -+ 15°.

Kromatografik Profil: Gaz kromatografisi:

Test çözeltisi : 10 ml. hekzan R. içinde 0,15 ml. numune çözülür.

Referans çözeltisi : 5 µl α-pinen R, 5 µl sabinen R, 15 µl α-terpinen R, 5 µl limonen R, 5 µl sineol R, 30 µl γ-terpinen R, 5 µl p-simen R, 5 µl terpinolen R, 60 µl terpinen-4-ol R, 5 µl aromadendren R ve 5 mg α-terpineol R 10 ml hekzan içinde çözülür.

Taşıyıcı gaz : Helyum gazı

Kolon : Fused silica

– boyu: l= 30 m (film kalınlığı 1 µm olmalı) den 60 m

(film kalınlığı 0,2 µm olmalı) ye kadar, Ø = 0,25-0,53 mm,

– sabit faz: macrogol 20 000 R.

Akış hızı : 1,3 ml/dk. (0,32 mm çaplı kolon için)

Split ratio : 1:50

Dedektör : Alev İyonlaştırıcı

Enjeksiyon : 1 µl

Sıcaklık:

Çizelge 3.3. Avrupa Farmakopesi 8,0'da çay ağacı yağı monografında verilen GC analiz koşulları

	Zaman (dk.)	Sıcaklık (°C)
Kolon	0-1	50
	1-37	50→230
	37-45	230
Enjeksiyon girişi		240
Dedektör		240

Elüsyon sırası: Referans çözeltinin bileşiminde gözlenen sıraya göre değişir. Maddelerin alıkonma süreleri kayıt edilir.

Sistem uygunluğu: referans çözeltisi:

– Rezolüsyon: terpinen-4-ol ve aromadendrene bağlı pikler arasında minimum 2,7 dk.

Referans çözeltisi ile elde edilen kromatogramdan belirlenen alıkonma süreleri kullanılarak, test çözeltisi ile elde edilen kromatogramda referans çözeltisindeki maddeler teşhis edilir. Hekzan nedenli pikler göz önüne alınmaz. Bu bileşenlerin yüzde içeriği belirlenir.

Avrupa Farmakopesi 8.0'a göre Çay ağacı yağının bileşimi;

α -pinen: %1,0-6,0

sabinen: maksimum %3,5

α -terpinen: %5,0-13,0

limonen: %0,5-4,0

sineol: maksimum %15,0

γ -terpinen: %10,0-28,0

p-simen: %0,5-12,0

terpinolen: %1,5-5,0

terpinen-4-ol: minimum %30,0

aromadendren: maksimum %7,0

α -terpineol: %1,5-8,0

3.3. Yöntemlerin Uygulanması

3.3.1. Makroskobik analiz

Makroskobik analiz kapsamında renk ve leke kontrolü yapılmıştır.

Standart (%100 tea tree oil) ve 12 numuneden 1'er ml alınmış farklı deney tüplerine koyularak renkleri not edilmiştir.

Leke kontrolü: Standart çay ağacı yağı ve 12 farklı marka çay ağacı yağı numunesi birer damla olarak süzgeç kağıdı üzerine damlatıldı, damla 30 dk. 105⁰C'lik etüvde bekletildi.

Kurutma işleminden sonra leke durumlarına bakıldı.

3.3.2. Çözünürlük tayini

Kullanılan solvanlar; %96 etanol, distile su, kloroform ve dietil eter. Her solvanın 1 ml.si içine 1 damla yağ örneği ilave edilerek çözünürlükleri kontrol edildi.

3.3.3. İTK

Avrupa Farmakopesi 8,0'da yer alan “Melaleucae aetheroleum” monografinin, Teşhis kısmının, A. İTK yönteminde bildirilmiş olan (3.2.1. Melaleucae aetheroleum'un Avrupa Farmakopesi 8,0 'a göre analizi) koşullar kullanılmıştır [3]. Farklı olarak anisaldehit revelatörü püskürtülmüş ve 105°C'lik etüvde bekletilerek oluşan renkler kayıt edilmiştir.

3.3.4. Uçucu yağların analizi

Çay ağacı uçucu yağlarının HS-SPME-GC/MS analizleri aşağıda belirtilen şartlarda yapılmıştır.

GC/MS analiz koşulları

Sistem	: Agilent 5975 GC-MSD sistemi
Kolon	: HP-Innowax Silika kapiler (60 m x 0,25 mm Ø, 0,25 mm film kalınlığı)
Sıcaklık programı	: 60°C'de 10 dk.// 4°C/dk. artışla 220°C'ye// 220°C'de 10 dk.// 1°C/dk. artışla 240°C'ye
Enjektör sıcaklığı	: 250°C
Taşıyıcı gaz	: Helyum (0,8 ml/dk.)
Enjeksiyon hacmi	: 2 µl
Split oranı	: 40:1
Elektron enerjisi	: 70 eV
Kütle aralığı	: m/z 35-450
Kütüphane	: BAŞER Uçucu Yağ Bileşenleri Kütüphanesi, Wiley ve Adams Kütüphane Tarama Yazılımları

Katı Faz Mikroekstraksiyon (KFME) yöntemi

65 µm Polidimetilsiloksan-Divinilbenzen (PDMS/DVB) tabakası ile kaplanan SPME fiberi (Mavi) ile 50°'de 15 dakikalık örnekleme işlemi gerçekleştirilmiştir. Uçucu bileşiklerin desorpsiyonu için GC/MS'in enjeksiyon portunda termal desorpsiyon işlemi 10 dk. boyunca 250°C'de gerçekleştirilmiştir.

Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi analizi

Yağlar; Headspace-SPME (HS-SPME) işleminden sonra GC/MS ile analiz edildi.

GC/MS analizi Agilent 5975 GC/Kütle Seçici Dedektör (MSD) sistemi ile gerçekleştirilmiştir. Innowax FSC kolonu (60 m x 0,25 mm, 0,25 mm film kalınlığı) ve taşıyıcı gaz olarak Helyum kullanılmıştır. GC sıcaklığı 60°C'de 10 dk. 4°C/dk. artışla 220°C'ye, 220°C'de 10 dk. 1°C/dk. artışla 240°C şeklinde belirlenmiştir. Analiz koşulları; spilitiz, elektron enerjisi 70 eV, kütle ağırlığı m/z 35-425 olarak programlanmıştır.

Bileşiklerin tanımlanması

Uçucu yağların bileşenleri, Baser Kütüphanesi, Adams Kütüphanesi, MassFinder Kütüphanesi, Wiley GC/MS Kütüphanesi ile kütle spektrumlarının karşılaştırılmasıyla belirlenmiştir [86,87,88] ve bunların tutulma indekslerinin karşılaştırılmasıyla doğrulanmıştır. Bu kimlikler, retansiyon sürelerinin, özgün numunelerle karşılaştırılmasıyla veya bunların bir dizi n-alkanlara bağlı alikonma indeksinin (RRI) karşılaştırılmasıyla gerçekleştirilmiştir. RRI hesaplanmasında referans noktaları olarak kullanılmıştır [89]. Ayrılan bileşiklerin bağlı yüzdeleri, FID kromatogramlarından hesaplandı. Analiz sonuçları ortalama yüzde $\pm$ standart sapma (SD) ($n = 3$) olarak ifade edilmiştir.

3.3.5. Antimikrobiyal aktivite

Araştırmada kullanılan mikroorganizmalar

Bakteri suşları; *Staphylococcus aureus* (ATCC 292013), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Streptococcus pyogenes* (ATCC 13615), *Propionibacterium acnes* (ATCC

6919), *Lactobacillus plantarum* (ATCC 80141), *Escherichia coli* (ATCC 35218), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145), mayalardan; *Candida albicans* (ATCC 10231), *Candida tropicalis* (ATCC 6258), *Candida parapsilosis* (ATCC 90028) ve dermatofitlerden; *Trichophyton rubrum* (RSKK 486), *Epidermophyton floccosum* (RSKK 3027) ve *Microsporum gypseum* (NCPF 580) dir.

Deneyde kullanılan malzemeler

Steril Kabin	(Chemocell LRCCX-UV, ClassII)
Ultrasonik Banyo	(Kotterman, 3165)
Otoklav	(Nüve, OT4060)
Hassas terazi	(Shimadzu, AW320)
Su banyosu	(Kotterman, 3165)
Pastör fırını	(NEL, Heraeus, NR900)
Kurutma fırını	(Heraeus, FB420)
Vortex	(Firlabo, V3000F)
İnkübatör	(Jouan, EB115)
Karbondioksitli inkübatör	(Nüve, EC160)
Isıticılı manyetik karıştırıcı	(BIOSAN, MSH300)
pH metre	(Hanna, HI5522-02)
Derin dondurucu	(Uğur, UDD 200 BKYS)
Buzdolabı	(İndesit No Frost)

Kontrol antibiyotikler

Referans antimikrobiyaller su (flukonazol, itrakonazol, levofloksazin, gentamisin) ve DMSO (ketokonazol, terbinafin) hazırlanıp denenmiştir. Stok solüsyonlar Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI; önceki adıyla; NCCLS) kriterlerine göre hazırlanmıştır.

MİK ve Anti-biyofilm aktivitesi için test numunelerinin hazırlanması ve değerlendirilmesi

Mikroorganizmalar ve inokulumların hazırlanması

Test maddeleri uygun çözücüde (dimetilsülfoksit (DMSO) %30:su %70) çözünmeleri sağlandıktan sonra 102,4 µg/ml konsantrasyonda hazırlanıp, 0,22 µm Millipore filtreden süzildükten sonra stok solüsyon olarak kullanılmıştır. Referans antimikrobiyaller su (flukonazol, itrakonazol, levofloksazin, gentamisin) ve DMSO (ketokonazol, terbinafin) içinde çözülmüşlerdir. Stok solüsyonlar Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI; önceki adıyla; NCCLS) kriterlerine göre hazırlanmıştır (CLSI, NCCLS, 1996) [90].

Antimikrobiyal aktivite testinde; mikroorganizmaların üretilmeleri ve dilüsyonların hazırlığında, Mueller-Hinton Broth (MHB; Difco), Todd-Hewid broth (Oxoid), Mueller-Hinton Agar (MHA; Oxoid), Trypticase Soy Agar (Oxoid); bakteri kültür ve supkültürler için, Sabouraud Dextrose Agar (SDA; Oxoid), Potato Dextrose Agar (PDA; Oxoid), Sabouraud liquid medium (SLM; Oxoid), ve L-glutaminli RPMI-1640, 3-[N-morfolino]-propansülfonik asit ile pH: 7, Sabouraud dextrose Agar (SDA; Oxoid) mantarların kültür hazırlığında ve supkültürlerde kullanılmıştır. Kültür süspansiyonları; her bakteri için CLSI kriterlerine göre McFarland $0,5 \times 10^8$ cfu/ml yoğunluğundaki bakteri kültür süspansiyonundan, hazırlanıp testte denenmiştir. Antifungal test süspansiyonu ise RPMI-1640 (L-glutamine, pH: 7, 3-[N-morpholino]-propansulfonic) ile spektrofotometrik olarak $2,5 \times 10^3$ cfu/ml yoğunlukta hazırlanmıştır [91-94].

Antibakteriyel ve antifungal aktivite tayininde mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır. Besiyerleri içeren 96-kuyulu mikropleytte maddelerin çift katlı seri dilüsyonları (128–0,125 µg/ml) yapılp; her örnek (3 tekrar) için 10 µl bakteri, maya benzeri fungus ve potato dextrose agarda 28°C’de 7-14 günde üretilmiş olan dermatofit kültür süspansiyonlarından RPMI ile hazırlanmış supkültürler (1×10^6 cfu/ml) ilave edilerek 37-28°C’de 18–24 saat inkübasyon sonrası MİK değerleri belirlenmiştir. Kontrol test maddesi içermeyen kuyucuklar teste ilave edilmiştir [95].

Kolorimetrik Mikrodilüsyon Testi ile Anti-Biyofilm aktivite (Modified Microtiter Plate Assay)

Biyofilm oluşumunun gözlemlenmesinde tüm mikroorganizmalar (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pyogenes*, *P. acnes*, *L. plantarum*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *T. rubrum*, *E. floccosum*, *M. gypseum*) mikroyerlerdeki kültürlerle spesifik besiyerlerinde 3 gün süreyle her gün taze besiyeri ile değiştirilerek 37-28°C’de inkübe edilmiştir. Resazurin sodyum tuzunun stok çözeltisi (steril distile su içindeki % 0,01’lik çözeltisi) filtre ile steril edilmiş ve test örneklerinin dilüsyonları (% 10-1) her bir kuyucuğa 5 µl (1g/l) hacimde eklenmiştir. Plaklar 37°C’de 24 saatten 48 saat inkübasyon sonrası maviden pembeye renk değişimi makroskopik değerlendirilmiştir. Renk değişiminin gözlemlenmediği en düşük konsantrasyon MİK olarak değerlendirilmiştir. Kontrol kuyucukları teste dahil edilmiştir [96].

4. BULGULAR

Eczane, aktar ve sağlık őrünü satan merkezlerden alınan 12 farklı marka çay ağacı yağı ve 13 numaralı standart olarak kullandığımız çay ağacı yağında yapılan tayinler sonucunda elde edilen bulgular bu bۆlümde verilmiştir.

Çalışmamızda elde edilen bulgular aşağıdaki sıra ile sunulmuştur.

1. Makroskobik Analiz
2. Çözünürlük Tayini
3. İTK Analiz Sonuçları
4. GC-MS Analiz Sonuçları
5. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

4.1. Satın Alınan örneklerin Görünümleri



Resim 4.1. Numune 1-6

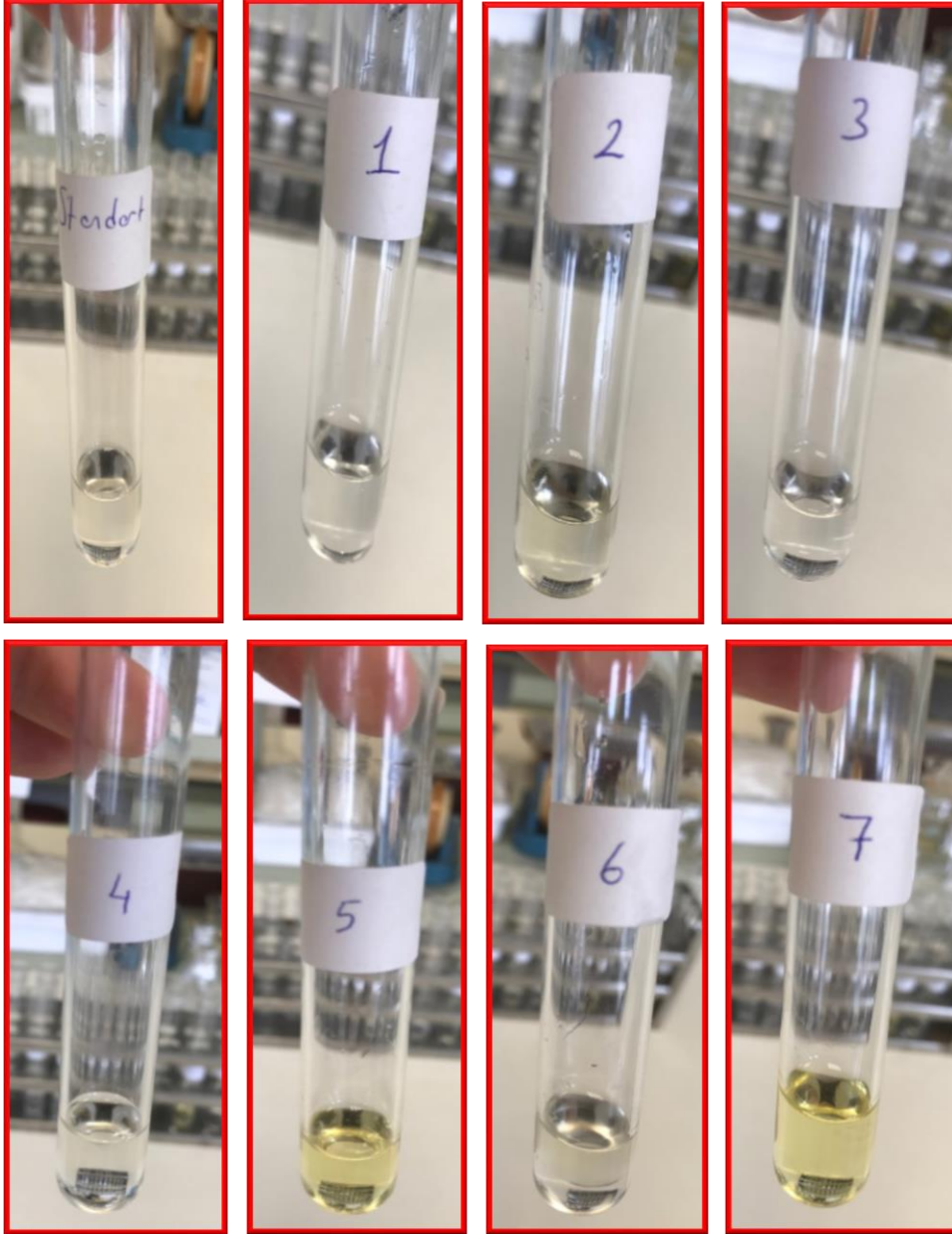


Resim 4.2. Numune 7-12

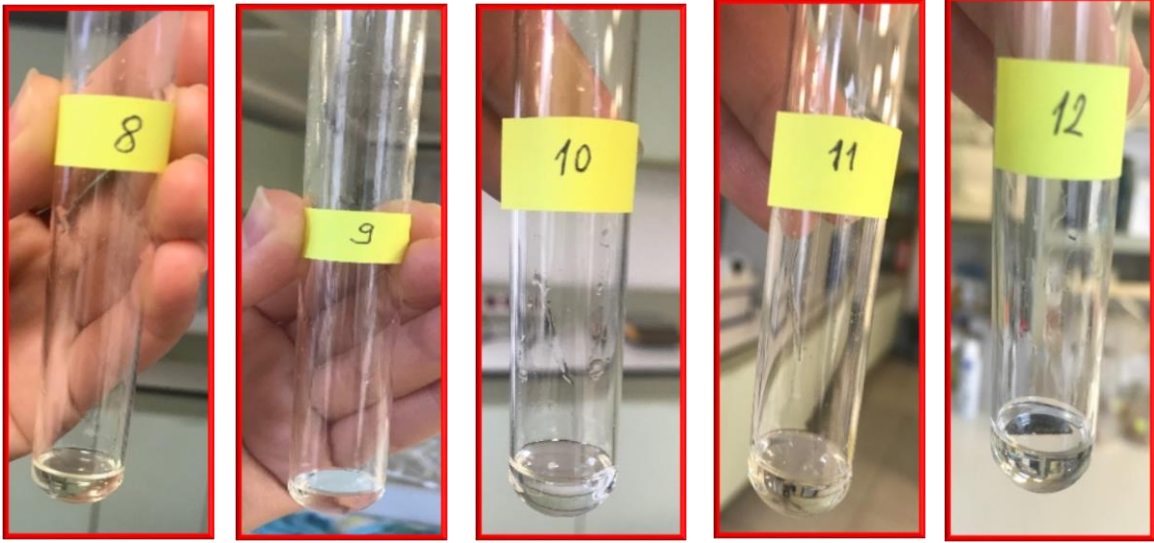
4.2. Bulgular

4.2.1. Makroskobik analiz

Renk kontrolü



Resim 4.3. Standart çay ağacı yağı ve numune 1-7



Resim 4.4. Numune 8-12

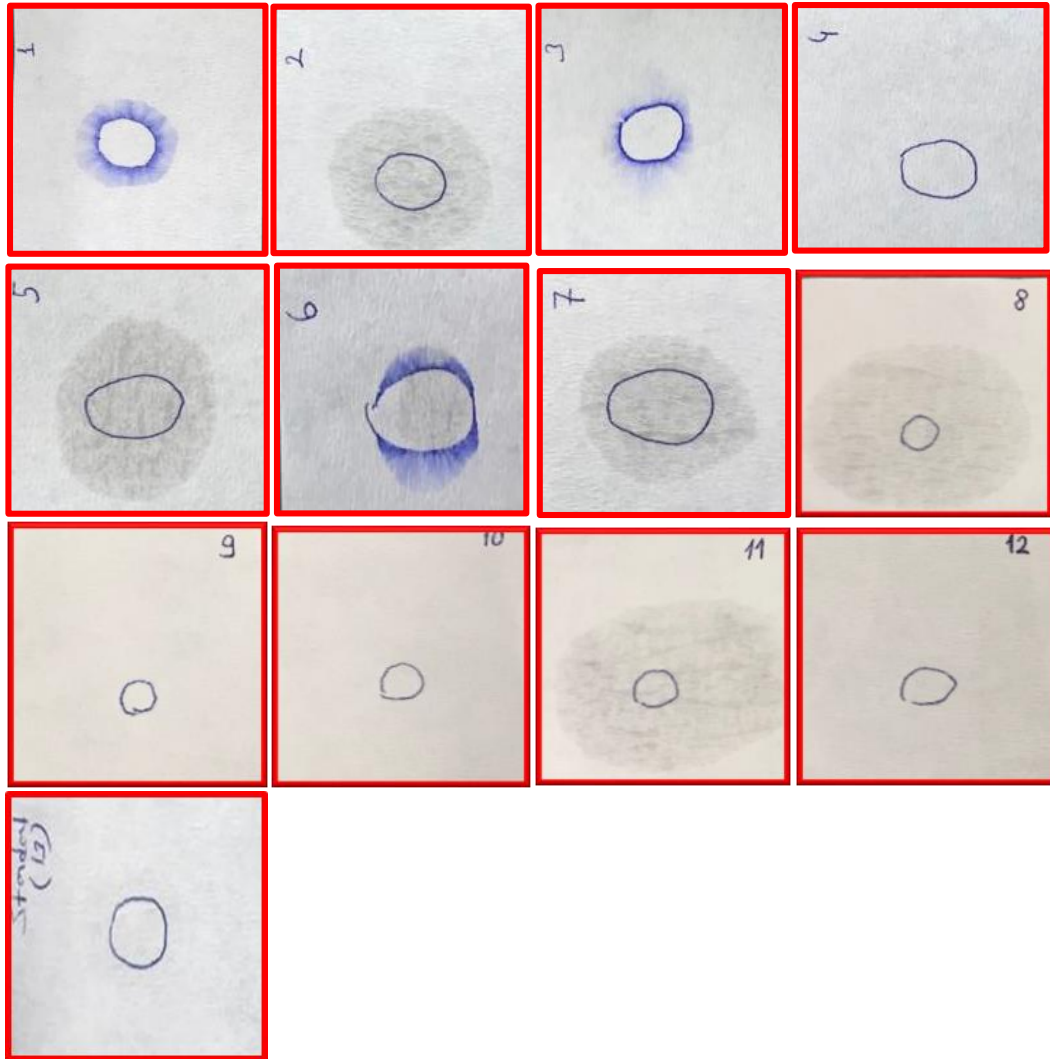
Avrupa Farmakopesi 8,0 'da çay ağacı yağının renksiz, uçuk sarı olması gerektiğini belirtmiştir.

Bulgularımız;

- Standart : Renksiz
- Numune 1 : Renksiz
- Numune 2 : Uçuk sarı
- Numune 3 : Renksiz
- Numune 4 : Uçuk sarı
- Numune 5 : Sarı
- Numune 6 : Uçuk sarı
- Numune 7 : Sarı
- Numune 8 : Uçuk sarı
- Numune 9 : Renksiz
- Numune 10: Renksiz
- Numune 11: Uçuk sarı
- Numune 12: Renksiz

5 ve 7 numaralı örnekler sarı renkleri ile renk kriterine uymamaktadırlar.

Leke kontrolü



Resim 4.5. Numune 1-12 ve standart çay ağacı yağı karışımı

Uçucu yağ ve sabit yağ farklarından biri uçucu yağın leke bırakmadığı sabit yağın ise leke bıraktığıdır.

Etüvde kurutma işleminden sonra Resim 4.5’de görüldüğü üzere lekelenmeler mevcuttur. Leke kalıntısı olması ürünlere sabit yağ ile katıştırma yapılmış olabileceğini göstermektedir. Standart yani organik çay ağacı yağı örneğimizde ve 9, 10 ve 12 numaralı örneklerimizde leke mevcut değildir, bu da bizlere tamaminin uçucu yağdan oluştuğunu göstermektedir.

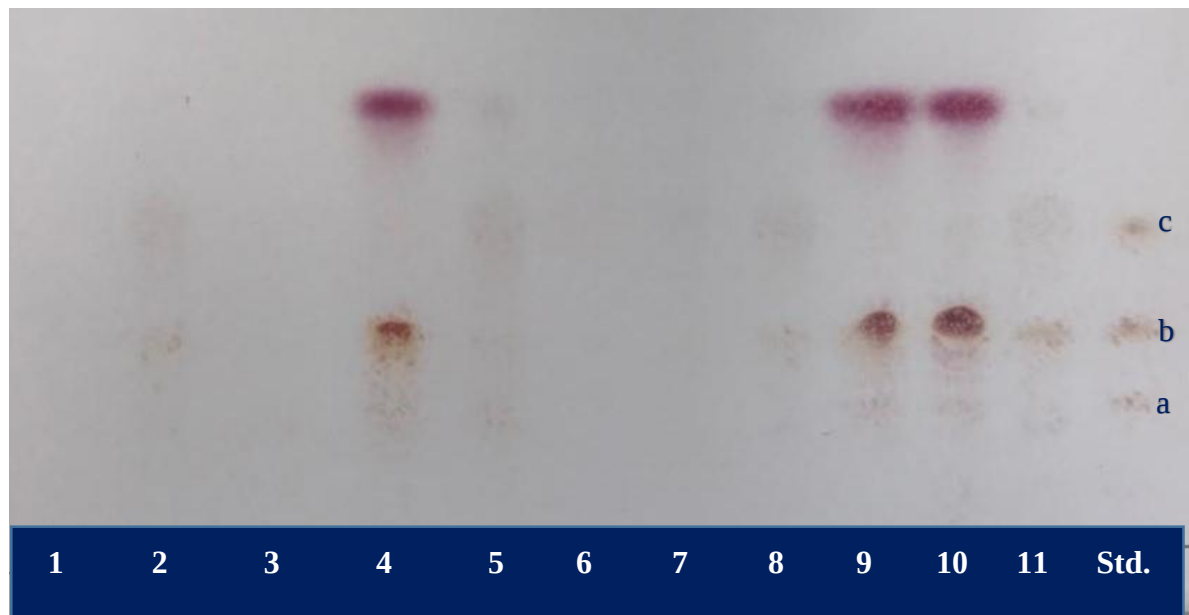
4.2.2. Çözünürlük tayini

Çizelge 4.1. Çay ağacı yağı numunelerinin çözünürlük tayin sonuçları

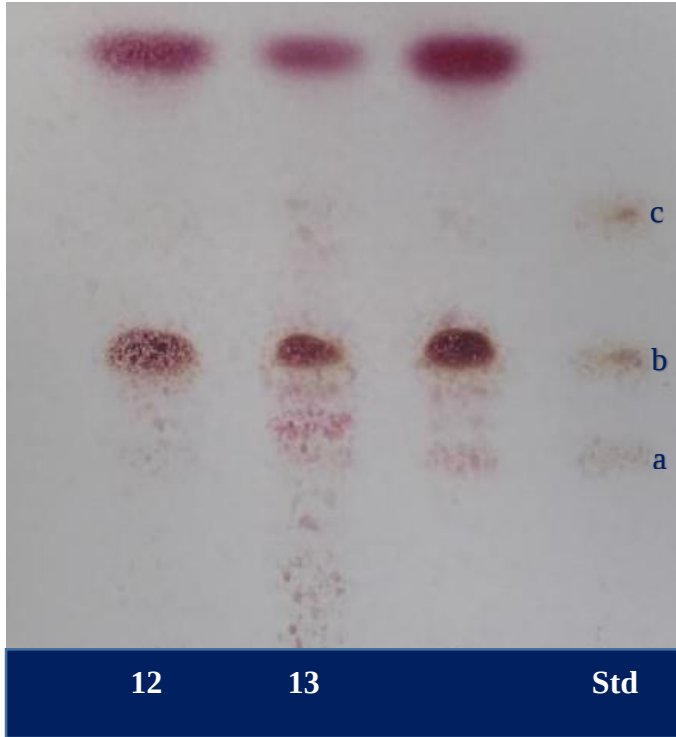
Örnek No	Distile Su	%96 Etanol	Kloroform	Dietil eter
1	Çözündü	Çözündü	Çözündü	Çözündü
2	Çözünmedi	Bulanık	Çözündü	Çözündü
3	Çözündü	Çözündü	Çözündü	Çözündü
4	Çözünmedi	Çözündü	Çözündü	Çözündü
5	Çözünmedi	Bulanık	Çözündü	Çözündü
6	Çözünmedi	Çözündü	Çözündü	Çözündü
7	Çözünmedi	Bulanık	Çözündü	Çözündü
8	Bulanık	Çözünmedi	Çözündü	Bulanık
9	Çözünmedi	Bulanık	Çözündü	Çözündü
10	Çözünmedi	Çözündü	Çözündü	Çözündü
11	Bulanık	Çözünmedi	Çözündü	Bulanık
12	Çözünmedi	Çözündü	Çözündü	Çözündü
13	Çözünmedi	Çözündü	Çözündü	Çözündü

Uçucu yağlar suda çözünmemesi gerekirken 1 ve 3 numaralı numuneler oldukça iyi çözünmüşlerdir, 8 ve 11 numaralı numuneler ise bulanıklık oluşturmuşlardır. Etanol, kloroform ve eterde iyi çözünmeleri gerekirken 2, 5, 7, 9 numaralı numunelerin etanolde bulanıklık oluşturduğu 8 ve 11 nolu numunelerin ise çözünmediği görülmüştür. Dietil eterde ise 8 ve 11 numaralı örnekler bulanıklık oluşturmuştur. Tüm örnekler kloroforda çözünmüştür.

4.2.3. İTK analiz sonuçları



Resim 4.6. Numune 1-11 ve standartların İTK kromatogramı (Std: sineol: terpinen-4-ol: α -terpineol karışımı, a: α -terpineol, b: terpinen-4-ol, c: sineol, mobil faz: Etil asetat R.: heptan R. (20:80 h/h))



Resim 4.7. Numune 12, 13 ve standartların İTK kromatogramı (Std: sineol: terpinen-4-ol: α -terpineol karışımı, 13: standart çay ağacı yağı, mobil faz: Etil asetat R.: heptan R. (20:80 h/h))

Standart olarak sineol, terpinen-4-ol ve α -terpineol karışımının kullanıldığı İTK analizinde Anisaldehit Revelatörünün püskürtülmesinin ardından plak 105°C'lik etüvde 5 dk. ısıtılmış ve oluşan renklenmeler gözlenmiştir. Avrupa Farmakopesi 8,0'a göre sineol: mor-kahverengi (en üstte), terpinen-4-ol: kahverengimsi-mor (orta hatta), α -terpineol: mor veya kahverengimsi-mor (en altta) renkte görülmesi gerekmektedir. İTK çalışmasının sonucunda, numune 2, 5 ve 7-11, 12(eser)'nin sineol, numune 2, 4, 5, 8-12'nin terpinen-4-ol ve numune 4, 5, 8(eser), 9, 11 ve 12'nin α -terpineol içerdikleri tespit edilmiştir.

4.2.4. GC/MS analiz sonuçları

12 farklı marka çay ağacı yağı ve 13 numaralı standart olarak kullandığımız çay ağacı yağlarının GC/MS analiz sonuçları Çizelge 4.2. ve 4.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. (devam) 1-8 numaralı örneklerle ait HS-SPME-GC/MS analiz sonuçları

RRI	Bileşikler	1 %	2 %	3 %	4 %	5 %	6 %	7 %	8 %	IM Identification Metod
1571	<i>trans-p</i> -Ment-2-en-1-ol	-	-	-	-	-	-	-	-	MS
1583	Junipen	0,3	-	-	-	-	-	-	-	MS
1584	Terpin-1-ol	0,7	0,4	-	-	0,1	-	-	-	tr
1591	Fensil alkol	0,1	-	-	-	-	-	-	-	MS
1600	β -Elemen	0,1	-	-	-	-	-	-	-	MS
1604	Izobornil asetat	-	-	-	-	-	47,7	-	-	t _R , MS
1611	Terpinen-4-ol	0,7	27,7	-	14,9	13,5	3,6	-	27,3	t _R , MS
1612	β -Karyofillen	0,2	-	-	0,3	-	0,7	-	-	t _R , MS
1628	Aromadendren	-	-	-	0,7	-	-	-	-	MS
1634	Selina-5,11-dien	-	-	-	0,1	-	-	-	-	MS
1638	<i>cis-p</i> -Ment-2-en-1-ol	-	-	-	tr	-	-	-	-	MS
1638	Mentol	-	-	-	-	-	-	0,5	-	tr
1639	Kadina-3,5-dien	-	-	-	tr	-	-	-	-	MS
1641	<i>cis</i> - β -Terpineol	0,4	0,5	0,2	-	0,2	-	-	0,3	tr
1645	Tuyopsen	-	-	-	-	-	0,2	-	-	MS
1661	Alloaromadendren	-	-	-	0,3	-	-	-	-	MS
1664	<i>trans</i> -Pinokarveol	-	-	-	-	-	-	-	0,1	t _R , MS
1678	<i>epi</i> -Zonaren	-	-	-	0,1	-	-	-	-	MS
1682	δ -Terpineol	-	tr	-	-	-	-	-	-	t _R , MS
1684	Izoborneol	0,1	0,1	-	-	tr	-	-	-	tr
1687	α -Humulen	-	-	-	-	0,2	-	-	-	t _R , MS
1690	<i>trans</i> - β -Terpineol	0,1	0,1	-	-	0,2	-	-	0,1	tr
1693	γ -Terpinil asetat	-	-	-	-	-	0,1	-	-	t _R , MS
1700	Limonen-4-ol	-	-	-	0,1	-	-	-	-	MS
1704	γ -Muurolen	-	-	-	-	tr	-	-	-	MS
1706	α -Terpinil asetat	-	-	0,5	-	-	0,3	0,1	-	t _R , MS
1707	α -Terpineol	14,8	4,7	6,9	1,6	14,8	0,5	0,1	4,0	t _R , MS
1708	Leden	-	-	-	0,7	-	-	-	-	MS
1719	Borneol	-	tr	-	-	-	-	-	-	t _R , MS
1722	Bisikloseskifellandren	-	-	-	-	-	-	-	-	MS
1729	<i>cis</i> -1,2-Epoksi-terpin-4-ol	-	-	-	-	-	-	-	0,7	MS
1729	δ -Guaien	-	-	-	-	0,1	-	-	-	MS
1740	α -Muurolen	-	-	-	0,1	-	-	-	-	MS

Çizelge 4.2. (devam) 1-8 numaralı örneklerle ait HS-SPME-GC/MS analiz sonuçları

RRI	Bileşikler	1 %	2 %	3 %	4 %	5 %	6 %	7 %	8 %	IM Identification Metod
1742	β -Selinen	-	-	-	-	tr	-	-	-	MS
1744	α -Selinen	-	-	-	-	tr	-	-	-	MS
1747	Benzil asetat	-	-	-	-	-	-	0,4	-	MS
1751	Bisiklogermakren	-	-	-	-	-	-	-	-	MS
1751	2-Okso-1,4-sineol	-	-	-	-	-	-	-	0,1	MS
1765	Geranil asetat	-	-	-	-	-	0,4	0,1	-	t _R , MS
1772	Sitronellol	-	-	-	-	-	-	0,2	-	t _R , MS
1772	δ -Kadinen	-	-	-	0,4	0,1	-	-	-	t _R , MS
*1786	Sentetik bileşik	-	-	-	-	-	-	0,1	-	MS
*1793	Sentetik bileşik	5,0	-	-	-	-	3,6	0,1	-	MS
1797	Kubenen	-	-	-	-	tr	-	-	-	MS
*1800	Sentetik bileşik	4,8	-	-	-	-	4,2	-	-	MS
1808	Nerol	-	-	-	-	-	-	0,2	-	t _R , MS
*1819	Sentetik bileşik	1,1	-	-	-	-	0,7	-	-	MS
*1842	Dipropilen glikol	8,9	-	0,2	-	-	7,2	0,2	0,1	MS
1845	(E)-Anetol	-	-	-	-	-	-	0,2	-	MS
1853	cis-Kalamenen	-	-	-	-	0,1	-	-	-	MS
1857	Geraniol	-	-	-	-	-	-	0,2	-	t _R , MS
*1864	Sentetik bileşik	1,1	-	-	-	-	0,8	-	-	MS
1864	p-Simen-8-ol	-	-	-	-	tr	-	-	-	t _R , MS
1896	Benzil alkol	-	-	-	-	-	0,8	0,4	0,1	MS
1937	Feniletıl alkol	-	-	-	-	-	-	1,5	-	MS
1953	Hidroksi sitronellal	-	-	-	-	-	-	0,5	-	t _R
2008	Karyofillen oksit	-	-	-	-	tr	-	-	-	t _R , MS
2053	Anisaldehit	-	-	-	-	-	-	0,1	-	t _R
2127	4-Hidroksi-4-metil-sikloheks-2-enon	-	-	-	-	-	-	-	-	MS
2144	Spatulenol	-	-	-	-	-	-	-	-	t _R , MS
2187	cis-p-Ment-3-en-1,2-diol	-	-	-	-	-	-	-	-	MS
2246	Karvakrol	-	-	-	-	-	0,1	-	-	t _R , MS

tr: eser miktar

Çizelge 4.3. 9-14 numaralı örneklerle ait HS-SPME-GC/MS analiz sonuçları

RRI	Bileşikler	9 %	10 %	11 %	12 %	13 %	IM Identification Metod
1032	α -Pinen	11,1	8,9	24,0	11,0	2,2	tr, MS
1076	Kamfen	-	-	-	-	-	tr, MS
1118	β -Pinen	1,5	1,7	4,6	1,4	-	tr, MS
1132	Sabinen	Tr	0,2	0,2	0,1	tr	tr, MS
1174	Mirsen	1,1	0,6	0,5	0,8	-	tr, MS
1176	α -Fellandren	-	0,5	-	-	-	tr, MS
1188	α -Terpinen	22,4	13,2	5,1	9,4	9,2	tr, MS
1203	Limonen	0,6	0,7	12,5	0,7	0,9	tr, MS
1213	1,8-Sineol	9,8	10,3	2,4	8,4	3,4	tr, MS
1255	γ -Terpinen	23,8	21,9	17,2	21,8	20,3	tr, MS
1266	(E)- β -Osimen	-	-	-	-	-	tr, MS
1280	p-Simen	7,2	17,9	8,7	19,4	2,5	tr, MS
1290	Terpinolen	5,7	4,4	6,4	4,0	3,4	tr, MS
1391	(Z)-3-Heksenol	-	-	-	-	-	tr, MS
1452	p-Simenen	0,1	0,2	-	0,2	-	MS
1466	α -Kubeben	-	-	-	tr	-	MS
1471	Asetik asit	-	-	-	-	-	MS
1474	trans-Sabinen hidrat	-	-	-	-	-	tr, MS
1476	Menton	-	-	-	-	-	tr
1476	4,8-Epoksiterpinolen	-	0,1	-	0,1	-	MS
1479	(E,Z)-2,4-Heptadienal	-	-	-	-	-	MS
1484	Bisikloelemen	-	-	-	-	-	MS
1497	α -Kopaen	Tr	0,1	-	0,1	-	MS
1503	Izomenton	-	-	-	-	-	tr
1506	(E,E)-2,4-Heptadienal	-	-	-	-	-	MS
1522	3,5-Oktadien-2-on	-	-	-	-	-	MS
*1529	Propilen glikol	-	-	-	-	-	MS
1532	Kamfor	-	-	tr	-	-	tr, MS
1535	Pinokamfon	-	-	-	-	-	MS
1541	Benzaldehit	-	-	-	-	-	MS
1544	α -Gurjunen	0,1	0,2	-	0,3	-	MS
1550	β -Kubeben	-	-	-	-	-	MS
1553	Linalol	-	-	tr	-	-	tr, MS
1565	Linalil asetat	-	-	-	-	-	tr, MS

Çizelge 4.3. (devam) 9-14 numaralı örneklere ait HS-SPME-GC/MS analiz sonuçları

RRI	Bileşikler	9 %	10 %	11 %	12 %	13 %	IM Identification Metod
1565	Propionik asit	-	-	-	-	-	MS
1571	<i>trans-p</i> -Ment-2-en-1-ol	0,1	-	-	0,1	-	MS
1583	Junipen	-	-	-	-	-	MS
1584	Terpin-1-ol	-	-	-	-	-	tr
1591	Fensil alkol	-	-	-	-	-	MS
1600	β -Elemen	-	-	-	-	-	MS
1604	Izobornil asetat	-	-	-	-	-	tr, MS
1611	Terpinen-4-ol	14,2	14,6	15,8	15,6	46,4	tr, MS
1612	β -Karyofillen	0,1	0,2	0,1	0,3	-	tr, MS
1628	Aromadendren	0,4	0,7	-	1,2	0,9	MS
1634	Selina-5,11-dien	Tr	0,1	-	0,1	-	MS
1638	<i>cis-p</i> -Ment-2-en-1-ol	Tr	-	-	tr	-	MS
1638	Mentol	-	-	-	-	-	tr
1639	Kadina-3,5-dien	Tr	-	-	tr	-	MS
1641	<i>cis</i> - β -Terpineol	-	-	0,1	-	-	tr
1645	Tuyopsen	-	-	-	-	-	MS
1661	Alloaromadendren	0,1	0,3	-	0,4	-	MS
1664	<i>trans</i> -Pinokarveol	-	-	-	-	-	tr, MS
1678	<i>epi</i> -Zonaren	-	0,1	-	0,1	-	MS
1682	δ -Terpineol	-	-	-	-	-	tr, MS
1684	Izoborneol	-	-	-	-	-	tr
1687	α -Humulen	-	-	-	-	-	tr, MS
1690	<i>trans</i> - β -Terpineol	-	-	-	-	-	tr
1693	γ -Terpinil asetat	-	-	-	-	-	tr, MS
1700	Limonen-4-ol	-	0,1	-	0,1	-	MS
1704	γ -Muurolen	-	-	-	-	-	MS
1706	α -Terpinil asetat	-	-	-	-	-	tr, MS
1707	α -Terpineol	1,5	1,5	2,1	1,5	3,9	tr, MS
1708	Leden	0,1	0,4	-	0,9	0,1	MS
1719	Borneol	-	-	-	-	-	tr, MS
1722	Bisikloeskifellandren	-	-	-	-	-	MS
1729	<i>cis</i> -1,2-Epoksi-terpin-4-ol	-	0,2	0,1	0,5	-	MS
1729	δ -Guaïen	-	-	-	-	-	MS
1740	α -Muurolen	-	0,1	-	0,1	-	MS

Çizelge 4.3. (devam) 9-14 numaralı örneklere ait HS-SPME-GC/MS analiz sonuçları

RRI	Bileşikler	9 %	10 %	11 %	12 %	13 %	IM Identification Metod
1742	β -Selinen	-	-	-	-	-	MS
1744	α -Selinen	-	-	-	0,1	-	MS
1747	Benzil asetat	-	-	-	-	-	MS
1751	Bisiklogermakren	-	-	-	-	-	MS
1751	2-Okso-1,4-sineol	-	0,1	-	0,1	-	MS
1765	Geranil asetat	-	-	-	-	-	t _R , MS
1772	Sitronellol	-	-	-	-	-	t _R , MS
1772	δ -Kadinen	0,1	0,3	-	0,6	1,2	t _R , MS
*1786	Sentetik bileşik	-	-	-	-	-	MS
*1793	Sentetik bileşik	-	-	-	-	-	MS
1797	Kubenen	-	-	-	0,1	-	MS
*1800	Sentetik bileşik	-	-	-	-	-	V
1808	Nerol	-	-	-	-	-	t _R , Ms
*1819	Sentetik bileşik	-	-	-	-	-	MS
*1842	Dipropilen glikol	-	-	-	-	-	MS
1845	(E)-Anetol	-	-	-	-	-	MS
1853	cis-Kalamenen	-	tr	-	0,1	-	MS
1857	Geraniol	-	-	-	-	-	t _R , MS
*1864	Sentetik bileşik	-	-	-	-	-	MS
1864	p-Simen-8-ol	-	0,1	-	0,1	-	t _R , MS
1896	Benzil alkol	-	-	-	-	-	MS
1937	Feniletil alkol	-	-	-	-	-	MS
1953	Hidroksi sitronellal	-	-	-	-	-	t _R
2008	Karyofillen oksit	-	-	-	-	-	t _R , MS
2053	Anisaldehit	-	-	-	-	-	t _R
2127	4-Hidroksi-4-metil-sikloheks-2-enon	-	-	-	0,1	-	MS
2144	Spatulenol	-	-	-	tr	-	t _R , MS
2187	cis-p-Ment-3-en-1,2-diol	-	tr	-	tr	-	MS
2246	Karvakrol	-	-	-	-	-	t _R , MS

4.2.5. Antimikrobiyal aktivite sonuçları

Çizelge 4.4 ve 4.5’de görüldüğü gibi; numunelerde (1-13) antimikrobiyal aktivite; mikrodilüsyon testi ile Gram pozitif bakterilere (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Propionibacterium acnes*, *Lactobacillus plantarum*), Gram negatif bakterilere (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), mantarlara (*Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*) ve dermatofitlere (*Microsporum gypseum*, *Trichophyton rubrum*, *Epidermophyton floccosum*) karşı araştırılmıştır. Antimikrobiyal (antibakteriyel, antifungal, antidermatofitik) aktivitede minimum inhibisyon konsantrasyonları (MİK; h/h) belirlenmiştir. Tüm örneklerde Biyofilm oluşumu üzerindeki etkileri kolorimetrik mikrodilüsyon testi kullanılarak anti-biyofilm aktiviteleri (MABCs; h/h) değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.4’de görüldüğü gibi Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerilere (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pyogenes*, *P. acnes*, *L. plantarum*, *E. coli*, *P. aeruginosa*) karşı MİK (h/h) ve MABCs (h/h) değerleri denenen tüm örneklerde (1-13); %0,5-6 arasında tespit edilmiştir. Standart olarak denenen numune 13’de ise diğer tüm örneklere oranla %0,5-2 aralığında daha yüksek antibakteriyel (MİK; h/h) ve anti-biyofilm aktivite (MABCs: h/h) görülmüştür.

Gram pozitif bakterilerden *P. acnes*’e karşı tüm örneklerde (1-13), %0,5 (MİK, MABCs) değerinde dikkate değer antibakteriyel ve anti-biyofilm aktivite belirlenmiştir. Araştırmada yer alan diğer Gram pozitif bakterilerden; *L. plantarum*’a karşı ise tüm örneklerde (1-13); %1 (MİK, MABCs) değerinde antibakteriyel ve anti-biyofilm aktivite görülmüştür (Çizelge 4.4).

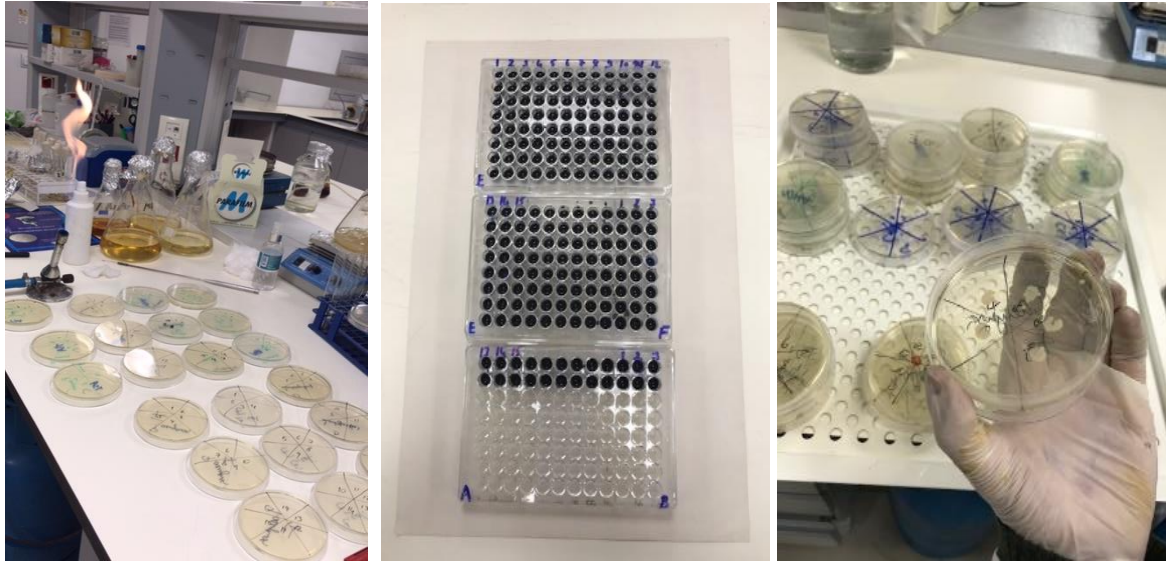
Çizelge 4.5’de görüldüğü gibi maya benzeri funguslar (*C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*) ve dermatofitlere (*M. gypseum*, *T. rubrum*, *E. floccosum*) karşı denenen tüm örneklerde (1-13); %1-4 (h/h) aralığında anti-biyofilm aktivite ile birlikte antifungal aktivite (MİK, MABCs) ve antidermatofitik (MİK, MABCs) aktivite görülmüştür.

C. albicans, *C. tropicalis* ve *C. parapsilosis*’e karşı denenen tüm örneklerde (1-13); %1-2 (h/h) aralığında antifungal (MİK) ve anti-biyofilm (MABCs) aktivite görülmüştür. *C.*

krusei'ye karşı ise denenen tüm örneklerde (1-14); %2-4 (h/h) aralığında anti-biyofilm aktivite ile birlikte antifungal aktivite belirlenmiştir (Çizelge 4.5).

Antidermatofitik aktivite (MİK) ve anti-biyofilm aktivite (MABCs) ise denenen tüm örneklerde (1-13); *M. gypseum*, *T. rubrum* ve *E. floccosum*'a karşı %2-4 (h/h) aralığında tespit edilmiştir (Çizelge 4.5).

Araştırmaya dahil edilen kontrol antibiyotiklerinden; levofloksasin (MİK; 0,25 µg/ml), gentamisin (MİK; 0,5 µg/ml), ketokonazol (MİK; 1-4 µg/ml), flukonazol (MİK; 2-64 µg/ml), itrakonazol (MİK; 0,25-0,5 µg/ml) ve terbinafin (MİK; 0,25-0,5 µg/ml) ile test kontrolü sağlanmıştır.



Resim 4.8. Laboratuvarda yapılan antimikrobiyal aktivite çalışmaları

Çizelge 4.4. Numunelerin antibakteriyel aktivitede MİK (h/h) ve anti-biyofilm (Minimum Anti-biyofilm konsantrasyon; MABCs; µg/ml) sonuçları 57

Numuneler	Mikroorganizmalar													
	Gram-pozitif										Gram-negatif			
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923		<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228		<i>S. pyogenes</i> ATCC 13615		<i>P. acnes</i> ATCC 6919		<i>L. plantarum</i> ATCC 80141		<i>E. coli</i> ATCC 35218		<i>P. aeruginosa</i> ATCC 10145	
	MİK	MABK	MİK	MABK	MİK	MABK	MİK	MABK	MİK	MABK	MİK	MABK	MİK	MABK
1	% 4	% 6	% 2	% 6	% 2	% 6	% 0.5	% 0.5	% 1	% 1	% 6	% 6	% 6	% 6
2	% 4	% 6	% 2	% 6	% 2	% 6	% 0.5	% 0.5	% 1	% 1	% 6	% 6	% 6	% 6
3	% 4	% 6	% 2	% 6	% 2	% 6	% 0.5	% 0.5	% 1	% 1	% 6	% 6	% 6	% 6
4	%4	% 6	% 2	% 6	% 2	% 6	% 0.5	% 0.5	% 1	% 1	% 6	% 6	% 6	% 6
5	% 4	% 6	% 2	% 6	% 2	% 6	% 0.5	% 0.5	% 1	% 1	% 6	% 6	% 6	% 6
6	% 4	% 6	% 2	% 6	% 2	% 6	% 0.5	% 0.5	% 1	% 1	% 6	% 6	% 6	% 6
7	% 4	% 6	% 2	% 6	% 2	% 6	% 0.5	% 0.5	% 1	% 1	% 6	% 6	% 6	% 6
8	% 4	% 6	% 2	% 6	% 2	% 6	% 0.5	% 0.5	% 1	% 1	% 6	% 6	% 6	% 6
9	% 4	% 6	% 2	% 6	% 2	% 6	% 0.5	% 0.5	% 1	% 1	% 6	% 6	% 6	% 6
10	% 4	% 6	% 2	% 6	% 2	% 6	% 0.5	% 0.5	% 1	% 1	% 6	% 6	% 6	% 6
11	% 4	% 6	% 2	% 6	% 2	% 6	% 0.5	% 0.5	% 1	% 1	% 6	% 6	% 6	% 6
12	% 4	% 6	% 2	% 6	% 2	% 6	% 0.5	% 0.5	% 1	% 1	% 6	% 6	% 6	% 6
13	% 1	% 2	% 1	% 2	% 1	% 2	% 0.5	% 0.5	% 1	% 1	% 1	% 2	% 1	% 2
LFX	0,25		0,25		0,25		<0,12		<0,12		<0,12		-	
GM	-		-		-		-		-		-		0,5	

MİK: Minumum inhibisyon konantrasyonu (µg/ml), MABK: Minimum Anti-Biyofilm konsantrasyon (µg/ml), *S. aureus*: *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*: *Staphylococcus epidermidis*,
S. pyogenes: *Streptococcus pyogenes*, *P. acnes*: *Propionibacterium acnes*, *L. plantarum*: *Lactobacillus plantarum*, *E. coli*: *Escherichia coli*, *P. aeruginosa*: *Pseudomonas aeruginosa*,
ATCC: Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu, LFX: Levofloksasin, GM: Gentamisin.

Çizelge 4.5. Numunelerin antifungal aktivitede MİK (µg/ml) ve anti-biyofilm (Minimum Antibiofilm konsantrasyon; MABCs; µg/ml) sonuçları

Numuneler	Funguslar													
	Maya benzeri funguslar								Dermatofitler					
	<i>C. albicans</i> ATCC10231		<i>C. krusei</i> ATCC 6258		<i>C. tropicalis</i> ATCC 13803		<i>C. parapsilosis</i> ATCC 90028		<i>M. gypseum</i> NCPF 580		<i>T. rubrum</i> RSKK 486		<i>E. floccosum</i> RSKK 3027	
	MİK	MABK	MİK	MABK	MİK	MABK	MİK	MABK	MİK	MABK	MİK	MABK	MİK	MABK
1	% 1	% 2	% 2	% 4	% 1	% 2	% 1	% 2	% 2	% 4	% 2	% 4	% 2	% 4
2	% 1	% 2	% 2	% 4	% 1	% 2	% 1	% 2	% 2	% 4	% 2	% 4	% 2	% 4
3	% 1	% 2	% 2	% 4	% 1	% 2	% 1	% 2	% 2	% 4	% 2	% 4	% 2	% 4
4	% 1	% 2	% 2	% 4	% 1	% 2	% 1	% 2	% 2	% 4	% 2	% 4	% 2	% 4
5	% 1	% 2	% 2	% 4	% 1	% 2	% 1	% 2	% 2	% 4	% 2	% 4	% 2	% 4
6	% 1	% 2	% 2	% 4	% 1	% 2	% 1	% 2	% 2	% 4	% 2	% 4	% 2	% 4
7	% 1	% 2	% 2	% 4	% 1	% 2	% 1	% 2	% 2	% 4	% 2	% 4	% 2	% 4
8	% 1	% 2	% 2	% 4	% 1	% 2	% 1	% 2	% 2	% 4	% 2	% 4	% 2	% 4
9	% 1	% 2	% 2	% 4	% 1	% 2	% 1	% 2	% 2	% 4	% 2	% 4	% 2	% 4
10	% 1	% 2	% 2	% 4	% 1	% 2	% 1	% 2	% 2	% 4	% 2	% 4	% 2	% 4
11	% 1	% 2	% 2	% 4	% 1	% 2	% 1	% 2	% 2	% 4	% 2	% 4	% 2	% 4
12	% 1	% 2	% 2	% 4	% 1	% 2	% 1	% 2	% 2	% 4	% 2	% 4	% 2	% 4
13	% 1	% 2	% 2	% 4	% 1	% 2	% 1	% 2	% 2	% 4	% 2	% 4	% 2	% 4
KET	1		4		1		1		-		-		-	
FLU	2		64		2		4		-		-		-	
ITZ	-		-		-		-		0,25		0,50		0,25	
TBF	-		-		-		-		0,50		0,25		0,50	

MİK: Minumum inhibisyon konantrasyonu (µg/ml), MABK: Minimum Anti-Biofilm konsantrasyon (µg/ml), *C. albicans*: *Candida albicans*, *C.krusei*: *Candida krusei*, *C. tropicalis*: *Candida tropicalis*, *C. parapsilosis*: *Candida parapsilosis*, *T. rubrum*: *Trichophyton rubrum*, *E. floccosum*: *Epidermophyton floccosum*, *M. gypseum*: *Microsporum gypseum*,

ATCC: Amerikan tipi kültür koleksiyonu, RSKK: Refik Saydam Kültür Kolleksiyonu, NCPF: National Collection of Pathogenic Fungi, KET: Ketokonazol, FLU: Flukonazol, ITZ: Itrakonazol, TBF: Terbinafin

5. TARTIŞMA

“Piyasada Satılan Çay Ağacı Yağlarının Avrupa Farmakopesi Monograf Kriterleri Yönünden Değerlendirilmesi ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin İncelenmesi” isimli tezimizde; eczaneler, aktarlar ve sağlık ürünü satan yerlerden alınan çay ağacı yağı örneklerinde Avrupa Farmakopesi 8,0’da yer alan “Tea Tree Oil” monografına göre kalite kontrol analizleri yapılmış ve özellikle antimikrobiyal özellikleri ile satışı provake edilen piyasa ürünleri antimikrobiyal aktivite yönünden test edilmiştir.

Melaleuca alternifolia (Maiden and Betch) Cheel, *M. linariifolia* Smith, *M. dissitiflora* F. Mueller ve/veya *Melaleuca*’nın diğer türlerinin terminal dallarından veya yapraklarından buhar distilasyonu ile elde edilen uçucu yağdır. Türkiye piyasasında “Çay ağacı yağı” olarak bilinmektedir. Avustralya’da doğal olarak yetişen bu ağaçlardan elde edilen uçucu yağ, Avustralya halkı tarafından da yüzyıllardır deri enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır. Aromaterapide de oldukça yaygın olarak kullanılan bu yağ üzerinde yapılmış birçok in vitro, in vivo ve klinik çalış ma mevcuttur. Ülkemizde bitkisel ürün satan dükkan, AVM’lerde kozmetik ürün satışı yapılan mağazalarda, aktarlarda ve eczanelerde oldukça rağbet gören yağlar arasındadır. Özellikle akne ve dermatofit enfeksiyonları için tavsiye edilen bu yağla ilgili pekçok firmanın ithalatını yaptığı ticari ürün bulunmaktadır. Bu yağların Sağlık Bakanlığı Kozmetik Dairesi’nden izinli olarak piyasaya girmeleri gerekmektedir.

Çalışmamızda toplanan numunelerin ambalajlarında sadece bir yağda %100 saftır ibaresine rastlanırken bir yağda da %52 çay ağacı yağı ve %48 ayçiçek yağı bulunmaktadır şeklinde bir ifade mevcuttur. Uçucu yağlar son derece pahalı bitkisel ürünler olmaları sebebiyle sıklıkla karşılaşılan sorunların başında tahşışat gelmektedir. Tahşışat yapmak için en çok başvurulanan yöntemler aşağıda verilmiştir;

1. Su (Konifer ve Citrus uçucu yağları gibi),
2. Alkol,
3. Sabit yağ veya mineral yağlarla,
4. Yüksek ısıda kaynayan glikollerle (polietilen glikol vb.),
5. Benzer bileşime sahip diğer türlerden veya benzer türlerden elde edilen daha ucuz uçucu yağlarla,

6. Uçucu yağların fraksiyonları,
7. Doğal izolatlar,
8. Sentetik türevli bileşiklerle,
9. Enzimatik olarak üretilen kimyasallar,
10. Sıkma sonucu elde edilen artıklarda kalan uçucu bileşiklerle [97].

Tahşişat için en kolay yapılan testler; leke kontrolü ve çözünürlük testleridir. Leke kontrolü testinde, etüvde kurutma işleminden sonra bazı numunelerde lekelenmeler oluşmuştur (Resim 4.5). Leke kalıntısı olması ürünlere sabit yağ ile katıştırma yapılmış olabileceğini göstermektedir. Standart yani organik çay ağacı yağı örneğimizde ve 9, 10 ve 12 numaralı numunelerimizde leke mevcut değildir, bu da bizlere bu numunelerde bir sabit yağ tahşişatının olmadığını göstermiştir.

Çözünürlük testinde uçucu yağların suda çözünmemesi beklenirken; 1 ve 3 numaralı numunelerin oldukça iyi çözündükleri görülmüştür. 8 ve 11 numaralı numuneler ise bulanıklık oluşmuştur. Etanol, kloroform ve eterde iyi çözünmeleri gerekirken 2, 5, 7, 9 numaralı numunelerin etanolde bulanıklık oluşturduğu, 8 ve 11 nolu numunelerin ise çözünmediği görülmüştür. Dietil eterde ise 8 ve 11 numaralı numuneler bulanıklık oluşturmuştur. Tüm numuneler kloroforda çözünmüştür (Çizelge 4.1). Çözünürlük sonuçları; 4, 6, 10, 12 ve 13 numaralı numunelerin uygun olduğunu göstermiştir.

Avrupa Farmakopesi 8,0; çay ağacı yağının renksiz, uçuk sarı olması gerektiğini belirtmiştir. Makroskobik olarak tespit ettiğimiz görünüm sonuçları; numune 5 ve 7 (sarı) dışındaki tüm örneklerin Farmakope'nin istediği renklere sahip olduğunu göstermiştir.

Avrupa Farmakopesi 8,0; çay ağacı yağında İTK ile sineol, terpinen-4-ol ve α -terpineol bileşiklerinin varlığının tespit edilmesini ister. İTK çalışmasının sonucunda, numune 2,5 ve 7-11, 12 (eser)'nin sineol, numune 2, 4, 5, 8-12'nin terpinen-4-ol ve numune 4, 5, 8 (eser), 9, 11 ve 12'nin α -terpineol içerdikleri tespit edilmiştir. 4, 8, 9, 11 ve 12 nolu numunelerin üç terpenik bileşiği de taşıdığı söylenebilir (Resim 4.6 ve 4.7).

Çay ağacı yağı numunelerinde yapılan GC ve GC-MS analizleri sonucunda, 1, 6 ve 7 nolu numunelerde sentetik bileşikler olduğu; 1,6 ve 8 numaralı numunelerin dipropilen glikolle, 3 numaralı numunenin ise hem dipropilen glikol hem de propilen glikol ile tahşiş edildiği

tespit edilmiştir. Çay ağacı yağının *Citrus* türlerinden elde edilen konsantre ürünlerden oluşan terpenlerden biri olan γ -terpinen ve farklı kaynaklardan elde edilmiş olan α ve β -terpinenlerle de tahşişatlar yapıldığı rapor edilmiştir. Hem Avrupa Farmakopesi 8,0'da hem de ISO standartlarında yağın antimikrobiyal etkisinden sorumlu olduğu bilinen terpinen-4-ol miktarının 13 numaralı standart çay ağacı yağı karışımı dışındaki tüm numunelerde istenen oranda olmadığı görülmüştür (Çizelge 4.2 ve 4.3).

Çay ağacı yağ numunelerinde yapılan antimikrobiyal aktivite çalışmalarında, Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerden; *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Propionibacterium acnes*, *Lactobacillus plantarum*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, mayalardan; *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* ve dermatofitlerden; *Trichophyton rubrum*, *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum gypseum*'a karşı minimum inhibisyon konsantrasyon değerleri (MİK; h/h) ile anti-biyofilm aktiviteleri (MABCs; h/h) sıvı mikrodilüsyon yöntemi ve kolorimetrik mikrodilüsyon testi ile değerlendirilmiştir (Çizelge 4.4 ve 4.5).

Carson ve diğerleri 1995, Carson ve diğerleri 1996; Hammer ve diğerleri 1996 yaptıkları çalışmalarda, çay ağacı yağı eski zamanlardan günümüze antimikrobiyal aktivite yönünden araştırılan bir uçucu yağ olup duyarlı geniş mikroorganizma yelpazesi bulunduğundan bu yağın deri antiseptisi için yararlı olabileceğini düşünülerek yapılan çalışmada; koagülaz negatif stafilokoklar (MİK; %0,06-3 h/h), metisilin dirençli *S. aureus* (MİK; %0,12-0,5 h/h), *Streptococcus* spp. (MİK; %0,03-0,12 h/h), *Acinetobacter baumannii* (MİK; %0,06-1 h/h), *E. coli* (MİK; % 0,12-0,25 h/h), *Klebsiella pneumoniae* (MİK; %0,12-0,25; h/h) ve *Pseudomonas* spp.'lerine (MİK; %2-6 h/h) karşı antibakteriyel aktiviteleri incelenmiştir. Sonuçta; çay ağacı yağı ile deri doğal florasında birçok patojen mikroorganizma kolonizasyonunun önlenilebileceği ve deri antiseptisinde bu amaçla kullanılabileceği bildirilmiştir [50]. Araştırmamızda; Gram pozitif bakterilerden *P. acnes*'e karşı tüm çay ağacı yağı numunelerinde (1-12) %1, numune 13 için %0,5 (MİK, MABCs) değerinde dikkate değer antibakteriyel ve anti-biyofilm aktivite belirlenmiştir (Çizelge 4.4).

Carson, Hammer ve Riley (1995), tarafından yapılan bir çalışmada; çay ağacı yağında koagülaz negatif stafilokoklara karşı %0,06-3 (MİK; h/h) aralığında ve metisilin dirençli *S. aureus*'a karşı %0,12-0,5 (MİK; h/h) aralığında mikrodilüsyon yöntemi ile antibakteriyel

aktivite rapor etmişlerdir [98]. Araştırmamızda ise çay ağacı yağının piyasa preparatlarında (1-12); *S. aureus*'a karşı %4 (MİK; h/h) oranında antibakteriyel aktivite belirlenirken, minimum anti-biyofilm aktivite (MABCs; h/h) % 6 düzeyinde tespit edilmiştir. Denenen numunelerden 13 numaralı standart, *S. aureus*'a karşı MİK değerleri %1 (h/h) ve anti-biyofilm aktivite (MABCs; h/h) ise %2 (h/h) olarak görülmüştür (Çizelge 4.4).

Raman, Weir ve Bloomfield (1995), yaptıkları bir çalışmada çay ağacı yağında *S. epidermidis*' e karşı % 0,63-1,25 (MİK; h/h) aralığında agar dilüsyon tekniği yöntemiyle ile antibakteriyel aktivite belirlemişlerdir [99]. Araştırmamızda *S. epidermidis*'e karşı tüm çay ağacı yağının piyasa preparatlarında (1-12); % 2 (MİK; h/h) oranında antibakteriyel aktivite belirlenirken, % 6 (MABCs; h/h) oranında da anti-biyofilm aktivite tespit edilmiştir. Bu değerler 13 numaralı standart için %1 ve %2 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.4).

Carson ve Riley (1998) bir çalışmalarında, *Streptococcus* spp.'ne karşı % 0,03-0,12 (h/h) aralığında çay ağacı yağında antibakteriyel aktiviteyi disk difüzyon yöntemiyle belirlemişlerdir [100]. Çalışmamızda ise *S. pyogenes*'e karşı antibakteriyel aktivite denenen tüm çay ağacı yağ numunelerinin (1-12) %2, 13 numaralı standart için %1 (MİK; h/h) oranında antibakteriyel aktivitesi ve 13 numaralı standart (%2) dışındaki numunelerin %6 (MABCs; h/h) değerinde anti-biyofilm aktivite gösterdikleri belirlenmiştir (Çizelge 4.4).

Raman ve diğerleri (1995) yaptıkları araştırmada, *Propionibacterium acnes*'e karşı agar dilüsyon yöntemiyle % 0,31-0,63 (MİK; h/h) aralığında çay ağacı yağında antibakteriyel aktivite tespit ettiklerini bildirmişlerdir [99]. Araştırmamızda *P. acnes*'e karşı çay ağacı yağının piyasa preparatlarında (1-12) % 1, 13 numaralı standart için %0,5 (MİK; h/h) değerinde aktivite belirlenirken; anti-biyofilm aktivite 1-12 nolu numuneler için %1 ve 13 numaralı standart için %0,5 (MABCs; h/h) değerinde tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

Filoché, Soma ve Sissons (2005), çay ağacı yağında *Lactobacillus plantarum*'a karşı, mikrodilüsyon yöntemiyle % 2,5 (MİK; h/h) değerinde antibakteriyel aktivite rapor etmişlerdir [101]. Araştırmamızda *L. plantarum*'a karşı MİK değerleri denenen tüm çay ağacı yağının numunelerinde, % 1 (MİK; h/h) anti-biyofilm aktivite ise % 1 (MABCs; h/h) değerlerinde tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

Carson ve Riley (1998) bir çalışmada çay ağacı yağında *Escherichia coli*'ye karşı mikrodilüsyon yöntemiyle % 0,12-0,25 (MİK; h/h) aralığında antibakteriyel aktivite belirlemişlerdir [100]. Çalışmamızda ise çay ağacı yağının piyasa preparatlarında, *E. coli*'ye karşı MİK (h/h) değerleri % 6 olarak belirlenirken, anti-biyofilm aktivite ise yine % 6 (MABCs; h/h) olarak belirlenmiştir. 13 numaralı standart için MİK değeri %1, MABCs değeri ise %2 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.4).

Carson ve Riley (1998), çay ağacı yağının *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı mikrodilüsyon yöntemiyle antibakteriyel aktivitesini % 2-5 (MİK; h/h) aralığında belirlemişlerdir [100]. Çalışmamızda ise *P. aeruginosa*'ya karşı MİK değerleri denenen tüm çay ağacı yağının piyasa preparatlarında (1-12) %6 (MİK; h/h) değerinde ve anti-biyofilm aktivite % 6 (MABCs; h/h) oranında görülmüştür. 13 numaralı standart için MİK değeri %1, MABCs değeri ise %2 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.4).

Agarwal, Lal ve Pruthi (2010) yaptıkları bir araştırmada mikrodilüsyon yöntemini kullanarak çay ağacı yağının *Candida albicans*'a karşı % 0,73 (MİK; h/h) değerinde antifungal aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir [102]. Çalışmamızda *C. albicans*'a karşı denenen tüm çay ağacı yağı numunelerinin ve 13 numaralı standart yağ karışımı için MİK değerlerinin % 1 (h/h), anti-biyofilm aktivitelerinin ise 13 numaralı standart (%1) dışındaki numuneler için %2 (MABCs; h/h) değerinde olduğu görülmüştür (Çizelge 4.5).

Mondello, Bernardis, Girolamo, Salvatore ve Cassone (2003) tarafından yapılan bir çalışmada, *Candida krusei*'ye karşı çay ağacı yağının %0,125 (MİK; h/h) değerinde antifungal aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir [103]. Çalışmamızda ise *C. krusei*'ye karşı antifungal aktivite denenen tüm çay ağacı yağ numunelerinin MİK değerlerinin %2 (h/h) ve anti-biyofilm aktivitenin ise %4 (MABCs; h/h) değerinde olduğu tespit edilmiştir. 13 numaralı standart için MİK değeri %1, MABCs değeri ise %3 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.5).

Mondello, Bernardis, Girolamo, Cassone ve Salvatore'nin (2006) bir başka çalışmasında yine mikrodilüsyon yöntemiyle çay ağacı yağının *Candida tropicalis*'e karşı %0,06 (MİK; h/h) oranında antifungal aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir [104]. Çalışmamızda ise *C. tropicalis*'e karşı MİK değerleri, denenen tüm çay ağacı yağ numuneleri ve 13 numaralı

standart için %1 (h/h) olarak belirlenirken, anti-biyofilm aktivite 13 numaralı standart (%1) dışındaki tüm numuneler için % 2 (MABCs; h/h) olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.5).

Mondello ve diğerleri (2003), *Candida parapsilosis*'e karşı çay ağacı yağını test etmişler ve mikrodilüsyon yöntemiyle MİK değerini % 0,06 (h/h) olarak rapor etmişlerdir [103]. Çalışmamızda ise *C. parapsilosis*'e karşı MİK değerleri, denenen tüm çay ağacı yağ numuneleri ve 13 numaralı standart için %1 (h/h) olarak belirlenirken, anti-biyofilm aktivite 13 numaralı standart (%1) dışındaki tüm numuneler için % 2 (MABCs; h/h) olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.5).

Çay ağacı yağının başlıca kullanım alanları içinde gösterilen dermatofit enfeksiyonları olduğu için bu enfeksiyon nedeni mikroorganizmalara karşı etkinlikleri değerlendirilmiştir. Hammer, Carson ve Riley (2002), çay ağacı yağının *Microsporum gypseum*'a karşı % 0,016-0,03 (MİK; h/h) aralığında antifungal aktivite gösterdiğini mikrodilüsyon yöntemiyle belirlemişlerdir [105]. Çalışmamızda ise *M. gypseum*'a karşı antidermatofitik aktivitesi denenen tüm çay ağacı yağı numunelerinin, 13 numaralı standart dışında (%1) %2'lik MİK (h/h) değeri ile etki gösterdikleri tespit edilmiştir. Anti-biyofilm aktiviteleri ise 13 numaralı standart için %3 olarak belirlenirken bu değer diğer numuneler için %4 (MABCs; h/h) olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.5). Hammer ve diğerleri (2002) tarafından yapılan aynı çalışmada, *Trichophyton rubrum*'a karşı %0,03 (h/h) oranında çay ağacı yağı örneğinde antifungal aktivite belirlenmiştir [105]. Araştırmamızda, *T. rubrum*'a karşı çay ağacı yağ numunelerinin MİK değerleri 13 numaralı standart dışında (%1), % 2 (h/h) olarak, anti-biyofilm aktiviteleri ise yine 13 numaralı standart (%3) dışındakiler için %4 (MABCs; h/h) olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada, *Epidermophyton floccosum*'a karşı %0,03'lük (h/h) MİK değeri ile çay ağacı yağının antifungal aktivitesi tespit edilirken; bizim numunelerimizin aynı mikroorganizmaya karşı gösterdikleri antifungal aktivite 13 numaralı standart (%1) dışındakiler için % 2 (MİK; h/h) ve anti-biyofilm aktivite ise yine 13 numaralı standart (%3) dışındakiler için % 4 (MABCs; h/h) olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.5).

Kunicka-Styczynska ve Sikora (2009) ticari uçucu yağların antimikrobiyal aktivitesinin araştırılması amacıyla Bactometer M64 System (bioMerieux) kullanılarak yaptıkları bir çalışmada; çay ağacı yağının *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *Candida* türlerine karşı antimikrobiyal aktivitesini incelemişler ve MİK değerleri *S. aureus* için % 0,04 (h/h)

olarak tespit edilmiştir [35]. Bizim araştırmamızda ise 13 nolu numune için MİK % 1-2 ve diğer kalan tüm numuneler için de % 4-6 olarak belirlenmiştir. Araştırmacılar; *P. aeruginosa*'ya karşı % 0,1 (h/h) oranında aktivite belirlerken araştırmamızda 13 nolu numune % 1-2 oranında, denenen diğer tüm örnekler % 6 oranında MİK ve MABK değerleri vermiştir. [35]. Araştırmacılar yaptıkları çalışmada, *Candida* sp.'lerine karşı % 0,03 (h/h) oranlarında antimikrobiyal aktivite belirlediklerini rapor etmişlerdir [35]. Bizim yaptığımız çalışmada ise MİK ve MABK değerleri denenen tüm numunelerde % 1-2 olarak tespit edilmiştir.

Özetle şunu ifade edebiliriz ki; standart çay ağacı yağının (numune no 13) hem ISO hem de Avrupa Farmakopesi 8,0 monografında belirtilen içerik kriterlerini karşıladığı, antimikrobiyal aktivite sonuçları ile içerikleri karşılaştırdığımızda ise bu yağın diğer piyasa yağlarına göre oldukça etkili olduğu görülmüştür. Dermatofit enfeksiyonlarına neden olan suşlara (*Microsporum gypseum*, *Tricophyton rubrum* ve *Epidermophyton floccosum*) ve akne etkenine (*Propionibacterium acnes*) karşı da diğer piyasa yağlarına göre son derece etkili olduğu tespit edilmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tıbbi ve aromatik bitkiler yönünden son derece zengin olan Anadolu coğrafyası, bugün Türkiye piyasasına bu oranda tıbbi uçucu yağ kazandıramamaktadır. Bunun en büyük sebebi; doğru aromatik bitki türlerinin kültürlerinin yapılmaması ve devletin bu konuda üreticiye yeterince destek ve bilgilendirme yapmamasından kaynaklanmaktadır. Dünyada söz sahibi olduğumuz en önemli uçucu yağ “Gül yağı”dır. Bununla beraber birçok uçucu yağ için de Türkiye’nin potansiyeli mevcuttur. Tarım ve Orman Bakanlığının, bu noktada birçok eylem planı oluşturması gerekmektedir.

Çalışmamızın konusunu oluşturan çay ağacı yağının tanımını Avrupa Farmakopesi 8,0’da yer alan “Tea Tree Oil” monografında, “*Melaleuca alternifolia* (Maiden and Betch) Cheel, *M. linariifolia* Smith, *M. dissitiflora* F. Mueller ve/veya *Melaleuca*’nın diğer türlerinin terminal dallarından veya yapraklarından buhar distilasyonu ile elde edilen uçucu yağ” olarak yapılmıştır. Hint defnesi adıyla da bilinen bitkinin anavatanı Avustralya’dır. Bitkinin doğal olarak yetiştiği alan ise New South Wales’in Kuzeydoğu kıyısında Clarence ve Richmond nehirleri civarı ile sınırlıdır. Bugün Dünya’da *M. alternifolia*; Brezilya, Çin, Endonezya, Kenya, Madagaskar, Malezya, Güney Afrika, Tanzanya, Tayland, Amerika Birleşik Devletleri ve Zimbabwe’de de yetiştirilmektedir. Bu ağaçtan elde edilen “Tea tree oil” hem dünyada hem de ülkemizde oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Aromaterapi uygulamalarının yanısıra kozmetik ürünlerin içinde yer almaktadır. Tarım ve Orman Bakanlığının “Bitki Listesi’nde” *Melaleuca alternifolia* yaprakları pozitif bitki olarak kayıtlıdır. Onun dışında bu bitkinin uçucu yağı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu’nun Kozmetik Dairesi’nden alınan izinle kozmetik ürünlerde yer alması gerektiği gibi herhangi bir sağlık beyanı ile satışa sunulması mümkün değildir. Avrupa Komisyonu’nun kozmetik ürünlerin içerikleri ile ilgili olarak otluşturduğu Kozmetik İçerikler veritabanı (Cosing), kozmetiklerde oksijen nedenli bozulmalara karşı antioksidan olarak ve parfüm veya aromatik hammadde olarak kullanılmasını önermektedir. Yani çay ağacı yağının piyasada farklı beyanlarla ticari bir ürün olarak sunulması mümkün değildir. Piyasadaki gerçek durum ise çok farklıdır. Bu uçucu yağ, akne ve dermatofit enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılabileceği yönünde ifadeler kullanılarak satışı yapılmaktadır. Yine Sağlık Bakanlığının bu tip uçucu yağlar için acil bir Aromaterapi Yönetmeliği oluşturması gereklidir. Bu şekilde piyasadaki bu kirlilik ortadan kalkacak ve bu tip yağlar hak ettiği duruma kavuşmuş olacaktır.

Çalışmamızdaki 12 adet örnekten dördünde “Türk Gıda Kodeksine uygundur” ibaresi mevcuttur. Bu durumdan, bu yağların gıda olarak kullanılabileceğinin de anlaşılacağı aşıkardır. TİTCK Kozmetik Dairesinin, Denetimden sorumlu olan biriminin son derece yoğun olarak piyasa denetimlerini arttırmaları gerekmektedir. Tüm örneklerin ne ISO ne de Farmakope kalitesi’nde olmadığı gibi ciddi olarak da tahşış edildikleri tespit edilmiştir. Uygun olarak kullanılmadığı takdirde cilt üzerinde ciddi irritasyon yapabilecekleri düşünüldüğünde hali hazırda satışı yapılan noktalarda bu konularda ne kadar bilgi verildiği veya uyarıda bulunabileceği malumdur.

Ülke olarak bu tip tıbbi uçucu yağları doğru tekniklerle üretmemiz ve Farmakope veya ISO kriterlerini taşıyacak şekilde standardize etmemiz gerekmektedir. Hem toplum sağlığına faydalı olmak hem de ülke ekonomisine katma değer oluşturmak açısından uçucu yağlar önemli potansiyel kaynaklar olarak düşünüülerek bu yönde uygun stratejiler geliştirilmelidir.

KAYNAKLAR

1. Şener, B. (2011). Fitoterapide bitkisel ilaçlar ve bitkisel ilaçlarla ilgili yasal düzenlemeler-1. *İlaç Haber Aktüel*, 12(6), 28.
2. Ulutaş, E. (2018). *Piyasada kişniş adı ile satılan örneklerin Avrupa farmakopesi yönünden değerlendirilmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 1.
3. European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care. (2013). *European pharmacopoeia*. (8th Edition), Nördlingen: Druckerei C. H. Beck, 3019-3020.
4. İnternet: Başer, K. H. C. (2017). *Cay agaci (tea tree oil) melaleuca alternifolia: An overview* [Abstract]. Web: https://www.researchgate.net/publication/311908448_Cay_agaci_Teatree_Oil_Melaleuca_alternifolia adresinden 09.10.2018’de alınmıştır.
5. Çakır, N. T., Kaleağasi, S. ve Kökdil, G. (2005). Tea tree oil: As a promising antimicrobial agent: Tea tree oil. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 34(4), 316-327.
6. Bejar, E. (2017). Melaleuca alternifolia and M. linariifolia. *Botanical Adulterants Bulletin*, 2-7.
7. Özfeneci M. ve Çalışkan, U. K. (2018). Tea tree oil and its use in aromatherapy. *Current Perspectives on Medicinal and Aromatic Plants*, 1(2), 90-101.
8. İnternet: *Classification*, 2019-04-09. Web: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fplants.usda.gov%2Fjava%2FClassificationServlet%3Fsource%3Ddisplay%26classid%3DMyrtaceae&date=2019-04-09> adresinden 09.04.2019’da alınmıştır.
9. Tanker, N., Koyuncu, M. ve Coşkun, M. (2004). *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi farmasötik botanik ders kitabı*. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi, 343-344.
10. İnternet: *Mersingiller*, 2019-04-10. Web: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.turkcebilgi.com%2Fmersingiller&date=2019-04-10> adresinden 10.04.2019’da alınmıştır.
11. Sharifi, J. R., Salehi, B., Varoni, E. M., Sharopov, F., Yousaf, Z., Ayatollahi, S. A., Kobarfard, F., Mehdi, S. R., Afdjei, M. H., Majid, S. R. and Iriti, M. (2017). Plants of the melaleuca genus as antimicrobial agents: From farm to pharmacy. *Phytotherapy Research*, 31(10), 1475-1494.
12. Kavalalı, G. (2017). Çay ağacı bitkisinin (melaleuca alternifolia, maiden & betch, cheel) halk hekimliğinde kullanılışının etnofarmakolojik olarak değerlendirilmesi. *Lokman Hekim Dergisi*, 7(2), 211-214.

13. European Commission Health Consumer Protection Directorate General. (2008). *Scientific Committee On Consumer Products SCCP Opinion On Tea Tree Oil*. European Union December, (SCCP/1155/08), 1-40.
14. European Union Herbal Monograph on *Melaleuca Alternifolia* (Maiden and Betch), Cheel, M., Linariifolia, Smith, M., Dissitiflora F. Mueller and/or other species Of *Melaleuca*, *Aetheroleum*, (2015). Committee on Herbal Medicinal Products. *European Medicines Agency*, (8), 2-9.
15. Yadav, E., Kumar, S., Mahant, S., Khathar, S., and Rao, R. (2017). Tea tree oil: A promising essential oil. *Journal of Essential Oil Research*, 29(3), 201-213.
16. European Commission Health Consumer Protection Directorate General. (2004). *Scientific Committee On Consumer Products SCCP Opinion On Tea Tree Oil*. European Union December, (SCCP/0843/04), 1-21.
17. Carson, C. F., Hammer, K. A. and Riley, T. V. (2006). *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil): A review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(1), 50-62.
18. Groot, A. C. and Schmidt, E. (2016). Tea tree oil: Contact allergy and chemical composition. *Contact Dermatitis*, 75, 129-143.
19. Padovan, A., Keszei, A., Hassan, Y., Krause, S. T., Köllner, T. G., Degenhardt, J., Gershenzon, J., Külheim C. and Foley, W. J. (2017). Four terpene synthases contribute to the generation of chemotypes in tea tree (*Melaleuca alternifolia*). *BMC Plant Biology*, 17(1), 160.
20. Brophy, J. J., Davies, N. W., Southwell, I. A., Stiff, I. A., and Williams, L. R. (1989). Gas chromatographic quality control for oil of *Melaleuca terpinen-4-ol* type (Australian tea tree). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37(5), 1330-1335.
21. Sciarrone, D., Ragonese, C., Carnovale, C., Piperno, A., Dugo, P., Dugo, G. and Mondello, L. (2010). Evaluation of tea tree oil quality and ascaridole: a deep study by means of chiral and multi heart-cuts multidimensional gas chromatography system coupled to mass spectrometry detection. *Journal of Chromatography A*, 1217(41), 6422-6427.
22. Huynh, Q., Phan, T. D., Thieu, V. Q. Q., Tran, S. T. and Do, S. H. (2011). Extraction and refining of essential oil from Australian tea tree, *Melaleuca alternifolia*, and the antimicrobial activity in cosmetic products. *Journal of Physics*, 1-8.
23. Tankeu, S., Vermaak, I., Kamatou, G. and Viljoen, A. (2014). Vibrational spectroscopy as a rapid quality control method for *Melaleuca alternifolia* cheel (tea tree oil). *Phytochemical Analysis*, 25(1), 81-88.
24. Davies, N. W., Larkman, T., Marriott, P. J. and Khan, I. A. (2016). Determination of enantiomeric distribution of terpenes for quality assessment of Australian tea tree oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(23), 4817-4819.

25. Shabir, G. A. (2005). Method development and validation for the GC-FID assay of p-cymene in tea tree oil formulation. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 39(3-4), 681-684.
26. Saller, R., Berger, J., Reichling, J. and Harkenthal, M. (1998). Pharmaceutical and medicinal aspects of Australian tea tree oil. *Phytomedicine*, 5(6), 489-495.
27. Combest, W. L. (1999). Tea tree. *US Pharmacist*, 24, 35-8.
28. Deliorman, O. ve Bulut, S. D. (2018). Çay ağacı yağı mucize mi?. *Eczacı Farmakope Dergisi*, 2(15), 32-33.
29. İnternet: *Risk Profile Tea Tree Oil – TTO* (2012). Web: https://www.mattilsynet.no/kosmetikk/stoffer_i_kosmetikk/risk_profile_template_tto.11320/binary/Risk%20Profile%20Template%20TTO, Son Erişim Tarihi: 18.11.2019.
30. Johnson, J. T. (2010). *Handy, healing tea tree oil*. Canada: Mind Publishing, 65.
31. İnternet: *Ankara Aile Hekimliği Derneği* (2018). 1. Uygulamalı Tıbbi Aromaterapi Sempozyumu. Web: <https://www.ankahed.org.tr/manset-haber/1800/1-uygulamali-tibbi-aromaterapi-sempozyumu-basari-ile-bitti> adresinden 10.04.2019'da alınmıştır.
32. İnternet: *Aromaterapi*, . 2019-04-10. Web: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.academicana.com%2Fnayceman%2Fitec-kurslarimiz%2F&date=2019-04-10> adresinden 10.04.2019'da alınmıştır.
33. Carson, C. F., Cookson, B. D., Farrelly, H. D. and Riley, T. V. (1995). Susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Journal Antimicrobial Chemotherapy*, 35(3), 421-424.
34. Brady, A., Loughlin, R., Gilpin, D., Kearney, P. and Tunney, M. (2006). In vitro activity of tea-tree oil against clinical skin isolates of methicillin-resistant and -sensitive *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci growing planktonically and as biofilms. *Journal of Medical Microbiology*, 55(10), 1375-1380.
35. Kunika-Styczynska, A., Sikora, M. and Kalembe D. (2009). Antimicrobial activity of lavender, tea tree and lemon oils in cosmetic preservative systems. *Journal of Applied Microbiology*, 107, 1903-1911.
36. Australian Tea Tree Industry Association (2007). *The effectiveness and safety of Australian tea tree oil*, Australian Government (No.07143), 1-15.
37. Nenoff, P., Haustein, U. F. and Brandt, W. (1996). Antifungal activity of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil) against pathogenic fungi in vitro. *Skin Pharmacology*, 9(6), 388-394.
38. Hammer, K. A., Carson, C. F. and Riley T. V. (2003). Antifungal activity of the components of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. *Journal of Applied Microbiology*, 95(4), 853-860.

39. Vanessa, M. C. R., Anna, C. B. P. C., Cássia, F. A., Patrícia, P. B., Rodnei, D. R., Ana, L. A., Antonio, O. C. J. and Juliana, C. J. (2014). Essential oil of *Melaleuca alternifolia* for the treatment of oral candidiasis induced in an immunosuppressed mouse model. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14, 489.
40. Lorena, O. F., Willer, F. S. J., Katialaine, C. A. and Daniela, L. F. (2018). Lactoferrin, chitosan and *melaleuca alternifolia*-natural products that show promise in candidiasis treatment. *Brazilian Journal of Microbiology*, 49, 212-219.
41. Koteswara, R. P., Lakshmi, K. N., Leela, S. C. A., Huma, T. and Navya, P. S. (2015). In vitro antifungal evaluation of denture soft liner incorporated with tea tree oil: A new therapeutic approach towards denture stomatitis. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 9(6), 62–64.
42. Dalwai, S., Rodrigues, S. J., Baliga, S., Shenoy, V. K., Shetty, T. B., Pai, U. Y. and Saldanha, S. (2016). Comparative evaluation of antifungal action of tea tree oil, chlorhexidine gluconate and fluconazole on heat polymerized acrylic denture base resin-an in vitro study. *Gerodontology*, 33(3), 402-409.
43. Mantil, E., Daly, G. and Avis, T. J. (2015). Effect of tea tree (*melaleuca alternifolia*) oil as a natural antimicrobial agent in lipophilic formulations. *Canadian Journal of Microbiology*, 61(1), 82-88.
44. Barbara, S., Cecilia, C., Monica, A., Roberta, C., Carlo, B. and Patrizia, R. (2017). In vitro release and permeation kinetics of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) essential oil bioactive compounds from topical formulations. *Flavour and Fragrance Journal* 32(2), 354-361.
45. Madalosso, R. G., Verdi, C. M., Souza, M. E., Cunha, J. A., Santos, P. S., Balardin, R. S., Madalosso, M. G. and Santos, R. C. V. (2017). In vitro and in vivo effects of *Melaleuca alternifolia* nanoparticles in *Meloidogyne* sp. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 20(4), 1344-1349.
46. Kuan, Y., Chih, P. C., Takao, Y. and Toshiaki, D. (2011). Release model of alginate microcapsules containing volatile tea-tree oil. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 380(1–3), 152-155.
47. Ramadan, M. A., Shawkey, A. E., Rabeh, M. A. and Abdellatif, A. O. (2019). Promising antimicrobial activities of oil and silver nanoparticles obtained from *melaleuca alternifolia* leaves against selected skin-infecting pathogens. *Journal of Herbal Medicine*, 1-8.
48. Kim, H. J., Chen, F., Wu, C., Wang, X., Chung, H. Y. and Jin, Z. (2004). Evaluation of antioxidant activity of Australian tea tree (*melaleuca alternifolia*) oil and its components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(10), 2849-2854.
49. Chris, D. B. (1995). Antiviral activity of the essential oil of *melaleuca alternifolia* (maiden amp; betche) cheel (tea tree) against tobacco mosaic virus. *Journal Journal of Essential Oil Research*, 7(6), 641-644.
50. Riley, T. V. (2002). Topical antimicrobial therapy with tea tree oil: Fact or fantasy. *British Journal of Infection Control*, 3(5), 12-14.

51. Schnitzler, P., Schön, K. and Reichling, J. (2001). Antiviral activity of Australian tea tree oil and eucalyptus oil against herpes simplex virus in cell culture. *Pharmazie*, 56(4), 343-347.
52. Pazyar, N., Reza, Y., Nooshin, B. and Afshin K. (2013). A review of applications of tea tree oil in dermatology. *International Journal of Dermatology*, 52(7), 784-790.
53. Mikus, J., Harkenthal, M., Steverding, D. and Reichling, J. (2000). In vitro effect of essential oils and isolated mono- and sesquiterpenes on *Leishmania major* and *Trypanosoma brucei*. *Planta Medica*, 66(4), 366-368.
54. Walton, S. F., Mckinnon, M., Pizzutto, S., Dougall, A., Williams, E. and Currie, B. J. (2004). Acaricidal activity of melaleuca alternifolia (tea tree) oil. *Archives of Dermatological Research*, 140, 566.
55. Frame, K., Cheung, I. M. Y., Wang, M. T. M., Turnbull, P. R., Watters, G. A. and Craig, J. P. (2018). Comparing the in vitro effects of MGO™ Manuka honey and tea tree oil on ocular *Demodex* viability. *Contact Lens Anterior Eye*, 41(6), 527-530.
56. Gomaa, A. M., Abdelrahman, E., Abdelrahman, E. and Fathy, A. (2013). The insecticidal activity of tea tree oil (*melaleuca alternifolia*) against the common pest in mummies (*dermestes maculatus*). *International Journal of Conservation Science*, 4(3), 301-306.
57. Amanda, J., Hayes, D. N., Leach, J. L. and Markham, B. M. (1997). In vitro cytotoxicity of Australian tea tree oil using human cell lines. *Journal of Essential Oil Research*, 9(5), 575-582.
58. Ramadass, M. and Thiagarajan, P. (2015). A review on melaleuca alternifolia (tea tree) oil. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 6(4), 655-661.
59. Pavithra, P. S., Mehta, A. and Verma, R. S. (2019). Essential oils: From prevention to treatment of skin cancer. *Drug Discovery Today*, 24(2), 644-655.
60. Sadekuzzaman, M., Mizan, F. R., Kim, H. S., Yang, S. and Ha, S. D. (2018). Activity of thyme and tea tree essential oils against selected foodborne pathogens in biofilms on abiotic surfaces. *LWT - Food Science and Technology*, 89, 134-139.
61. Navarro, A. C., Bruno, B. N., Ludiana, C., Marcelo, M. and Robson, M. P. (2019). Antifungal activity of palmarosa (*cymbopogon martinii*), tea tree (*melaleuca alternifolia*) and star anise (*illicium verum*) essential oils against *Penicillium expansum* and their mechanisms of action. *LWT - Food Science and Technology*, 105, 385–392.
62. Claudileide, S. S., Hamilton, M. F., Tânia, L. M. S. and Luiza, H. M. S. (2019). Show more inhibition of *listeria monocytogenes* by melaleuca alternifolia (tea tree) essential oil in ground beef. *International Journal of Food Microbiology*, 293, 79-86.

63. Kong, Q., Zhang, L., An, P., Qi, J., Yu, X., Lu, J. and Ren, X. (2019). Antifungal mechanisms of α -terpineol and terpene-4-alcohol as the critical components of melaleuca alternifolia oil in the inhibition of rot disease caused by aspergillus ochraceus in postharvest grapes. *Journal of Applied Microbiology*, 126(4), 1161-1174.
64. Callan, C. F., Di Bei, J. E., Parman, J. J., Adam, J. H. and Amanda, R. (2019). Efficacy of tea tree oil in the treatment of equine streptothricosis. *Journal of Equine Veterinary Science*, 79, 79-85.
65. Carinede, F. S., Matheus, D. B., Sharine, D., Carla, Z., Pedro, R. E. M., Eduardo, M. G., Régis, A. Z., Bernardo, B. and Aleksandro, S. S. (2019). Melaleuca alternifolia essential oil abrogates hepatic oxidative damage in silver catfish (Rhamdia quelen) fed with an aflatoxin-contaminated diet. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 221, 10-20.
66. Khalil, Z., Pearce, A. L., Satkunanathan, N., Storer, E., Finlay-Jones J. J. and Hart, P. H. (2004). Regulation of wheal and flare by tea tree oil: complementary human and rodent studies. *Journal of Investigative Dermatology*, 123(4), 683-690.
67. Li, D. J. L., Zhaoxin, Z. S., Wang, H. W., Yongjiu, H. Z. and Wei, L. Y. (2019). Dietary tea tree oil supplementation improves the intestinal mucosal immunity of weanling piglets. *Animal Feed Science and Technology*, 255, 114-209.
68. Bassett, I. B., Pannowitz, D. L. and Barnetson, R. S. (1990). A comparative study of tea tree oil versus benzoylperoxide in the treatment of acne. *Medical Journal of Australia*, 153(8), 455-458.
69. Enshaieh, S., Jooya, A., Siadat, A. H. and Iraj, F. (2007). The efficacy of 5% topical tea tree oil gel in mild to moderate acne vulgaris: a randomized, double-blind placebo-controlled study. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*, 73(1), 22-25.
70. Darabi, R., Hafezi, M. A. and Akbarloo, N. (2005). A comparative, investigator-blind study of topical tea tree oil versus erythromycin gel in the treatment of acne. *15th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases Abstracts*, 12.
71. Kwon, H., Yoon, J., Park, S. and Min, S. (2014). Comparison of clinical and histological effects between lactobacillus-fermented chamaecyparis obtusa and tea tree oil for the treatment of acne: an eight-week double-blind randomized controlled splitface study. *Dermatology*, 229, 102–109.
72. Hammer, K. A. (2014). Review treatment of acne with tea tree oil (melaleuca) products: A review of efficacy, tolerability and potential modes of action. *Journal of Antimicrobial Agents*, 45(2), 106-110.
73. Mazzarello, V., Donadu, M. G., Ferrari, M., Piga, G., Usai, D., Zanetti, S. and Sotgiu, M. A. (2018). Treatment of acne with a combination of propolis, tea tree oil, and Aloe vera compared to erythromycin cream: Two double-blind investigations. *Clinical Pharmacology*, 10, 175–181.

74. Messenger, S., Hammer, K. A., Carson, C. F. and Riley, T. V. (2005). Assessment of the antibacterial activity of tea tree oil using the European EN 1276 and EN 12054 standard suspension tests. *Journal of Hospital Infection*, 59(2), 113-125.
75. Koh, K. J., Pearce, A. L., Marshman, G., Finlay-Jones, J. J. Hart, P. H. (2002). Tea tree oil reduces histamine-induced skin inflammation. *British Journal of Dermatology*, 47(6), 1212-1217.
76. Wound Healing and Management Node Group. (2013). Evidence summary: Wound management: Tea tree oil. *The Joanna Briggs Institute*, 21(4), 170-172.
77. Nelson, S. K. L., Long, X. X., Griffin, R. C., Chen, M. K. and Doery, C. G. J. (2017). Can the tea tree oil (Australian native plant: *melaleuca alternifolia* cheel) be an alternative treatment for human demodicosis on skin?. *Parasitology*, 145, 1510-1520.
78. Arweiler, N. B., Donos, N., Netuschil, L., Reich, E. and Sculean, A. (1999). Clinical and antibacterial effect of tea tree oil – a pilot study. *Clinical Oral Investigations*, 4, 70-73.
79. Hammer, K. A., Dry, L., Johnson, M., Michalak, E., Carson, C. F. and Riley, T. V. (2003). In vitro susceptibility of oral bacteria to *melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. *Oral Microbiology and Immunology*, 18(6), 389-392.
80. Spiteri, M. (2011). *Herbal monographs including herbal medicinal products and food supplements*. Malta: Department of Pharmacy University of Malta, 154.
81. Yıldız, H. ve Abuaf, Ö. K. (2013). Gebelik ve emzirme döneminde kozmesötik kullanımı. *Deri Hastalıkları ve Frengi Arşivi Dergisi*, 47, 196.
82. Aronson, J. K. (2016). *Meyler's side effects of drugs*, Amsterdam: Elsevier, 708.
83. Michaela, Z., Iva, J. C., Wolfgang, K. and Gerhard, S. (2018). Trace determination of skin-irritating metals in tea tree oil by GFAAS. *Microchemical Journal*, 136, 101-105.
84. Larson, D. and Sharon, E. (2012). Tea tree oil. *American Contact Dermatitis Society* 3(1), 48-49.
85. Internet: *Tea tree*, 2019-04-10. Web: http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.google.com.tr%2Fsearch%3Fq%3Dtea%2Btree%2Boil%2Bpreparatlar%25C4%25B1%26source%3Dlnms%26tbm%3Disch%26sa%3DX%26ved%3D0ahUKEwiFptrDoMbAhWTwOYKHQa5CK4Q_AUIDygC%26biw%3D1349%26bih%3D604%23imgsrc%3D_&date=2019-04-10 adresinden 10.04.2019'da alınmıştır.
86. Adams, R. P. (2007). *Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass spectrometry*. (4th Edition). Illinois: Allured Publ. Corp, 1-811.
87. Hochmuth, D. H. (2008). *MassFinder-4*. Hamburg: Hochmuth Scientific Consulting, 82-87.

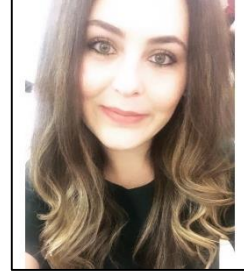
88. McLafferty, F. W. and Stauffer, D. B. (1989). *The Wiley/NBS registry of mass spectral data*. New York: John Wiley and Sons, 256.
89. Curvers, J., Rijks, J., Cramers, C., Knauss K. and Larson, P. (1985). Temperature programmed retention indexes: Calculation from isothermal data. Part 1: Theory. *Journal of High Resolution Chromatography*, 607–610.
90. Deliorman, O., Orhan, N. ve Özçelik, B. (2009). Biological activities of *Vitis vinifera* L. leaves. *Turkish Journal of Biology*, 33, 341-348.
91. Clinical and Laboratory Standards Institute (2008a). *Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi*. Approved Standard, M38-A2, Wayne, PA., 16.
92. Clinical and Laboratory Standards Institute (1996). *Method for broth dilution antifungal susceptibility testing yeast; approved standard*. National Commintee for Clinical Laboratuary Standart document M27- A, VA Medical Center, Tucson, 14.
93. Clinical and Laboratory Standards Institute (2008b). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*. National Commintee for Clinical Laboratuary Standart document M100-S16, Wayne, PA.
94. Park, J., Lee, J., Jung, E., Park, Y., Kim, K., Park, B., Jung, K., Park, E., Kim, J. and Park, D. (2004). In vitro antibacterial and anti-inflammatory effects of honokiol and magnolol against *Propionibacterium* sp. *European Journal of Pharmacology*, 496, 189-195.
95. Özçelik, B. (2007). The fungi/bacteriostatical-static effect of ultraviolet light in 254nm-354nm wavelengths. *Research Journal of Microbiology*, 2, 42–49.
96. Peşin-Süntar, I., Akkol-Küpeli, E., Yılmaz, D., Baykal, T., Kırmızıbekmez, H., Alper, M. and Yeşilada, E. (2010). Investigations on the *in vivo* wound healing potential of *Hypericum perforatum* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 127(2), 468-477.
97. Schmidt, E. and Wanner, J. (2016). Adulteration of essential oils. Edt. H. C. Başer ve G. Buchbauer, In: *Handbook of essential oils, science, technology and applications*, (2nd Edition). New York: CRC Press, 707.
98. Carson, C. F., Hammer K. A., and Riley T. V. (1995), Broth micro-dilution method for determining the susceptibility of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *The University of Western Australia*, 181-185.
99. Raman, A., Weir, U. and Bloomfield, S. A. (1995). Antimicrobial effects of tea-tree oil and its major components on *Staphylococcus aureus*, *Staph. epidermidis* and *Propionibacterium acnes*. *Letters and Applied Microbiology*, 21, 242-245.
100. Carson, C. F. and Riley T. V. (1998). Antimicrobial activity of tea tree oil. *Rural Industries Research and Development Corporation*, 11-34.

101. Filoche, S. K., Soma, K. and Sissons, C. H. (2005), Antimicrobial effects of essential oils in combination with chlorhexidine digluconate. *Oral Microbiology Immunology*, 20, 221-225.
102. Agarwal, L., Lal, P. and Pruthi, V. (2010). Effect of plant oils on candida albicans. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 43(5), 447-451.
103. Mondello, F., Bernardis, F., Girolamo, A., Salvatore, G. and Cassone, A. (2003). In vitro and in vivo activity of tea tree oil against azole-susceptible and -resistant human pathogenic yeasts. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 51, 1223-1229.
104. Mondello, F., Bernardis, F., Girolamo, Cassone, A. and Salvatore, G. (2006). In vivo activity of terpinen-4-ol, the main bioactive component of melaleuca alternifolia cheel (tea tree) oil against azole-susceptible and –resistant human pathogenic candida species. *BioMed Central*, 158, 1-8.
105. Carson, C. F., Hammer K. A. and Riley T. V. (2002). In vitro activity of melaleuca alternifolia (tea tree) oil against dermatophytes and other filamentous fungi. *Journal and Antimicrobial Chemotherapy*, 50(2), 195-199.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : GÖÇMEN İmge Ece
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 01.01.1994, Tarsus
 Medeni hali : Bekar
 Telefon : 05378462144
 e-mail : imge_ece@hotmail.com



Eğitim Derecesi

Eğitim Birimi

Mezuniyet tarihi

Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi/ Farmakognozi Anabilim Dalı/ Fitoterapi Programı	Devam Ediyor
Lisans	İnönü Üniversitesi/Eczacılık Fakültesi	2016
Lise	Tarsus Fen Lisesi	2011

İş Deneyimi, Yıl

Yer

Görev

2016-devam ediyor	Ertuğrulgazi Sağlık Sosyal Güvenlik Merkezi	Reçete kontrol birimi
-------------------	---	-----------------------

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

Deliorman-Orhan, D., Kürkçüoğlu, M. ve Göçmen, İ.E. (2018). *Piyasada satılan çay ağacı yağlarının avrupa farmakopesi monograf kriterleri yönünden değerlendirilmesi*. XXIII. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı. BİHAT Poster- P61, Antalya.



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR...

Exquisite

