

**T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***Laurus nobilis* ve *Cistus laurifolius*'dan ELDE EDİLEN UÇUCU
YAĞLARIN GC-MS ANALİZİ VE ANTİMİKROBİYAL
AKTİVİTELERİ**

Esmâ Sena PATTABANOĞLU

**Danışman
Jüri Üyesi
Jüri Üyesi**

**Dr. Öğr. Üyesi Kerim GÜNEY
Prof. Dr. Fatmagül GEVEN
Dr. Öğr. Üyesi Mahmut GÜR**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
ORMAN MÜHENDİSİĞİ ANA BİLİM DALI**

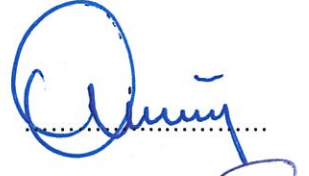
KASTAMONU - 2018

TEZ ONAYI

Esmâ Sena PATTABANOĞLU, tarafından hazırlanan “*Laurus nobilis* L. ve *Cistus laurifolius* L.’dan Elde Edilen Uçucu Yağların GC-MS Analizi ve Antimikrobiyal Aktiviteleri” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde savunulmuş ve **oy birliği** ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Orman Mühendisliği Anabilim Dalı**’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Kerim GÜNEY
Kastamonu Üniversitesi



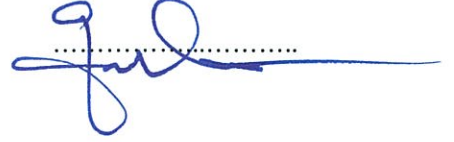
Jüri Üyesi

Prof. Dr. Fatmagül GEVEN
Ankara Üniversitesi



Jüri Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Mahmut GÜR
Kastamonu Üniversitesi



28/ 06 /2018

Enstitü Müdür V.

Doç. Dr. M. Altan KURNAZ



TAAHHÜTNAME

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildirir ve taahhüt ederim.

İmza

Esmâ Sena PATTABANOĞLU



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Laurus nobilis L. ve *Cistus laurifolius* L.'dan ELDE EDİLEN UÇUCU YAĞLARIN
GC-MS ANALİZİ VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ

Esmâ Sena PATTABANOĞLU
Kastamonu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Orman Mühendisliği Ana Bilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Kerim GÜNEY

Bu çalışma, *Laurus nobilis* L. ve *Cistus laurifolius* L. bitkilerinden su buharı distilasyonu yöntemi ile elde edilen uçucu yağların patojen mantar ve bakteriler üzerindeki antimikrobiyal etkilerini ortaya çıkarmayı amaçlamaktadır.

Bu çalışmada *Laurus nobilis* (Defne) ve *Cistus laurifolius* (Defne Yapraklı Laden) bitkilerinin her birinden elde edilen uçucu yağlar daha sonra Gram-pozitif bakterilere: *Bacillus subtilis*, *Enterococcus durans*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis*, ve Gram-negatif bakterilere: *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella kentucky*, *Salmonella infantis*, *Salmonella enteritidis*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Pseudomonas fluorescens* patojen bakterilerine ve patojen mantar *Candida albicans* 'a karşı test edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Laurus nobilis* (Defne) ve *Cistus laurifolius* (Defne Yapraklı Laden) , Antimikrobiyal, Uçucu yağ, GC-MS analizi.

2018, 38 sayfa

Bilim Kodu: 1205

ABSTRACT

MSc Thesis

ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND GC-MS ANALYSIS OF THE ESSENTIAL OILS OBTAINED FROM *Laurus nobilis* and *Cistus laurifolius*

Esma Sena PATTABANOĞLU
Kastamonu University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Forest Engineering

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Kerim GÜNEY

This study aims to reveal the antimicrobial effects of essential oils obtained by water vapor distillation method on pathogenic fungi and bacteria from *Laurus nobilis* L. and *Cistus laurifolius* L.

In this study, the essential oils obtained from each of the plants of *Laurus nobilis* (Bay Laurel) and *Cistus laurifolius* (Laurel leaf Cistus) were then tested for the presence of Gram-positive bacteria such as *Bacillus subtilis*, *Enterococcus durans*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*, and Gram-negative bacteria: *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella infantis*, *Salmonella enteritidis*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas fluorescens* were tested against pathogenic bacteria and the pathogen fungus *Candida albicans*.

Key Words: *Laurus nobilis* (Bay Laurel) and *Cistus laurifolius* (Laurel leaf Cistus), Antimicrobial, Essential oil, GC-MS analysis.

2018, 38 pages

Science Code: 1205

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde, bana yardımcı olmak için elinden geleni yapan, büyük bir sabır ve özveriyle destekleyen, elinden geleni fazlasıyla yapan, kıymetli bilgi birikimi ve tecrübeleriyle yol gösteren, manevi olarak her zaman arkamda olan Dr. Öğr. Üyesi Kerim GÜNEY'e sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

GC-MS analizlerinin yorumlanmasında Dr. Öğr. Üyesi Mahmut GÜR hocama, laboratuvar ekipmanlarının karşılanmasında desteğini esirgemeyen Doç. Dr. Talip ÇETER hocama, MİK ve MBK, MFK değerlerinin yorumlanmasında Doç. Dr. Ergin Murat ALTUNER hocama verdikleri destek için teşekkür ediyorum.

Tez düzeltmelerinde verdiği desteklerinden dolayı Dr. Öğr. Üyesi Özkan EVCİN hocama,

Eşim Hakan PATTABANOĞLU'na hayatım boyunca manevi olarak desteklediği için, kızım Masal Su PATTABANOĞLU'na o küçükük yüreği ve dolu dolu sevgisi için teşekkür etmek istiyorum. Bana her zaman iyi dilekleriyle destek olup cesaret veren aileme ve arkadaşlarıma da teşekkür ediyorum.

Son olarak, Kastamonu Üniversitesinde destek gördüğüm akademik ve idari kadroda çalışan tüm arkadaş ve dostlarımıza teşekkürlerimi sunuyorum.

Esmâ Senâ PATTABANOĞLU
Kastamonu, Haziran, 2018

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
GRAFİKLER DİZİNİ	xi
FOTOĞRAFLAR DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Tıbbi Bitkilerin Tarihçesi	1
1.2. Lauraceae (Defnegiller) Ailesi	3
1.2.1. <i>Laurus nobilis</i> (Defne).....	3
1.3. Cistaceae (Ladengiller) Ailesi	4
1.3.1. <i>Cistus laurifolius</i> (Defne Yapraklı Laden)	4
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR	6
3. MATERYAL VE YÖNTEM	12
3.1. Materyal.....	12
3.1.1. Bitki Materyali.....	12
3.1.2. Mikrobiyal Materyal (Mantar ve Bakteriler).....	12
3.2. Yöntem	13
3.2.1. Mikroorganizmaların Temini ve Hazırlanması	13
3.2.2. Bitki Taksonlarının Temini ve Uçucu Yağın Elde Edilmesi	13
3.2.3. GC-MS Analizi.....	16
3.2.4. Antimikrobiyal Etkinlik	17
4. BULGULAR	19
4.1. GC-MS Bulguları	19
4.1.1. Defneye Ait GC-MS Bulguları	19
4.1.2. Defne Yapraklı Ladene Ait GC-MS Bulguları	19
4.2. Uçucu Yağların Antimikrobiyal Etkinliği	24

4.2.1. Bitki Örneklerine Ait MİK Değerleri	24
4.2.2. Bitki Örneklere Ait MBK, MFK Değerleri	25
4.2.3. Defneye Ait MİK Değerleri	25
4.2.4. Defneye Ait MBK, MFK Değerleri	26
4.2.5. Defne Yapraklı Ladene Ait MİK Değerleri	28
4.2.6. Defne Yapraklı Ladene Ait MBK, MFK Değerleri	28
5. TARTIŞMA	30
5.1. GC-MS Değerleri Hakkında	30
5.2. Antimikrobiyal Değerler Hakkında.....	32
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	34
KAYNAKLAR	35
ÖZGEÇMİŞ	38

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

%	Yüzde
°C	Santigrad derece
kob/mL	Koloni oluşturan birim
GC-MS	Gaz Kromatografisi - Kütle Spektrofotometresi
kg	Kilogram
GI	Mide barsak yolu enfeksiyonları
m	Metre
M.Ö.	Milattan önce
MBK	Minimum Bakterisidal Konsantrasyon
MFK	Minimum Fungisidal Konsantrasyon
MİK	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
ml	Mililitre
subsp.	Alttür
UTI	İdrar yolu enfeksiyonları
WHO	Dünya Sağlık Organizasyonu
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
δ	Delta
μg	Mikrogram
μL	Mikrolitre
DSMZ	Alman Mikroorganizma ve Hücre Kùltürleri Koleksiyonu
ATTC	Amerikan Tipi Kùltür Koleksiyonu

TABLULAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 3.1. Gram pozitif bakterilerin sınıflandırılması	13
Tablo 3.2. Gram negatif bakterilerin sınıflandırılması	13
Tablo 3.3. Bitki türleri, lokaliteleri, kullanılan kısımları ve toplanma tarihi	14
Tablo 4.1. Defneye ait GC-MS analizi	21
Tablo 4.2. Defne yapraklı ladene ait GC-MS analizi	23
Tablo 4.3. Bitki taksonlarına ait MİK değerleri $\mu\text{g/ml}$	24
Tablo 4.4. Bitki taksonlarına ait MBK, MFK değerleri $\mu\text{g/mL}$	25
Tablo 5.1. Dominant kimyasal bileşenler açısından farklılık benzerlikler	30
Tablo 5.2. Farklı coğrafik bölgeler ve farklı bitki kısımları ile defne yaprağı uçucu yağının kimyasal bileşimindeki değişim.....	31

GRAFİKLER DİZİNİ

	Sayfa
Grafik 4.1. Defne uçucu yağına ait GC-MS kromatogramı	20
Grafik 4.2. Defne yapraklı laden uçucu yağına ait GC-MS kromatogramı	22
Grafik 4.3. Defne'ye ait MİK değerleri	27
Grafik 4.4. Defne'ye ait MBK, MFK değerleri	27
Grafik 4.5. Defne yapraklı ladene ait MİK değerleri	29
Grafik 4.6. Defne yapraklı ladene ait MBK, MFK değerleri	29



FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

	Sayfa
Fotoğraf 3.1. Örneklerin toplanması (Laden)	14
Fotoğraf 3.2. Araziden toplanmış örnekler	14
Fotoğraf 3.3. Örneklerin ayıklanması	14
Fotoğraf 3.4. Ayıklanmış bitki örnekleri	14
Fotoğraf 3.5. Defne (<i>Laurus nobilis</i>)	15
Fotoğraf 3.6. Clevenger uçucu yağ cihazı.....	15
Fotoğraf 3.7. Ephendorf tüplerinde Defne uçucu yağı	15
Fotoğraf 3.8. Ephendorf tüplerinde Defne yapraklı laden uçucu yağı	16
Fotoğraf 4.1. Defne MİK sonucu	26
Fotoğraf 4.2. Defne MBK, MFK sonucu.	26
Fotoğraf 4.3. Defne yapraklı laden MİK sonucu	28
Fotoğraf 4.4. Defne yapraklı laden MBK, MFK sonucu	29

1. GİRİŞ

1.1. Tıbbi Bitkilerin Tarihçesi

Geleneksel tıp, farklı kültürlerde farklılıklar gösteren, kaynakları sınırlı toplumların şifa bulmak için inanç ve tecrübelerine dayanan, ispatı yapılabilen veya yapılamayan, kolaylıkla erişebildikleri ve maliyeti düşük tedavi kaynağıdır. İnsanlar tedavi olmak, şifa bulmak, besin elde etmek, sağlık sorunlarını aşmak gibi amaçlarla bitkileri kullanmışlardır ve bu kullanımın uzun bir tarihçesi vardır. Yapılan araştırmalarda, tesadüf ya da merak sonucu elde ettikleri sonuçlarla şifa bulmaya çalışan insanoğlunun bu çabalarının M.Ö. 4000-5000 li yıllara kadar uzandığı bilinmektedir. Bitki kullanımının bu kadar uzun yıllara dayandığını destekleyen kanıt, ilaç hazırlamak için Hindistan'da kullanılan, bilinen en eski bitki kullanım kaynağı Rigveda'da bulunmuştur. Bu kitabın M.Ö. 1600-3500 yıllarında yazıldığı çeşitli araştırmalar sonucu belirlenmiştir. Bitkiler insanlar tarafından çeşitli hastalıkların tedavisinde yüzyıllardır kullanılmaktadır. Teknolojinin gelişmesi, insanlığın ilerlemesi sürecinde bitkilerin özellikleri araştırıldıkça besin, kozmetik, hastalıkların önlenmesi ve iyileştirilmesi gibi bir çok alanda kullanımı artmaktadır. Tıbbi ve aromatik bitkiler, binlerce yıl öncesinden bugüne kadar toplumların kurduğu tıbbi sistemlerin en önemli kaynağıdır. Günümüzdeki bir çok ilaç, kaynağını bitkilerden almıştır. Geleneksel olarak kullanılan bitkisel ilaçlar yüzyıllar boyunca ya tesadüfi yada deneme yanılma yöntemleriyle keşfedilmiştir. Gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerde yaşayan insanlar, tedavi ihtiyaçları için geleneksel şifacılar ve bu şifacıların bitkilerle hazırladıkları kürlerine güvenir ve onların hazırladıkları bitkisel ilaçları kullanırlar. Bitkisel ilaçların kullanımının toplumların kültürel özellikleri nedeniyle hala daha popülerliği devam etmektedir. Bilimsel tıp, geleneksel uygulamalardan fikir alabilir, bu fikirleri bilimsel verilerle desteklenen çalışmalarla destekleyebilir ve güvenilir sonuçlar ortaya çıkarabilir. Bitkisel doğal ürünler, sağlıklı yaşamın sürdürülmesi, hastalıkların tedavisi ve hastalıklardan korunma için bütün insanlar ve tüm dünya açısından önemlidir. Doğal ürünler; bitkiler, hayvanlar, mantarlar, mikroskopik canlılar vb. canlı doğal kaynaklardan yada toprak, maden, su, petrol, kömür gibi cansız doğal kaynaklardan elde edilmekte ve elde edilen bu ürünlerin önemi çeşitli araştırmalarda ve bu araştırmalardan elde edilen sonuçların raporlarında

tartışılmaktadır. Doğal ürünlerin kullanımının canlılar ve ekosistem üzerindeki olumlu etkileri araştırmalarla ortaya konulduka kuşaktan kuşağa gezen geleneksel bilgilerin uygulamalı bilimlerde önemi artmış ve doğal ürünlere ilgide büyük oranda artış olmuştur. Son yıllarda bitkilerin yapısını oluşturan kimyasalların ve bunların biyolojik aktivitelerinin araştırılması giderek hız kazanmıştır. Biyoaktif komponentlerin araştırılması ve yapılan çalışmalarla bunların geliştirilmesi, birçok tekniğin ortaya çıkmasını sağlamıştır. Artan ilgiyle beraber Dünya Sağlık Örgütü (WHO), geleneksel tıbbın yani alternatif tıbbın farkına varmış ve bitkisel ilaçlar için çalışmalar yapmış; stratejiler, kılavuzlar, standartlar ve dökümanlar geliştirmiştir. Ziraat uygulama alanlarının ve teknolojisinin gelişmesi ve iyileştirilmesiyle tıbbi ve aromatik bitkilerin yetiştirilmesi, işlenmesi ve bitkisel ilaçların üretiminde kullanılması artmıştır. Tıbbi bitkiler, üretilen ve piyasaya sürülen ilaçların asıl kaynakları olmalı sentetik olarak üretilmemelidir. Yapılan çalışmalarda 250.000'den fazla çiçekli bitki türünün var olduğu tahmin edilmektedir. Tıbbi bitkilerin araştırılması, faydalarının anlaşılması, toksisitesinin ortaya konulması ve bu toksisiteye karşı önlem alınması bu bitkilere olan ilgiyi artırmaktadır (Hosseinzadeh vd., 2015). Uçucu yağlar bitkilerin vejetatif ve generatif organlarının tamamından elde edilebileceği gibi sadece tek bir organından da elde edilebilir. Bu yağların bitkide bulunduğu yerler salgı hücreleri salgı kanalları yada salgı tüyleri olabilir. Ayrıca parankima ve epiderma hücrelerinde de buldukları saptanmıştır. Uçucu yağların protoplazmada oluştukları veya buradan kökenlendikleri tahmin edilmektedir. Protoplazmada oluşan uçucu yağların bitkilerin hücresel yaşamlarında aktif bir rolü olmadığı bilinmektedir. Bunların yaşamsal döngüdeki reaksiyonlar sonucu ortaya çıkan detoksifiye ürünler olduğu iddia edilmektedir. Bitkilerde yaralanma sonucu oluşan ve bitkinin kendi oluşturduğu reçine türevi kimyasalların çözünmesinde rol aldığı ortaya çıkarılmıştır. Bitkilerde bulunduğu organlara göre, fotosenteze yardımcı olarak yapraklarda, tozlaşmaya yardımcı olmak için çiçeklerde yakalayıcı ve tutucu etkiye sahiptirler (Ghimire vd., 2015).

Bu çalışmada *Laurus nobilis* ve *Cistus laurifolius* bitkilerine ait uçucu yağlarının kimyasal bileşenleri ve antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır.

1.2. Lauraceae (Defnegiller) Ailesi

Defnegiller ailesi, bitkiler aleminden, kapalı tohumlular şubesine mensup çift çenekliler sınıfındadır. Bu ailenin 40 cinsi vardır. *Laurus nobilis* olarak isimlendirilen tür ise *Laurus* cinsinin mevcut tek türüdür.

1.2.1. *Laurus nobilis* (Defne)

Halk arasında; defne, defna, tenha ve tefne olarak adlandırılmışlardır. Defnenin ana vatanı Balkanlar ve Küçük Asya'dır. Eski çağlarda Akdeniz'in bütün kıyılarında varlığı mevcuttur. Akdeniz'in karakteristik bitkisi olan defne Mediterranean bölgesinin kıyı şeridinde dikey birinci zon olan Lauretum zonunda yayılış gösterir. Ülkemizdeki yayılışı 0-500 m rakım aralığındadır ancak 600-800 m rakımlara kadar çıkabilir. Kışları ılıman ve yazları sıcak olan alanlarda yayılış gösterir. Toprak fazla seçmemekle birlikte nemli habitatları ve dere yataklarını tercih eder (Göker ve Acar 1983). *Laurus nobilis* ülkemizde Ege, Akdeniz ve Karadeniz bölgelerinin sahil kesimlerinde doğal olarak yetişmektedir. Ticaretinde yaprakları ve meyveleri ağırlıklı olarak kullanılmaktadır. Defne yaprağı önemli ihraç maddelerimizden biri olup, defne yaprağı ve yağı olarak iki ayrı gümrük tarife ile dış ticareti yapılır (Alma 2011). Defne ağacı 5-10 m boyları arasında, herdem yeşil ve dalları gövdesiyle mutlaka dar açı yapan bir ağaççık şeklindedir. Sürgün verme yetenekleri oldukça fazladır, yaprakları 5-10 cm uzunluklarında, 2-4 cm eninde ve eliptik formdadır. Sürgünlere sarmal şekilde dizilen yaprakları, tam kenarlı ve deri gibi sert nitelikte olup yaprakların üst yüzleri parlak koyu yeşil, alt yüzleri ise daha açık yeşil ve mat bir renktedir. Yapraklar dallarına kısa bir sapla, dik bir şekilde bağlanır. Mart-Nisan aylarında açan çiçekleri sarı renkte ve 4-6 çiçek bir arada bulunur. Tek bir tohum taşıyan meyveleri üzümü andıran yapıdadır ve her bir meyvesi zeytin tanesi kadar büyüklüktedir. Önceleri yeşil renkte olan bu meyveler Eylül-Ekim ayları arasında olgunlaşıp mavimsi siyah bir renk alır (Özer 1987). Defne yaprakların içerisinde uçucu yağ (% 1-4), tanen ve acı maddeler bulundurulur. Uçucu yağın bulunma oranı yetiştiği bölgelere göre değişir ve içeriğinde % 35-50 oranında sineol barındırır. Ülkemiz yıllık defne yaprağı üretimi ile dünya defne ticaretinin % 97'sini karşılar ve bu yüzden ihraç gelirlerimiz içerisinde önemli bir yer tutar. Senelerdir devamlılığı süren bu ticaretin hacmi yılda 3000-3500 ton arasında değişir. Sindirimi kolaylaştırıcı, hazmı kolaylaştırıcı, iştah açıcı, idrar

söktürücü, terletici, romatizmal ağrılara, deri kızarıklarına, kulak ağrısına iyi gelme, sinir ağrılarını dindirme ve vücuda rahatlık verme gibi özellikleriyle yaprak ve meyveleri tıbbi amaçlarla kullanımıyla önemli bir yere sahiptir. Bu etkilerinden yararlanmak yapraklar genellikle yaz aylarının sonlarına doğru toplanır.

1.3. Cistaceae (Ladengiller) Ailesi

Cistaceae ailesi, bitkiler aleminden, kapalı tohumlular şubesine mensup çit çenekliler sınıfındadır. Bu familyanın sekiz cinsi ve yaklaşık olarak 180 türü bulunmaktadır. Batı Akdeniz bölgesi ve Kuzey yarıküre'nin ılıman bölgelerinde yayılış gösterir (Coode, 1965; 1988; Munoz ve Navarro, 1993; Arrington ve Kubitzki, 2003; Agueda vd., 2006). Bu familyanın önemli cinslerinden birisi olan *Cistus* cinsi dünyada 58 tür, Türkiye'de ise doğal olarak yayılış gösteren beş türle temsil edilir (Coode 1965; 1988). *Cistus* cinsine ait türlerde; kaşıntılı, sulu egzama gibi deri hastalıklarında, pişiklerde, besin alerjilerinin sebep olduğu deri hastalıklarında, ağız içi, mide-bağırsak, deri ve tırnak mantarlarında antifungal etki gösterir. Cinsel gücü artırıcı ve cinsel isteksizliği giderici etkisi mevcuttur. Sedatif etki de gözlemlenmiştir. Uzun süreli kullanımlarda uykusuzluğa sebep olması istenmeyen yan etkilerindedir. İki aydan daha fazla süren kullanımlarda baş ağrıları artırdığı tespit edilmiştir. Sabun yapımıyla kozmetik sanayi de kullanımı da mevcuttur. Çayının yapılmasıyla birlikte; solunum yolları şikayetlerini azalttığı ve öksürüğe iyi geldiği ifade edilmektedir.

1.3.1. *Cistus laurifolius* (Defne Yapraklı Laden)

Cistus laurifolius 1,5-2 m boyları arasında çok yıllık çalı türlerindedir. Yaprakları 3-7 cm uzunluğunda mızrağı andıran bir yapıda ve kenarları ondüle şeklinde olup dal üzerinde karşılıklı olarak dizilmiştir. Dibinden itibaren üçlü damarlanma yapısı göstermekte, üst yüzü çıplak, koyu yeşil ve yapışkan bir yapıda, alt yüzü ise gri, tüylü ve yine yapışkandır. Çiçekleri beyaz, taç yaprakları dibinden itibaren sarımtırak renktedir. Bir çiçek sapı üzerinde 3-8 arasında sayıda çiçek açarlar. Çanak yaprak sayısı onu diğer türlerden ayıran bir özellik olarak 5 değil 3 tür. Meyvelerin birkaçı dik demetler halinde bir arada ve 5-6 mm çaplarında kahverengi kürelere benzeyen şekildedir. Üzeri tüyle kaplı üç çanak yaprakla birlikte meyve kurur ve çok sayıda tohum barındırır. Karaçam ormanlarında alt kısımlarda, 900-1200 arası yükseltilerde yayılış gösterirler. Güneşli ve yarı gölgeli alanlarda severler fakat -15 dereceye kadar

yaşamlarını sürdürebilirler. Nemli ve geçirgenliği iyi olan toprakları severler. iek rengi beyaz olup mayıs-haziran aylarında ieklenirler. Herdem yeşildir ve yapraklarını dkmezler. alımsı formda, sert-odunsu, çoklu ince gövdelere sahiptir. İçerisinde reçine miktarı fazla ama kalite olarak düşüktür, bu özelliklerinden dolayı kozmetikte kullanımı pek yoktur. Yerel halk arasında halı gibi doğal ürünlerin ipliklerini boyamada, yapraklarını kaynatma ile elde edilen suda uyuz tedavisinde kullanılmaktadır.



2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

Uçucu yağlar genellikle sıvı halde bulunan, güçlü koku ve uçucu madde içeren, suda çözünmeyen fakat sudan daha hafif ve yoğunlukları 0.8-1.3 arasında olan, su buharı distilasyonu ile bitkilerin vejetatif ve generatif organlarından elde edilen, açıkta bırakıldığında buharlaşan, tıbbi ve sağlık amaçlı aromaterapi, kozmetik, ilaç vb. gibi alanlarda kullanılan antioksidan, antimikrobiyal özellikleri olan maddelerdir. Uçucu yağlar suda çözünmezler ve suyla beraber heterojen karışım oluştururlar ama su buharıyla beraber sürüklenir, süzgeç kağıdına temas ettirilip açıkta bırakıldığında buharlaşır ve kağıt üzerinde iz bırakmazlar ve bu özellikleriyle sabit yağlardan ayrılırlar. Su yüzeyinde ayrı bir faz oluşturup eter, benzen, etanol gibi alkol türevi organik çözücülerde çözünürler. Uçucu yağlar suyla homojen bir karışım oluşturmazlar fakat kokularını yeterli miktarda suya geçirirler. Su ile oluşturduğu bu karışımlardan elde edilen aromatik sular, uçucu yağların bu özelliklerinden faydalanmak amacıyla hazırlanırlar. Uçucu yağların yapısında hidrokarbonlar ve hidrokarbonların oksijenli türevleri bulunur. Bu oksijenli türevler arasında alkoller, asitler, oksitler, aminler, esterler, aldehitler, kükürtlü bileşikler, ketonlar, fenol ve fenol eterleri, kinonlar, laktonlar, furan türevleri ve kükürtlü bileşikler yer alır. Uçucu yağların içinde bulunan bileşikler ve bu bileşiklerin miktarları elde edildiği bitkinin cinsine, bitkinin hangi organından elde edildiğine, yetiştirilme şekline, yetiştirildiği bölgenin coğrafi yapısına, bakısına, yüksekliğine ve iklimine bağlı olarak değişkenlik gösterir. Bitkilerin uçucu yağlarının antimikrobiyal etki mekanizmaları yağların lipofilik özellikleri sayesinde bakterilerin hücre duvarını delerek hücrenin daha iç kısımlarına ulaşmalarıyla gösterirler. Bakteri ve mantar hücrelerinin iç kısımlarına ulaşmasıyla ortamdaki besin maddelerinin alınmasının engeller, mikrobiyal metabolizmalarının enzim reaksiyonunu durdurur, ribozomal veya çekirdek seviyede enzim sentezinin engeller, membran yapısının değiştirir. Uçucu yağların özelliklerinden yararlanılarak patojen mantar ve bakterilere karşı yapılan antibakteriyel ve antifungal bazı literatür çalışmaları aşağıda verilmiştir.

Mukherjee ve Kaur (2015) yaptıkları çalışmada *Coriandrum sativum* (kişniş) ve *Laurus nobilis*'in (defne yaprağı) *Escherichia coli* ve *Bacillus* türlerine karşı antimikrobiyal aktivitelerini incelemiştir. Bu aktiviteler analiz edildi ve bir referans antibiyotik olan tetrasiklin ile karşılaştırılmıştır. Antimikrobiyal aktivite agar disk difüzyon yöntemi kullanılarak ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar kişniş ve defnenin tıbbi özelliklere sahip olduğunu göstermiştir. Kişniş ve defne yapraklarının sulu ekstraktlarının test edilen mikroorganizmaları (*E. coli* ve *Bacillus*) inhibe ettiği gözlemlenmiştir. Bu ekstraktlar, mikroorganizmalara karşı bir inhibisyon zonu oluşturmuştur. Bu nedenle, kişniş ve defne yapraklarında bulunan antimikrobiyal bileşenler, gelişmekte olan farmasötik endüstrilerde aktif ilaçların geliştirilmesinde kullanılabilir nitelikte olduğu tespit edilmiştir.

Verdian-rizi ve Hadjiakhoondi (2008) yaptıkları çalışmada İran'da defnenin farklı büyüme devrelerinde toprak üstü organlarında biriken uçucu yağın kimyasallarını çalışmışlardır. Bitki materyali, farklı mevsimsel dönemlerde hasat edilmiştir (vegetatif devre, çiçeklenme öncesi, tam çiçeklenme ve tohum). Uçucu yağlar, doğal kurutulmuş örneklerin su buharı distilasyonu ile elde edilmiştir. Uçucu yağların GC-MS ile analizinde 39 bileşik tanımlanmıştır. Ana bileşikler, 1,8-sineole, trans-sabinen hidrat, α -terpinil asetat, metil öjenol, sabinen, öjenol ve α -pinendir. Sonuç olarak farklı fenolojik devrelerden elde edilen uçucu yağların neredeyse benzer bileşimlere sahip olduğunu ortaya konulmuştur; ana bileşikler, 1,8-sineole, trans-sabinen hidrat, α -terpinil asetat, metil öjenol, sabinen, öjenol, α -pinen ve α -terpinol'dür. Bu çalışmayla bitkinin hasat zamanının, uçucu yağın kimyasal bileşimi üzerinde önemli bir etkiye sahip olmadığı, fakat bitkinin uçucu yağ içeriğini etkilediği tespit edilmiştir. Ayrıca çiçeklenme aşamasının bitkinin hasat edilmesi için en uygun zaman olduğu, çünkü bu zamanda bitki en yüksek oranda uçucu yağ içerdiği kaydedilmiştir.

Merghni ve Marzouki (2016) yaptıkları çalışmada Tunus'ta yayılış gösteren defne bitkisinin uçucu yağlarının kimyasal bileşimi ile bunun klinik *Staphylococcus aureus* suşlarına karşı antibakteriyel ve antibiyofilm aktiviteleri araştırmışlardır. Elde edilen GC-MS testinin sonuçlarına göre uçucu yağlardaki ana bileşikler olarak 1,8-cineole, metil öjenol ve α -terpinil asetatdır. Ayrıca, Susa bölgesi'nin uçucu yağında en iyi bakterisidal aktivite tespit edilmiştir (MİK değerleri 3.91 ila 15.62 mg m⁻¹ arasında).

değişmektedir). Ayrıca, bu uçucu yağın düşük bir alt inhibitör konsantrasyona (1/16 x MIC) göre % 70'in üzerinde güçlü bir biyofilm inhibisyon etkisi gösterdiği tespit edilmiştir. MTT testiyle, her iki uçucu yağın, 79.6 ± 2.27 ila 95.2 ± 0.56 arasında değişen eradikasyon yüzdeleriyle mükemmel bir antibiyofilm aktivitesi sergilediğini ortaya çıkarılmıştır. Bu çalışmadaki bulgularda defne esansiyel yağının oral *S. aureus* suşlarını önemli antibiyofilm etkinliği ile inhibe edebildiğini ortaya çıkmıştır. Oral hastalıkların önlenmesinde alternatif bir bitkisel kaynak olduğu tespit edilmiştir.

Chahal ve Kaur (2017) yaptıkları çalışmada defne bitkisinin kimyasal yapısını ve biyolojik aktivitelerini vurgulamaktadırlar. Bitkinin farklı bölgelerinden gelen uçucu yağların ana bileşenlerinin miktarlarında, farklı coğrafi kökenlere, yetiştirme koşullarına, mevsimsel değişimlere ve izolasyon prosedürlerine atfedilen geniş varyasyonlar gözlemlenmiştir. Bay tohumu esansiyel yağında bulunan başlıca bileşikler, 1,8 cineole, sabinene, limonen, öjenol ve a-pinendir. Bay yaprak esansiyel yağı, antimikrobiyal, insektisidal, antioksidan, antikonvülzan vb. Gibi birçok farmakolojik aktiviteye sahip uygulama bulmaktadır. Defne yaprağı esansiyel yağının çeşitli bileşenlerinin varlığı bitkinin biyolojik aktivitelerinin geniş bir yelpazesinden sorumlu olabilir.

Dahak ve Bouamama (2014) yaptıkları çalışmada Fas'ta yayılış gösterenli *Laurus nobilis*'in uçucu yağlarının kimyasal bileşimi ortaya koymuşlardır. Çeşitli kurutma yöntemleri kullanılarak defneye yapraklarına ait uçucu yağın kimyasal bileşimi, verimliliği ve antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir. Aromatik bitkilerin kurutulması, esansiyel yağların miktarında ve kalitesinde önemli ölçüde etkilidir. Bu nedenle, hava ile kurutulmuş bitkilerden elde edilen ekstraksiyon, sadece endüstriyel verimi arttırmakla kalmaz aynı zamanda esansiyel yağların farmasötik kalitesini de korur. Bu çalışma test edilen tüm bakteri ve mantarlarda düşük MİK değeri açık havada defne yapraklarını kurutmanın en iyi yöntem olduğunu ortaya çıkartmıştır. Ayrıca uçucu yağın gıdalarda doğal bir antimikrobiyal ajan olarak değerli bir kaynak olarak önerilebileceğini yine bu çalışmada ifade edilmiştir.

Santoyo ve Lloria (2006) yaptıkları çalışmada defne yapraklarından süperkritik CO₂ ekstraksiyonu ile elde edilen fraksiyonların orta derecede antioksidan ve yüksek

antimikrobiyal aktivitelerini çalışmışlardır. Antimikrobiyal aktivite açısından daha iyi sonuçlar ayırıcı 2'de toplanan fraksiyondan elde edilmiştir. Antioksidan bileşikler ise her iki ayırıcıda da benzer bulunmuştur. Sonuç olarak, defneye ait özütler antimikrobiyal etkileriyle ham ve işlenmiş gıdaların korumak için kullanılabilir. SKE prosesinde elde edilen özütler temiz bir teknolojinin kullanımını içerir.

Kovacevic ve Simic (2007) bu çalışmada Karadağ'da yetişen defnenin sürgün, yaprak, gövde ve çiçeklerinden elde edilen uçucu yağın GC-MS ile analizini yapmışlardır. Esansiyel yağ verimi genç sürgünlerde % 1.4, ayrılmış yapraklarda % 1.5, ayrılmış saplarda % 0.7 olarak bulunmuştur. İncelenen tüm yağların ana bileşenleri, 1,8-cineole, methyleugenol ve α -terpinil asetatıdır. Ayrıca α -pinen, β -pinen, sabinene ve linalool da mevcuttur. Defne uçucu yağının ticari numuneleri için, genç sürgünlerden elde edilen uçucu yağ ile yaprak ve kökten elde edilen uçucu yağlar arasında önemli bir farkın bulunmaması önemli bir bulgudur. Çiçek yağının ana bileşenleri 1,8-cineole (% 15.7), β -kariyofil (% 9,5), γ -muurolen (% 7.1), α -terpinil asetat (% 6.5) ve methyleugenol (% 3.9)'dir.

Gölükçü ve Tokgöz (2018) bu çalışmada su buharı distilasyon proses zamanının defne uçucu yağ bileşimi üzerine olan etkisi araştırmışlardır. Beş farklı distilasyon süresi (10', 20', 30', 60' ve 120') incelenmiştir. Sonuçlarda distilasyon süresinin defne esansiyel yağ bileşiminde oldukça etkili olduğunu tespit edilmiştir. Uçucu yağın başlıca bileşeni 1,8-cineol sürece göre % 57.7-79.4 oranında değişim göstermiştir. Doğadan yada kültüre ederek elde edilen defne yaprağının bileşenleri, başta genotip olmak üzere, yaşı, kullanılan kısmı, hasat zamanı, hasat şekli, kurutma yöntemi gibi faktörlere bağlı olarak etkilenmektedir.

El Malti ve Amarouch (2009) bu çalışmada, defnenin infüzyon veya oral preparasyonla bitkisel ilaç olarak patojenler üzerindeki antimikrobiyal etkisini belirlemişlerdir. Bu çalışma ile defne ekstresinin antibakteriyel etkisi doğrulanmıştır. Araştırmada *L. nobilis*'in bir baharat olarak kullanılmasında 0.003 mg/g'ı geçmemek şartı ile olumsuz bir etki gözlenmemiştir.

Bennadja ve Tlili Ait Kaki (2013) bu çalışmada, Cezayir'in doğusundaki iklim koşullarında yetiştirilen defne yaprağına ait uçucu yağın kromatogram profili

belirlenmiş ve antibiyotik aktivitesi 8 bakteri suşuna karşı test etmişlerdir (*Escherichia coli*, *Serratia sp.*, *Proteus sp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp.*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii*). Uçucu yağın GC/MS sonuçlarında göre, 1.8 cineole (% 35.31), β linalool (% 22.52), Eugenol metil eteri (% 9.17), camfen (% 7.37) karene (% 5.39) bileşenleri bulunmuştur. Bu yağın bileşimi, özellikle *Streptococcus sp.* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı 10 mm ila 23.6 mm arasında değişen bir inhibisyon çapı ile ilginç bir antibakteriyel aktivite vermiştir. *Staphylococcus aureus*, konsantre yağa duyarlı iken *Serratia sp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* ve *Escherichia coli* ise çok seyreltilmiş yağa karşı duyarlıdır (sırasıyla, 11,45 mm, 11,05 mm, 8,1 mm ve 7,1 mm). *Proteus* en az duyarlı suş olarak bulunmuştur.

Pinheiro ve Filho (2017) bu çalışmada Cryptococcosis'un son yıllarda önemli bir hastalık ve ölüm nedenine dönüşen fırsatçı bir mantar enfeksiyonu olduğu belirtilip *Cryptococcus neoformans* suşlarına karşı *Laurus nobilis* L. (yaprak) esansiyel yağının in vitro antifungal aktivitesini araştırılmıştır. Çalışmada esansiyel yağ, fungistatik etki göstermiştir.

Yılmaz ve Timur (2013) bu çalışmada, *Laurus nobilis* L.'nin yapraklarından elde edilen uçucu yağın antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesini değerlendirmişlerdir. Bu çalışma sonuçları açısından antibakteriyel, antifungal ve antioksidan potansiyel ifade eden önemli sonuçlar ortaya koymuştur. *L. nobilis* uçucu yağı gıda kaynaklı patojen bakterilere karşı ya da ilaç endüstrisinde, bir gıda takviyesi olarak kolayca erişilebilen ve zengin bir doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılabilceği ortaya konmuştur.

Derwich ve Benziane (2009) bu çalışma kapsamında *Laurus nobilis* yapraklarının uçucu yağın kimyasal bileşimi, verimi ve antibakteriyel aktivitesini belirlemişlerdir. *Laurus nobilis* yapraklarının uçucu yağlarının ekstraksiyonu, su buharı distilasyonu ile elde edilmiş ve kimyasal bileşimleri ve kemotiplerinin tanımlanması için kütle spektrometresi (GC-MS) ile gaz kromatografisi kullanılmıştır. Uçucu yağların başlıca bileşenleri 1,8-cineol (% 52.43) α -terpinil asetat (% 8.96), sabinen (% 6.13), limonen (% 5.25), α -pinene (% 3.72), linalool (% 3.14), terpinen-4-ol (% 2.56), α -terpinen (% 2.12), β -pinen (% 1.98), α -terpinol (% 1.56), bornil asetat (% 1.89), α -phellandren (%

1.28), myrsen (% 1.13), campfen (% 1.05), p-cymene (% 0.94), δ -terpinen (% 0.98) ve α -öjenol (% 0.56). Kimyasal bileşimler, bu yaprakların diğer ülkelerde analiz edilen diğer *Laurus nobilis* uçucu yağlarınıninkilere benzer bileşimlere sahip olduğunu ortaya çıkarmıştır. Test edilen bakteri suşlarının, çalışılan esansiyel yağlara duyarlı olduğu ve 0.01 ila 1 mg / ml arasında değişen minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) ile çok etkili bir bakterisidal aktivite göstermiştir.

Öğütveren ve Savaş Türkiye'de Bilecik ilinden toplanmış *Cistus laurifolius*'un su buharı distilasyonu ile elde edilen uçucu yağı GC-MS ile analiz etmişlerdir. Bu çalışmada uçucu yağın % 67'sini temsil eden altmış dört bileşik tespit edilmiştir. En önemli bileşenler Borneol (% 6.1) ve nonacosane (% 2.8)'dir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki Materyali

Bu araştırmada Kastamonu il sınırları içinden toplanmış *Laurus nobilis* ve *Cistus laurifolius* bitkilerinden elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimi ve antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır. Bu taksonlar Örneklere *Cistus laurifolius* (Defne yapraklı laden) Kastamonu merkez-evreyolu kenarından (800 m), *Laurus nobilis* (Defne) İnebolu ilçesi denize bakan yamaçlardan (0-300 m) aralığından toplanmıştır.

3.1.2. Mikrobiyal Materyal (Mantar ve Bakteriler)

Araştırmada kullanılan Gram pozitif bakteri suşları: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* DSMZ 20044, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Enterococcus faecium*, *Bacillus subtilis* DSMZ 1971, *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Enterococcus durans*. Gram negatif bakteri suşları: *Salmonella typhimurium* SL 1344, *Salmonella kentucky*, *Salmonella infantis*, *Salmonella enteritidis* ATCC 13075, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Pseudomonas aeruginosa* DSMZ 50071, *Pseudomonas fluorescens* P1, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 7544, *Serratia marcescens* ve mantar: *Candida albicans* DSMZ 1386. Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere ait özellikler Tablo 3.1. ve Tablo 3.2.'de görölmektedir. Standardı olmayan suşlar gıdadan izole edilmiş ve Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü tarafından teşhis edilmiştir.

Tablo 3.1. Gram pozitif bakterilerin sınıflandırılması

Gram Pozitif Bakteriler			
İsim	Morfoloji	Aktarım Bölgeleri	Enfeksiyon türü
<i>Staphylococci</i>	Üzüm benzeri salkım koklar	Deri, burun delikleri/endojen, frontal bağlantı, atmosfer havası	Yumuşak doku, kemik, eklem, endokardit, gıda zehirlenmesi
<i>Enterococci</i>	Çiftli koklar ve zincirler	GI bölgesi, endojen, frontal bağlantı	UTI, GI, kateterle ilişkili enfeksiyonlar
<i>Bacilli</i>	Çubuk ve spor oluşturan	Toprak, hava, su, hayvanlar/aerosol, bağlantı	Şarbon hastalığı, gıda zehirlenmesi, kateterle ilişkili enfeksiyonlar

Tablo 3.2. Gram negatif bakterilerin sınıflandırılması

Gram Negatif Bakteriler			
İsim	Morfoloji	Aktarım bölgesi	Enfeksiyon türü
<i>Enterobacteriaceae (E. coli, Klebsiella, Salmonella, Shigella)</i>	Çubuk	GI bölgesi, hayvanlar / endojen, fekal-oral	Diyare, boşaltım bölgesi, gıda zehirlenmesi, sepsis
<i>Pseudomonas</i>	Çubuk	Su, toprak/endojen, cilt bariyeri çatlağı	İmmünitesi zayıflamış konakçıdaki enfeksiyonlar, Kistik fibrozis

3.2. Yöntem

3.2.1. Mikroorganizmaların Temini ve Hazırlanması

Bu araştırmada kullanılan mikroorganizmalar (bakteri suşları ve mantar suşu) Kastamonu Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü araştırma laboratuvarından temin edilmiştir.

3.2.2. Bitki Taksonlarının Temini ve Uçucu Yağın Elde Edilmesi

Bu araştırma için uçucu yağları çalışılan bitkilerin türleri, kullanılan bölümleri toplandığı alanların lokalizasyonları, toplanılma tarihleri ve kullanılan bölümleri Tablo 3.3.'de gösterilmiştir. Toplanan bitkilerin herbaryum örnekleri hazırlanmış ve teşhisleri Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dr. Öğretim Üyesi Kerim Güney tarafından gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.3. Bitki türleri, lokaliteleri, kullanılan kısımları ve toplanma tarihi

Bitki ismi	Toplanan İl	GPS	Kullanılan kısım	Toplama tarihi
<i>Laurus nobilis</i> (Defne)	Kastamonu	36 T 561615.67 4647203.15	Yaprak	01\08\2017
<i>Cistus laurifolius</i> (Defne yapraklı laden)	Kastamonu	36 T 564133.50 4585235.00	Yaprak	03\08\2017

Tablo 3.3’de adı geçen bitki türleri belirtilen tarihlerde toplanmış ve kullanılacak kısımları ayıklanmış, güneş görmeyen bir yere serilip 1 hafta boyunca kurumaya bırakılmıştır. 1 hafta sonrasında ise su buharı distilasyonu yöntemiyle uçucu yağları çıkarılmıştır. Çıkarılan yağlar buzdolabında +4 °C’de muhafaza edilmiştir. 6-7 gün sonrasında mikrobiyal testlerinin çalışmaları yapılmıştır.



Fotoğraf 3.1. Örneklerin toplanması (Laden)



Fotoğraf 3.2. Araziden toplanmış örnekler



Fotoğraf 3.3. Örneklerin ayıklanması



Fotoğraf 3.4. Ayıklanmış bitki örnekleri

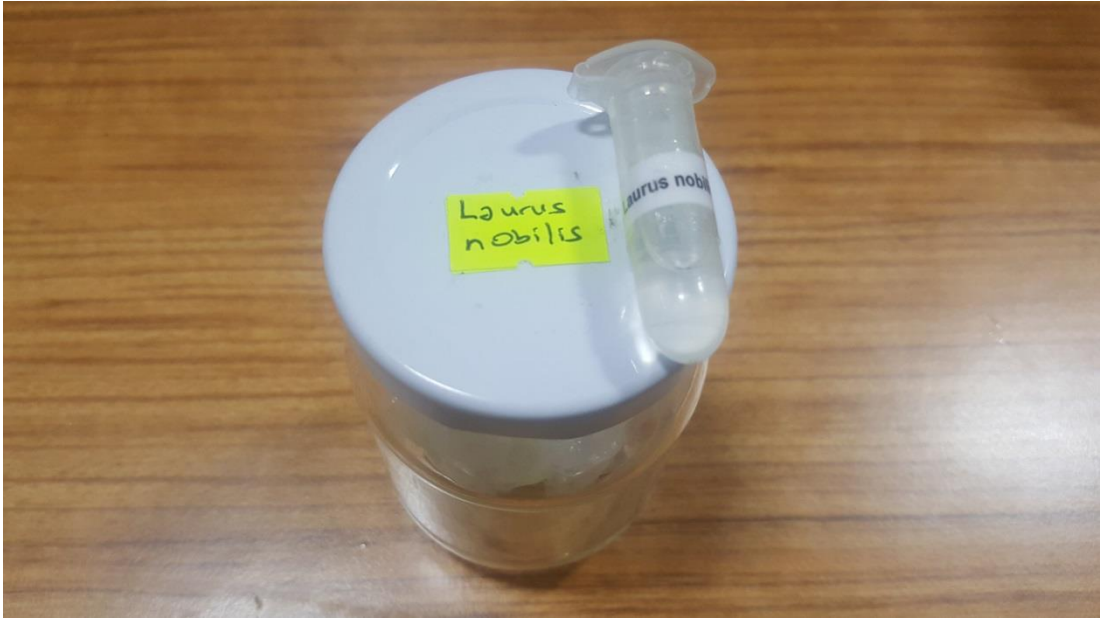


Fotoğraf 3.5. Defne (*Laurus nobilis*)



Fotoğraf 3.6. Clevenger uçucu yağ cihazı

Laurus nobilis ve *Cistus laurifolius* bitkilerinden Clevenger Cihazı ile su buharı distilasyonu yöntemiyle uçucu yağ elde edilirken tespit edilmiş görüntü Fotoğraf 3.6.'da verilmiştir. Defne uçucu yağ verimliliği açısından % 2 civarındadır (Fotoğraf 3.7.).



Fotoğraf 3.7. Ependorf tüplerinde *Laurus nobilis* (Defne uçucu yağı)

Defne yapraklı laden uçucu yağ verimliliği açısından % 0.2 'dir (Fotoğraf 3.8).



Fotoğraf 3.8. Eppendorf tüplerinde *Cistus laurifolius* (Defne yapraklı laden) uçucu yağı

3.2.3. GC-MS Analizi

GC-MS analizi, GC (Gaz Kromatografi) ve MS (Kütle Spektrometresi) ünitelerinin birlikte çalıştırılmasıyla kimyasal kompozisyonun tespiti ve miktar tayininde kullanılan bir yöntemdir. Bu çalışmada clevenger cihazı ile bitkilerden elde edilen uçucu yağlara ait numuneler ayrı ayrı Rtx-5MS kapiler kolon ile donatılmış GCMS QP 2010 Ultra (Shimadzu) ile analizleri yapılmıştır (30m·0.25 mm; kaplama kalınlığı 0.25 μm). Analitik koşullar: enjektör sıcaklığı 250 °C, 1 ml/dk olarak taşıyıcı gaz Helyum, enjeksiyon modu: split oranı 1:10; enjekte edilen hacim: heksan içinde çözülmüş yağ 1 μl ; ve fırın sıcaklığı 4°C/dk olarak 40 °C'den 240°C'ye göre programlanmıştır, basınç: 100 kPa, tahliye akımı:3 ml/dk şeklindedir. Kullanılan MS tarama koşulları, transfer hattı sıcaklığı 250 °C, ara birim sıcaklığı 250°C, iyon kaynağı sıcaklığı 200°C olarak belirlenmiştir. Bileşiklerin belirlenmesi; Wiley Veri tabanı eşleştirmesi ve alıkoyulma süresinin karşılaştırılmasına dayandırılmaktadır. Mümkün olduğunda, referans bileşenleri GC alıkoyulma sürelerini onaylamak için gaz kromatografisi alınmıştır.

3.2.4. Antimikrobiyal Etkinlik

Mikroorganizmaların hazırlanması

Antimikrobiyal duyarlılık testlerin uygulamasında hazırlanan bakteri süspansiyonlarında bakterinin belirli sayıda olması beklenir. Bakterilerin numune tüplerinde hazırlanan % 0,9'luk serum fizyolojikteki sayıları ile paralel oluşturduğu bulanıklığın McFarland baryum sülfat bulanıklık standartları ile karşılaştırılıp eşitlenmesiyle, yapılan çalışmanın standart ve tekrarlanabilir değerlendirmenin yapılması amaçlanmaktadır.

Çalışmada kullanılacak bakteri suşlarından inokulum hazırlık aşamalarında, katı Nutrient Agar besiyerinde 24 saat geliştirilmiş bakteri ve mantar kültürlerinden aynı görünümlü saf koloniler steril öze ile alınarak steril numune tüpünde bulunan yine steril serum fizyolojik içine aktarılmıştır. Hazırlanan bakteri ve mantar örneklerin bulanıklığı 0.5 McFarland standartlarına göre ayarlanması yapılmıştır. Böylece fungal süspansiyonlar yaklaşık 1.0×10^7 kob/ml, bakteri süspansiyonları ise yaklaşık 1.0×10^8 kob/ml mikroorganizma bulunacak şekilde karşılaştırmaları yapılarak standartları elde edilmiştir. Daha sonra, tüplerin üzerine mantar ve bakteri isimleri yazılmış ve hazırlanan konsantrasyonlar kullanılmadan öncesinde vorteks ile karıştırılmıştır.

Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK)

MİK testi Minimum inhibisyon konsantrasyonu kelimelerinin kısaltılmasıdır ve herhangi bir antimikrobiyal ajanın etken konsantrasyonunu belirtmek için kullanılan bir yöntemdir, en düşük önleyici konsantrasyon anlamına gelir. MİK testinin esas amacı etken maddelerin seri dilüsyonlarının yapılmasıyla bir konsantrasyon serisi oluşturmak ve bu seri içinde hangi aralıklarla mikrobiyal üremenin inhibe edildiğine bakılmasıyla antimikrobiyal ajanın etken konsantrasyonunu belirtmektir.

Öncelikle distilasyonla elde edilen uçucu yağlar steril şırıngalara çekilmiş ve 0.45 µm'lik şırınga filtre kullanılarak yağlar içerisindeki olası yabancı bakterilerden arındırılması amaçlanmıştır ve yağların sterilizasyonu sağlanmıştır. MİK testinde 96 kuyucuklu steril plakalar kullanılmasıyla mikrodilüsyon ile antimikrobiyal ajanların etken konsantrasyon belirlenmesi için çalışılmıştır. Hazırlanmış steril Nutrient Broth

(NB) sıvı besi yerinden 100'er µg olacak şekilde bütün kuyuculara mikropipet yardımıyla yerleştirildikten sonra ilk kuyucuğa ilgili bitkilerden elde edilmiş uçucu yağlardan 100 µg transfer edilmiş ve her defasında yarı yarıya seyreltme yapılarak bir uçucu yağın 10 adet seri dilüsyonu elde edilmiştir. Daha sonra ise 10 kuyucuğa eşit miktarda 50 µg inokulumdan inoküle edilmiştir. Her seri dilüsyon 11. kuyucuğa bir adet pozitif kontrol (NB + inokulum içeren kuyucuk) ve bir adette negatif kontrol (sadece NB besi yeri içeren kuyucuk) 12. kuyucuğa bırakılmıştır. Her örnek üç paralel olarak aynı şekilde çalışılmıştır. Çalışılan plaklardaki bakteri örnekleri etüvde 37°C de 24 saat, fungal örnek (*Candida albicans*) ise etüvde 27°C de 48 saat inkübe edildikten sonra gözle bakıldığında üremelerinin olduğu en düşük konsantrasyon MİK değeri olarak belirtilmiştir.

1. Kuyucuk için; 100 µg uçucu yağ + 50 ml patojen bakteri veya patojen fungus
2. Kuyucuk için; 50 µg uçucu yağ + 50 ml patojen bakteri veya patojen fungus
3. Kuyucuk için; 25 µg uçucu yağ + 50 ml patojen bakteri veya patojen fungus
4. Kuyucuk için; 12,5 µg uçucu yağ + 50 ml patojen bakteri veya patojen fungus
5. Kuyucuk için; 6,25 µg uçucu yağ + 50 ml patojen bakteri veya patojen fungus
6. Kuyucuk için; 3,125 µg uçucu yağ + 50 ml patojen bakteri veya patojen fungus
7. Kuyucuk için; 1,562 µg uçucu yağ + 50 ml patojen bakteri veya patojen fungus
8. Kuyucuk için; 0,781 µg uçucu yağ + 50 ml patojen bakteri veya patojen fungus
9. Kuyucuk için; 0,39 µg uçucu yağ + 50 ml patojen bakteri veya patojen fungus
10. Kuyucuk için; 0,195 µg uçucu yağ + 50 ml patojen bakteri veya patojen fungus
11. Kuyucuk için; 100 µg besiyeri + 50 ml patojen bakteri veya patojen fungus (Pozitif kontrol)
12. Kuyucuk için; 100 µg besiyeri (Negatif kontrol) kullanılmıştır.

Minimum Bakterisidal/Fungisidal Konsantrasyon (MBK, MFK)

MİK testinde üremenin gözlenmediği kuyucuklardan steril öze ile alınan fungal örnek ve bakteri örnekleri Nutrient Agar katı besiyerine çizgi ekimi yöntemiyle ekilmiştir. Ekilen bakteriyel örnekler 37°C'de 24 saat, fungal örnek 27°C'de 48 saat inkübe edildikten sonra üremenin gözlenmediği en düşük konsantrasyon fungal için ise MFK değeri, bakteriler için MBK değeri olarak belirtilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. GC-MS Bulguları

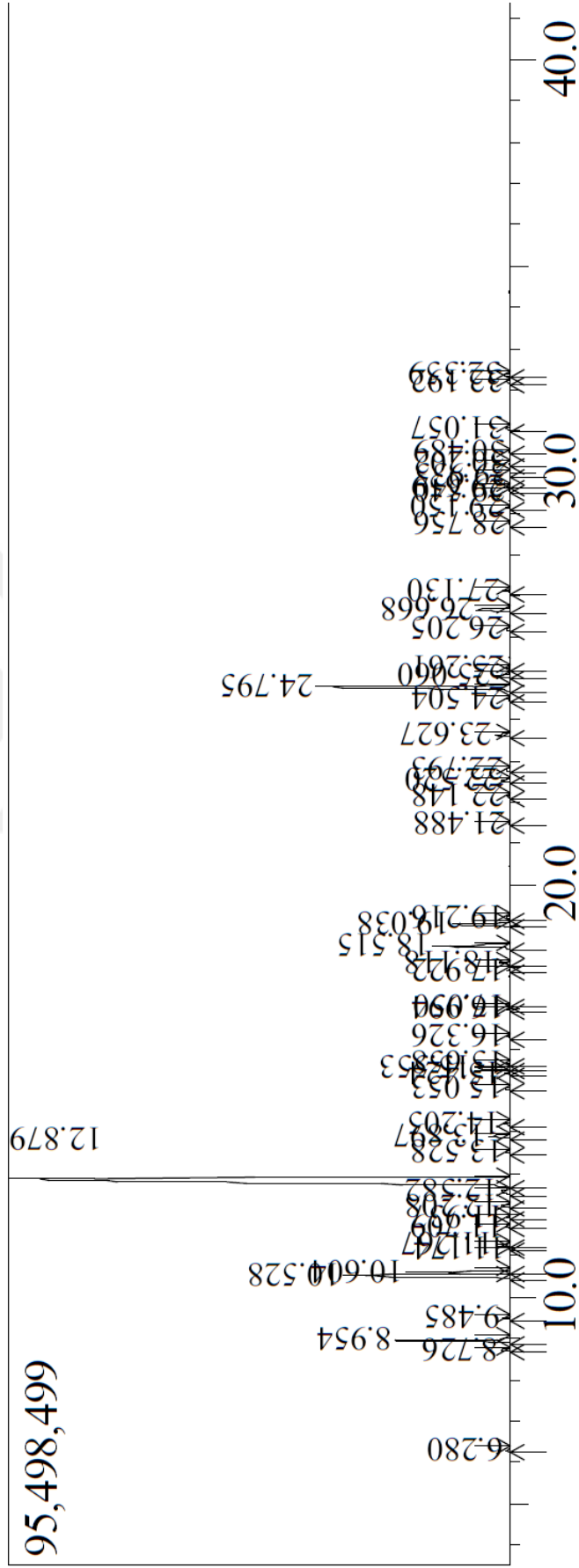
Defne ve defne yapraklı ladenin (*Laurus nobilis* ve *Cistus laurifolius*) uçucu yağlarının GC-MS analizleri ile sonuçlar elde edilmiş ve Tablo 3.7-3.11'de gösterilmiştir. Tabloda varlığı % 2'den fazla olan bileşikler ana bileşikler olarak seçilmiştir.

4.1.1. Defneye ait GC-MS Bulguları

Defne'nin GC-MS analizinde toplamda 50 farklı bileşen tespit edilmiş olup % 1'nin üstünde çıkan kimyasal madde sayısı 9'dur. Bunlar; % 52,08 Eucalyptol, % 10,20 α -Terpinenyl acetate, % 8,54 Sabinene, % 4,70 α -Pinene, % 3,92 β -Pinene, % 3,46 Terpinen-4-ol, % 2,62 α -Terpineol, % 1,56 Benzene, 1,2-dimethoxy-4-(2-propenyl)-, % 1,44 Linalool'dür.

4.1.2. Defne yapraklı ladene ait GC-MS Bulguları

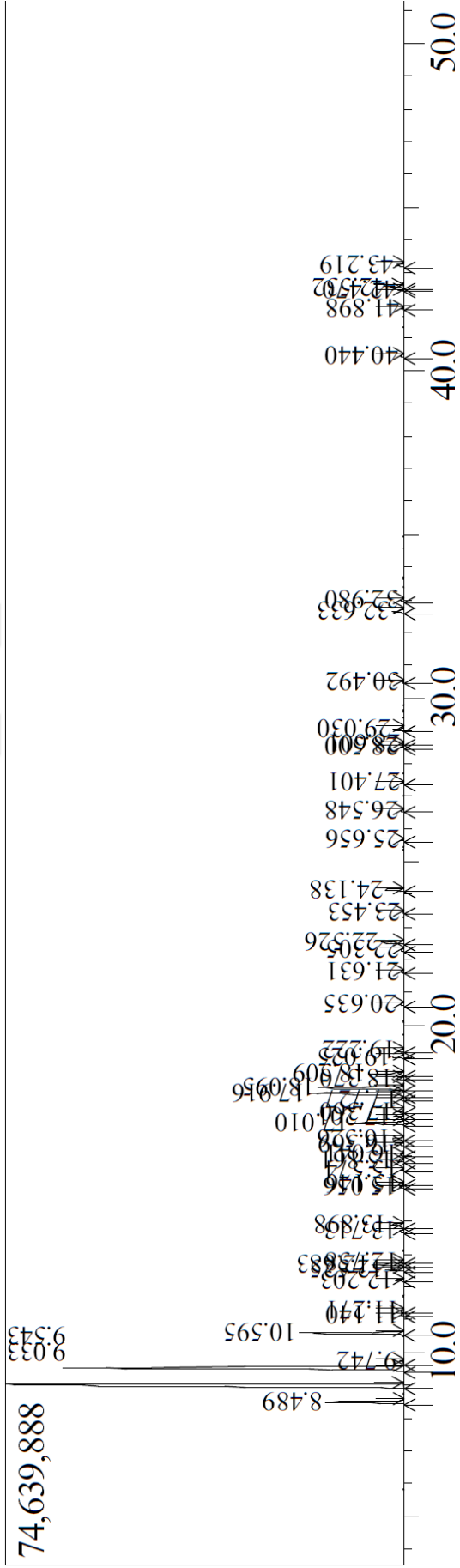
Defne yapraklı laden'in GC-MS analizine göre toplamda 50 farklı bileşen tespit edilmiş olup % 1'nin üstünde çıkan kimyasal madde sayısı 12'dir. Bunlar; % 35,85 cis-Ocimene, % 22,36 Camphene, % 5,59 Bicyclo[2.2.1]heptane, 2-chloro-1,7,7-trimethyl-, (1R-endo)-, % 5,08 β -Pinene, % 4,87 endo-Borneol, % 3,85 Tricyclene, % 2,99 trans-Pinocarveol, % 1,87 Terpinen-4-ol, % 1,59 D-Limonene, % 1,24 Bornyl acetate, % 1,18 Geranyl-p-cymene, % 1,021,5,5-Trimethyl-6-methylene-cyclohexene'dir.



Grafik 4.1. Defne uçucu yağına ait GC-MS kromatogramı

Tablo 4.1. *Defneye ait GC-MS analizi*

No	% Bileşen	Kimyasal Bileşen
1.	52,08	Eucalyptol
2.	10,20	α -Terpinenyl acetate
3.	8,54	Sabinene
4.	4,70	α -Pinene
5.	3,92	β -Pinene
6.	3,46	Terpinen-4-ol
7.	2,62	α -Terpineol
8.	1,56	Benzene, 1,2-dimethoxy-4-(2-propenyl)-
9.	1,44	Linalool
10.	0,91	γ -Terpinene
11.	0,90	Eugenol
12.	0,78	p-Cymene
13.	0,71	α -Terpinenyl acetate
14.	0,61	Myrcene
15.	0,48	α -Terpineol
16.	0,46	α -Terpinene
17.	0,42	Bornyl acetate
18.	0,39	Caryophyllene
19.	0,35	α -Thujene
20.	0,32	Camphene
21.	0,32	trans-Sabinene hydrate
22.	0,31	Caryophyllene oxide
23.	0,28	trans-Sabinene hydrate
24.	0,26	Germacrene-D
25.	0,26	cis- α -Bisabolene
26.	0,22	3-Hexen-1-ol
27.	0,22	β -Ocimene
28.	0,22	Nonyl methyl ketone
29.	0,22	Spathulenol
30.	0,21	trans-2-Cyclohexen-1-ol, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-
31.	0,20	α -Phellandrene
32.	0,20	α -Terpinolene
33.	0,19	β -Elemene
34.	0,17	trans-Pinocarveol
35.	0,17	4-Thujen-2- α -yl acetate
36.	0,15	Myrtenal
37.	0,15	2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate
38.	0,14	2,6-Dimethyl-3,5,7-octatriene-2-ol
39.	0,13	δ -3-Carene
40.	0,13	2-Oxabicyclo[2.2.2]octan-6-ol, 1,3,3-trimethyl-, acetate
41.	0,12	bicyclgermacrene
42.	0,11	Pinocarpone
43.	0,11	α -trans-Bergamotene
44.	0,10	2,3-Dehydro-1,8-cineole
45.	0,10	1,5-Dodecadiene
46.	0,09	p-menth-2-en-1-ol
47.	0,09	Nonyl methyl ketone
48.	0,09	germacrene A
49.	0,09	δ -Cadinene
50.	0,08	γ -Cadinene
	100,00	



Grafik 4.2. Defne yapraklı laden uçucu yağına ait GC-MS kromatogramı

Tablo 4.2. Defne yapraklı ladene ait GC-MS analizi

No	% Bileşen	Kimyasal Bileşen
1.	35,85	cis-Ocimene
2.	22,36	Camphene
3.	5,59	Bicyclo[2.2.1]heptane, 2-chloro-1,7,7-trimethyl-, (1R-endo)-
4.	5,08	β -Pinene
5.	4,87	endo-Borneol
6.	3,85	Tricyclene
7.	2,99	trans-Pinocarveol
8.	1,87	Terpinen-4-ol
9.	1,59	D-Limonene
10.	1,24	Bornyl acetate
11.	1,18	Geranyl-p-cymene
12.	1,02	1,5,5-Trimethyl-6-methylene-cyclohexene
13.	0,93	p-Cymene
14.	0,75	γ -Terpinene
15.	0,73	Viridiflorol
16.	0,64	α -Campholene Aldehyde
17.	0,59	9,12,15-Octadecatrien-1-ol, (Z,Z,Z)-
18.	0,58	Bornyl bromide
19.	0,57	(+)-2-Bornanone
20.	0,55	α -Terpineol
21.	0,51	Camphene hydrate
22.	0,50	Geranyl- α -terpinene
23.	0,45	α -Terpinene
24.	0,44	(1R)-(-)-Myrtenal
25.	0,41	Bicyclo[3.1.1]heptan-3-one, 2,6,6-trimethyl-
26.	0,38	1-Sec-butyl-4-methylbenzene
27.	0,36	2-Octene, 2-methyl-6-methylene-
28.	0,32	Geranyl- α -terpinene
29.	0,28	Bicyclo[3.3.1]nonan-9-ol
30.	0,25	α -Terpinolene
31.	0,24	Geranyl- α -terpinene
32.	0,23	Verbenene
33.	0,22	Benzenebutanal, γ , 4-dimethyl-
34.	0,20	Isoborneol
35.	0,20	Terpinen-4-ol
36.	0,20	Alloaromadendrene
37.	0,19	Eucalyptol
38.	0,19	Ledol
39.	0,17	Methyl Heptenone
40.	0,17	α -Terpinene
41.	0,16	β -Myrcene
42.	0,16	Fenchyl alcohol
43.	0,15	Cyclohexanone, 2-(4,4,4-trichlorobutyl)-
44.	0,13	α -Copaene
45.	0,13	Geranyl- α -terpinene
46.	0,12	Fencholenic aldehyde
47.	0,12	δ -Cadinene
48.	0,10	Cyclopropane, 2-(1,1-dimethyl-2-pentenyl)-1,1-dimethyl-
49.	0,10	α -Ionone
50.	0,10	Lime Oil
	100,00	

4.2. Uçucu Yağların Antimikrobiyal Etkinliği

Bu bölümünde 2 farklı bitki taksonundan su buharı distilasyonu ile elde edilen uçucu yağlarının on dokuz mikroorganizmaya (Gram-pozitif, Gram-negatif bakteriler ve *Candida albicans* suşu) karşı farklı konsantrasyonlarda hazırlanıp uygulanmasıyla, Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları (MİK) ve MBK (Minimum Bakterisidal Konsantrasyon), MFK (Minimum Fungisidal Konsantrasyon) değerleri Tablo 4.3, 4.4.'de verilmiştir.

4.2.1. Bitki Örneklerine Ait Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) Değerleri

Tablo 4.3 Bitki taksonlarına ait MİK değerleri µg/ml

Mikroorganizma	Bitki Türleri	
	<i>Laurus nobilis</i>	<i>Cistus laurifolius</i>
<i>B. subtilis</i>	1,562	25
<i>C. albicans</i>	0,195	0,195
<i>E. aerogenes</i>	1,562	50
<i>E. coli</i>	6,25	50
<i>E. durans</i>	0,781	0,195
<i>E. faecalis</i>	12,5	6,25
<i>E. faecium</i>	3,125	25
<i>K. pneumoniae</i>	0,39	25
<i>L. innocula</i>	12,5	25
<i>L. monocytogenes</i>	100	50
<i>P. aeruginosa</i>	0,195	0,781
<i>P. fluorescens</i>	1,562	12,5
<i>S. aureus</i>	0,195	0,195
<i>S. enteritidis</i>	0,39	3,125
<i>S. epidermidis</i>	0,195	6,25
<i>S. infantis</i>	3,125	50
<i>S. kentucky</i>	6,25	100
<i>S. typhimurium</i>	0,781	12,5
<i>S. marcescens</i>	0,195	25

Laurus nobilis taksonunun MİK değeri *Cistus laurifolius* taksonuna göre mikroorganizmalar üzerinde daha etkili değerler ortaya koymuştur.

4.2.2. Bitki Örneklerine Ait Minimum Bakterisidal/Fungusidal Konsantrasyon (MBK, MFK) Değerleri

Tablo 4.4. Bitki taksonlarına ait MBK, MFK değerleri µg/ml.

Mikroorganizma	<i>Laurus nobilis</i>	<i>Cistus laurifolius</i>
<i>B. subtilis</i>	1,562	100
<i>C. albicans</i>	3,125	3,125
<i>E. aerogenes</i>	1,562	50
<i>E. coli</i>	12,5	50
<i>E. durans</i>	3,125	0,195
<i>E. faecalis</i>	100	3,125
<i>E. faecium</i>	3,125	25
<i>K. pneumoniae</i>	0,781	25
<i>L. innocula</i>	25	25
<i>L. monocytogenes</i>	100	50
<i>P. aeruginosa</i>	100	3,125
<i>P. fluorescens</i>	12,5	12,5
<i>S. aureus</i>	0,195	0,195
<i>S. enteritidis</i>	0,39	3,125
<i>S. epidermidis</i>	6,25	3,125
<i>S. infantis</i>	3,125	50
<i>S. kentucky</i>	100	100
<i>S. typhimurium</i>	1,562	12,5
<i>S. marcescens</i>	0,39	25

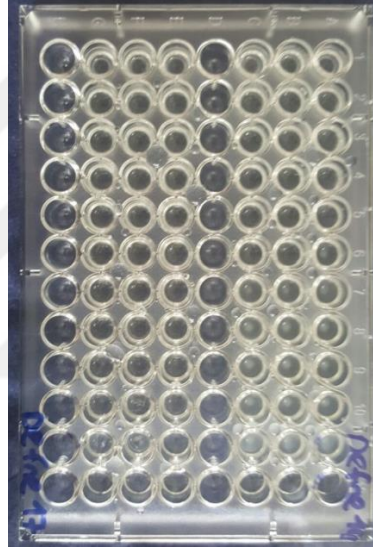
Laurus nobilis taksonunun mikroorganizmalar üzerinde MBK etkinliği *Cistus laurifolius* taksonuna göre düşük çıkmıştır.

4.2.3. Defneye ait MİK Değerleri

Laurus nobilis (Defne) uçucu yağının MİK değerlerine bakıldığında, *S. typhimurium*-0,781 µg/ml, *E. aerogenes*-1,562 µg/ml, *S. infantis*-3,125 µg/ml, *K. pneumoniae*-0,39 µg/ml, *B. subtilis* -1,562 µg/ml, *E. coli*-6,25 µg/ml, *E. durans*-0,781 µg/ml, *S. enteritidis*-0,39 µg/ml, *E. faecium*-3,125 µg/ml, *S. kentucky*-6,25 µg/ml, *L. innocula*-12,5 µg/ml, *P. fluorescens*-1,562 µg/ml, *S. epidermidis*-0,195 µg/ml, *L. monocytogenes*-100 µg/ml, *P. aeruginosa*-0,195 µg/ml, *S. aureus*-0,195 µg/ml, *C. albicans*-0,195 µg/ml, *E. faecalis*-12,5 µg/ml ve *S. marcescens*-0,195 µg/ml etkisi gözlemlenmiştir.

4.2.4. Defneye ait MBK, MFK Değerleri

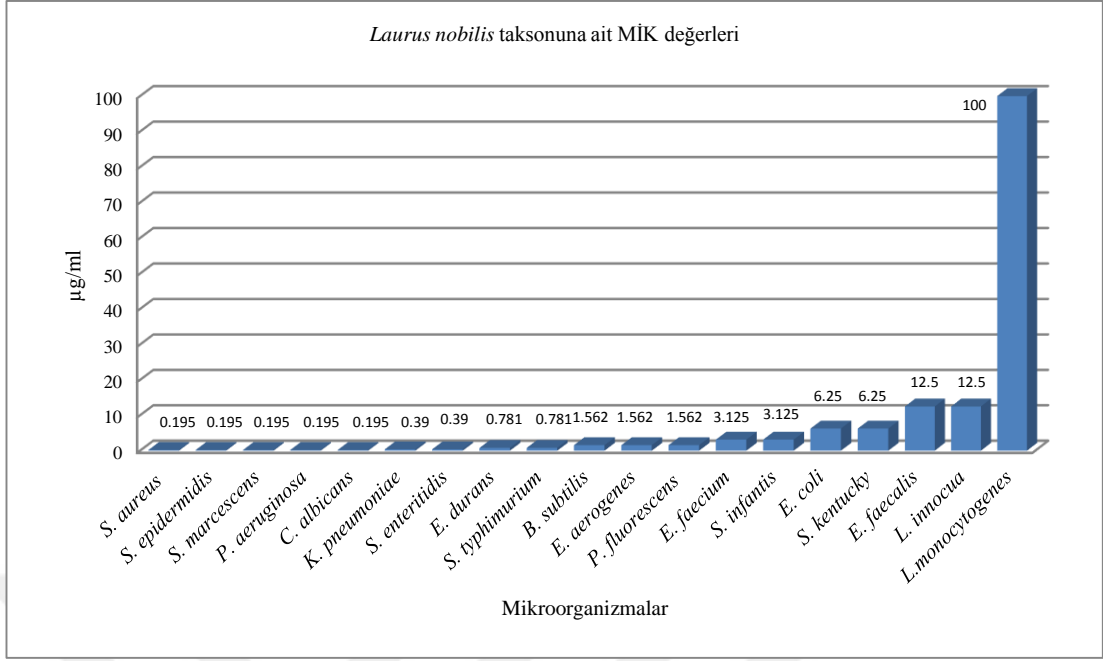
Laurus nobilis (Defne) uçucu yağının bakterileri ve fungusu öldüren en düşük konsantrasyon değerleri (MBK, MFK) *S. typhimurium*-1,562 µg/ml, *E. aerogenes*-1,562 µg/ml, *S. infantis*-3,125 µg/ml, *K. pneumoniae*-0,781 µg/ml, *B. subtilis*-1,562 µg/ml, *E. coli*-12,5 µg/ml, *E. durans*-3,125 µg/ml, *S. enteritidis*-0,39 µg/ml, *E. faecium*-3,125 µg/ml, *S. kentucky*-100 µg/ml, *L. innocula*-25 µg/ml, *P. fluorescens*-12,5 µg/ml, *S. epidermidis*-6,25 µg/ml, *L. monocytogenes*-100 µg/ml, *P. aeruginosa*-100 µg/ml, *S. aureus*-0,195 µg/ml, *C. albicans*-3,125 µg/ml, *E. faecalis*-100 µg/ml, *S. marcescens*-0,39 µg/ml üzerine öldürücü etkisi gözlemlenmiştir.



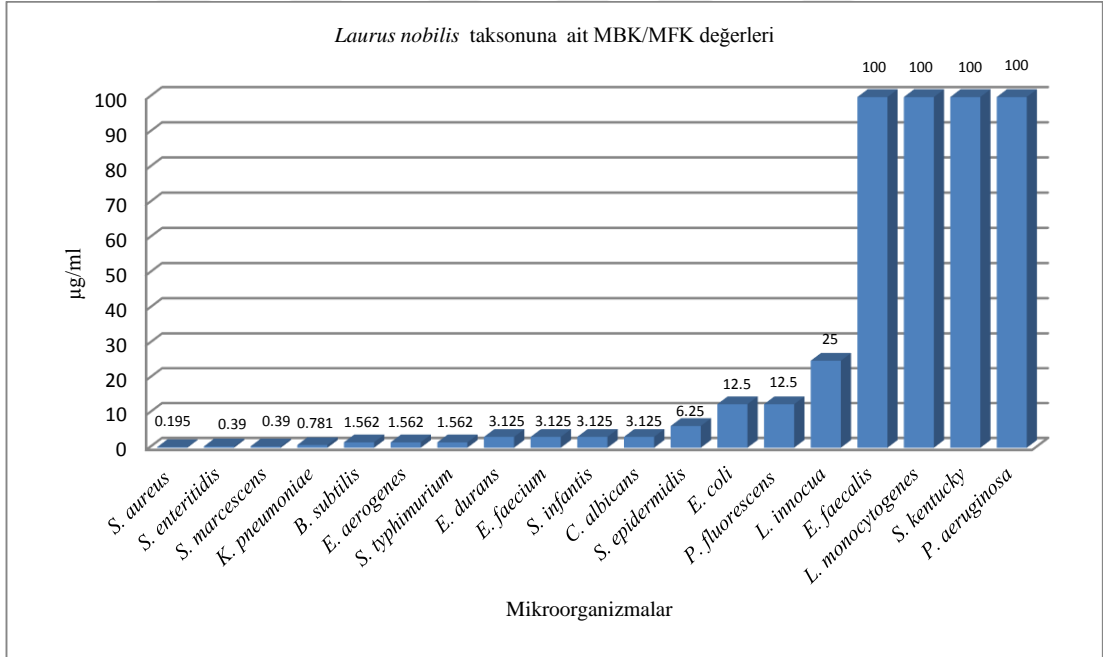
Fotoğraf 4.1. Defne MİK sonucu



Fotoğraf 4.2. Defne MBK, MFK sonucu



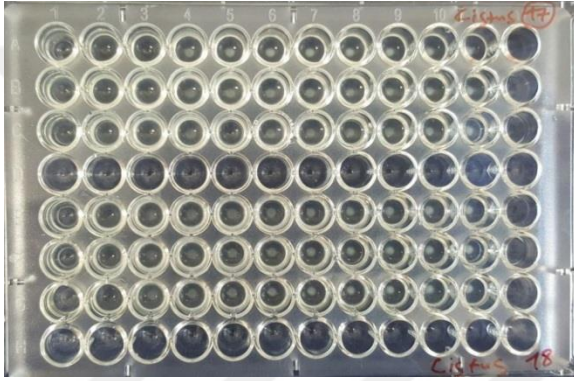
Grafik 4.3. Defneye ait MİK değerleri



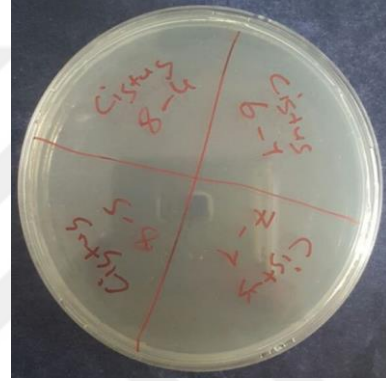
Grafik 4.4. Defneye ait MBK, MFK değerleri

4.2.5. Defne yapraklı ladene ait MİK Değerleri

Cistus laurifolius (Defne yapraklı laden) uçucu yağının MİK'na bakıldığında, *S. typhimurium*-12,5 µg/ml, *E. aerogenes*-50 µg/ml, *S. infantis*-50 µg/ml, *K. pneumoniae*-25 µg/ml, *B. subtilis* -25 µg/ml, *E. coli*-50 µg/ml, *E. durans*-0,195 µg/ml, *S. enteritidis* -3,125 µg/ml, *E. faecium*-25 µg/ml, *S. kentucky*-100 µg/ml, *L. innocula*-25 µg/ml, *P. fluorescens*-12,5 µg/ml, *S. epidermidis*-6,25 µg/ml, *L. monocytogenes*-50 µg/ml, *P. aeruginosa*-0,781 µg/ml, *S. aureus*-0,195 µg/ml, *C. albicans*-0,195 µg/ml, *E. faecalis*-6,25 µg/ml ve *S. marcescens*-25 µg/ml etkisi gözlemlenmiştir.



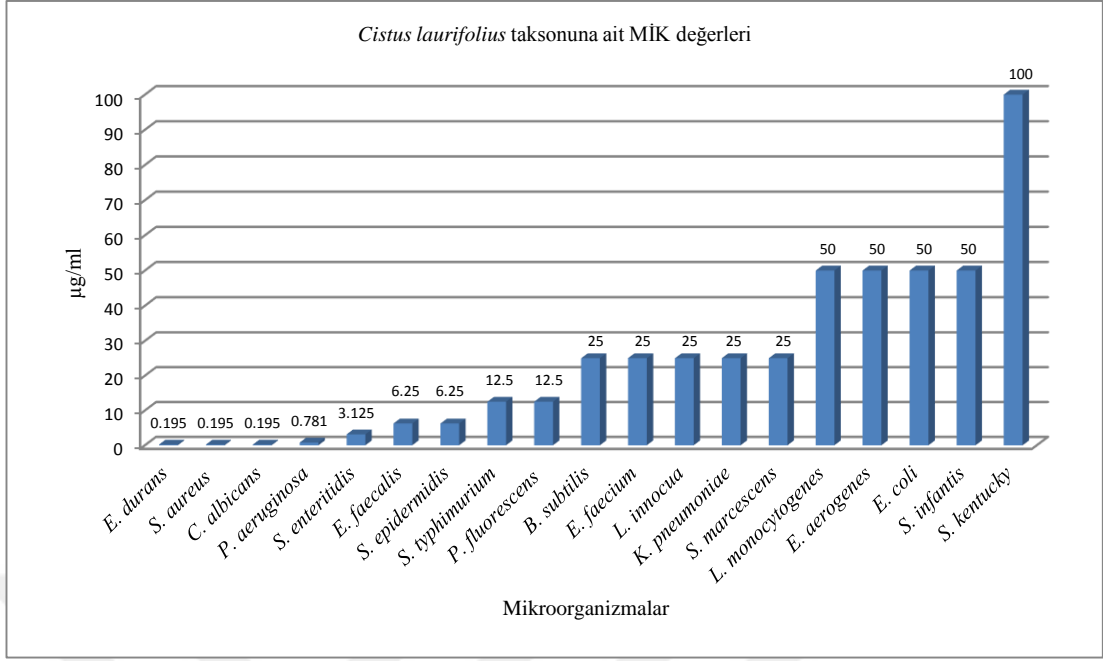
Fotoğraf 4.3. Defne yapraklı laden MİK sonucu



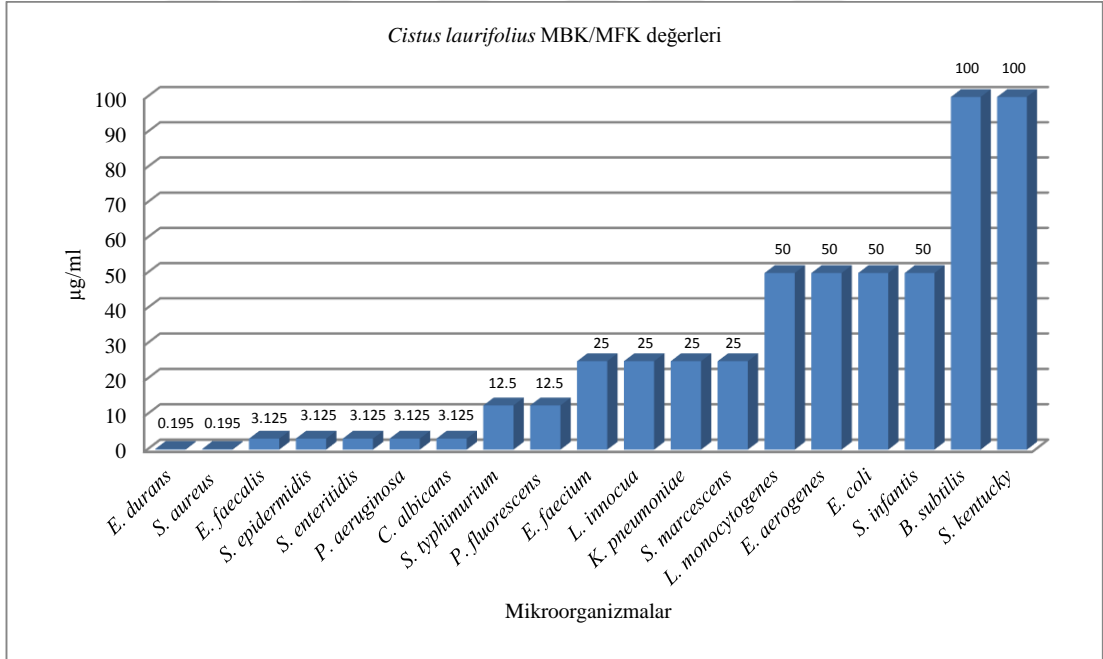
Fotoğraf 4.4. Defne yapraklı laden MBK, MFK sonucu

4.2.6. Defne yapraklı ladene ait MBK, MFK Değerleri

Cistus laurifolius (Defne yapraklı laden) uçucu yağının bakterileri ve fungusu öldüren en düşük konsantrasyon değerleri (MBK, MFK) *S. typhimurium*-12,5 µg/ml, *E. aerogenes*-50 µg/ml, *S. infantis*-50 µg/ml, *K. pneumoniae*-25 µg/ml, *B. subtilis*-100 µg/ml, *E. coli*-50 µg/ml, *E. durans*-0,195 µg/ml, *S. enteritidis*-3,125 µg/ml, *E. faecium*-25 µg/ml, *S. kentucky*-100 µg/ml, *L. innocula*-25 µg/ml, *P. fluorescens*-12,5 µg/ml, *S. epidermidis*-3,125 µg/ml, *L. monocytogenes*-50 µg/ml, *P. aeruginosa*-3,125 µg/ml, *S. aureus*-0,195 µg/ml, *C. albicans*-3,125 µg/ml, *E. faecalis*-3,125 µg/ml ve *S. marcescens*-25 µg/ml üzerine öldürücü etkisi gözlemlenmiştir.



Grafik 4.5. Defne yapraklı ladene ait MİK değerleri



Grafik 4.6. Defne yapraklı ladene ait MBK, MFK değerleri

5. TARTIŞMA

5.1. GC-MS Değerleri Hakkında

Bu araştırmada çalışılan bitki taksonlarından elde edilen uçucu yağın GC-MS analiz sonuçlarına göre ilk 6 bileşeni tablo 5.1’de gösterilmektedir. Defne’de ve defne yapraklı laden’de ilk yüzdeler dilim olarak yüksek ilk 6 bileşende β -Pinene ortaktır. Defne’de sırasıyla % 52.08 Eucalyptol, (1,8 Cineole) , % 10.20 α -Terpinenyl acetate, % 8.54 Sabinene, % 4.70 α -Pinene, % 3.92 β -Pinene, % 3.46 Terpinen-4-ol bulunurken, defne yapraklı laden’de, % 35.85 cis-Ocimene, % 22.36 Camphene, % 5.59 Bicyclo [2.2.1] heptane, 2-chloro-1,7,7-trimethyl-, (1R-endo)-, % 5.08 β -Pinene, % 4.87 endo-Borneol, % 3.85 Tricyclene tespit edilmiştir. Uçucu yağ içeren aynı bitkilerin farklı coğrafi bölgelerde yayılış gösteren popülasyonlarında uçucu yağların çeşitleri, oranları ve kimyasal bileşenleri belirgin bir şekilde değişmektedir. Burda etkin faktör bitkinin yetiştiği ortamdaki ekolojik koşullar ve mevsimsel iklim değişimleri olduğu düşünülmektedir . Ayrıca kimi zaman analiz sonuçları içinde kimi bileşenlerin bulunmayışı ya da yerine farklı bileşenlerin bulunuşu GC-MS veri bankasından kaynaklanan farklılıklar olabileceği tahmin edilmektedir.

Tablo 5.1. Dominant kimyasal bileşenler açısından farklılık benzerlikler

Takson Adı	Kimyasal Bileşen					
	1	2	3	4	5	6
<i>Laurus nobilis</i>	% 52.08 Eucalyptol, (1,8 Cineole)	% 10.20 α -Terpinenyl acetate	% 8.54 Sabinene	% 4.70 α -Pinene	% 3.92 β -Pinene	% 3.46 Terpinen-4-ol
<i>Cistus laurifolius</i>	% 35.85 cis-Ocimene	% 22.36 Camphene	% 5.59 Bicyclo [2.2.1] heptane, 2-chloro-1,7,7-trimethyl-, (1R-endo)-	% 5.08 β -Pinene	% 4.87 endo-Borneol	% 3.85 Tricyclene

Tablo 5.2. Farklı coğrafik bölgeler ve farklı bitki kısımları ile defne yaprağı uçucu yağının kimyasal bileşimindeki değişim. Chahal ve Kaur (2017)'den alınmıştır.

Components	Kerman province (Maghader and Salari 2012)		Isfahan, Iran (Shokochinia et al. 2014)	India (Choudhary et al. 2013)	Nepal (Choudhary et al. 2013)	Morocco (Derwich et al. 2009)	Lebanon (Said and Hussein 2014)		Antakya, Turkey (Sangun et al. 2007)		Yayladagi, Turkey (Sangun et al. 2007)		Samandagi, Turkey (Sangun et al. 2007)		South Caucasus (Vardapetyan et al. 2018)	
	Leaf	Flower					Leaf	Leaf	Leaf	Leaf	Fruit	Leaf	Fruit	Leaf	Fruit	Leaf
	Concentration (%)															
1,8 Cineole	25,7	18,69	-	0,29	13,83	52,43	60,50	32,47	46,61	18,08	47,63	20,45	59,94	17,37	66,0	0,14
Germacrene-D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17,01
Caryophyllene	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,48
Sylvestrene	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,17
δ-3-Carene	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,09
α-Terpinyl acetate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,03
trans-β-Ocimene	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,08
Z-Ocimene	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,98
α-Fenchol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,07
Linalylacetate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,20
Bornylacetate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,27
β-Bourbonene	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,27
Methyleugenol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,14
α-Amorphene	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,26
2-phenylethyl 2-methylbutanoate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,18
Phenethyl isovalerate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,82
α-Bulnesene	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,07
α-Murolene	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,15
δ-Cadinene	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,65
CIS-α-Bisabolene	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,32
Caryophyllene oxide	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,07
ethyl-Laurate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,08
α-Cadinol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,10
Tricyclene	2,27	-	0,29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6,82	-	-
Limonene	3,47	2,47	-	-	2,83	5,25	2,00	1,68	-	-	-	-	-	-	-	-
γ-Terpinene	3,48	-	3,23	-	0,23	-	0,68	3,45	0,37	-	0,75	-	0,79	5,65	0,12	0,08
Sabinene	8,7	7,93	5,74	-	0,34	6,13	6,63	3,63	14,05	6,03	7,83	4,56	8,70	-	-	-
α-Pinene	5,25	7,38	5,17	1,39	5,23	3,72	3,72	12,45	3,66	16,55	2,19	11,31	2,61	-	6,92	15,93
Eugenol	1,69	2,33	2,47	-	0,22	0,56	-	-	-	-	0,65	-	-	-	-	-
Linalool	1,56	2,9	1,78	42,61	47,21	1,98	0,62	0,29	0,64	1,36	0,40	-	0,37	-	-	0,30
p-Cymene	0,31	0,31	-	1,09	3,40	0,94	1,57	0,87	-	-	-	-	-	-	-	-
α-Phellandrene	0,37	0,53	0,77	-	-	1,28	0,11	13,36	-	15,87	-	10,58	-	13,28	0,61	-
Camphene	3,86	2,46	5,23	0,40	4,44	0,05	0,16	1,67	0,19	2,08	-	0,80	-	0,81	0,28	0,33
β-Pinene	3,99	3,8	2,14	0,72	2,33	3,14	3,19	6,78	-	12,83	-	11,06	-	7,87	6,22	45,09
Camphor	-	-	4,20	-	24,07	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Terpinene-4-ol	1,21	-	-	-	-	2,56	3,29	0,79	1,82	-	2,20	-	2,05	-	-	0,13
α-Terpineol	3,79	1,79	2,06	0,50	1,48	1,56	3,26	1,41	6,83	-	1,43	-	1,94	-	-	1,52
α-Thujene	0,38	1,97	-	-	0,39	0,21	-	-	0,36	-	-	0,38	-	0,35	15,7	-
Myrcene	1,68	1,65	0,62	-	0,8	-	0,25	1,14	0,62	0,92	-	0,54	-	0,64	0,53	0,26
α-Terpinene	2,12	-	0,74	-	-	2,12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,03
Terpinolene	0,22	0,22	0,19	-	-	0,11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,48
Sabinol	2,45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Borneol	2,37	1,57	2,97	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,05
γ-Cadinene	2,68	0,68	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,17
β-Elementene	2,30	8,87	0,64	-	-	-	-	-	0,22	3,06	0,24	4,46	0,21	2,68	-	0,15
Germacrene-A	1,53	-	-	-	-	-	-	-	-	2,81	-	4,35	-	3,17	-	-
Germacrene D-4-ol	1,59	2,95	1,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α-Humulene	2,19	1,43	0,51	-	-	-	8,58	3,75	-	-	-	-	-	-	-	0,92

Dünyanın farklı noktalarında yayılış gösteren yada yetiştirilen defne bitkisinin kimyasal içeriği Tablo 5.2'de verilmiştir. Buna göre 1,8 Cineole oranı Güney Kafkaslarda % 66.01, Lübnan'da % 60.5, Samandağı'nda % 59.94 oranında olup bu çalışmada tespit edilen değer % 52.08'dir. Coğrafi olarak nisbeten yakın olan Nepal (% 47.21) ve Hindistan'da (% 42.61) diğer ülkelerde bulunmayan bir oranda Linalool görülmüştür. β -Pinene Antakya (% 12.83), Yayladağı (% 11.06), Samandağı (% 7.87) oranında iken, bu çalışmada İnebolu için % 3.92 nisbetinde bulunmuştur.

5.2. Antimikrobiyal Değerler Hakkında

Defne uçucu yağının MİK değerlerine bakıldığında mikroorganizmaların en yüksek duyarlılıktan daha düşük duyarlılık derecesine göre sıralandığında *S. aureus*'da 0,195 $\mu\text{g/ml}$, *S. epidermidis*'de 0,195 $\mu\text{g/ml}$, *S. marcescens*'de 0,195 $\mu\text{g/ml}$, *P. aeruginosa*'da 0,195 $\mu\text{g/ml}$, *C. albicans*'da 0,195 $\mu\text{g/ml}$, *K. pneumoniae*'de 0,39 $\mu\text{g/ml}$, *S. enteritidis*'de 0,39 $\mu\text{g/ml}$, *E. durans*'da 0,781 $\mu\text{g/ml}$, *S. typhimurium*'da 0,781 $\mu\text{g/ml}$, *B. subtilis*'de 1,562 $\mu\text{g/ml}$, *E. aerogenes*'de 1,562 $\mu\text{g/ml}$, *P. fluorescens*'de 1,562 $\mu\text{g/ml}$, *E. faecium*'da 3,125 $\mu\text{g/ml}$, *S. infantis*'de 3,125 $\mu\text{g/ml}$, *E. coli*'de 6,25 $\mu\text{g/ml}$, *S. kentucky*'de 6,25 $\mu\text{g/ml}$, *E. faecalis*'de 12,5 $\mu\text{g/ml}$, *L. innocua*'da 12,5 $\mu\text{g/ml}$, *L.monocytogenes*'de 100 $\mu\text{g/ml}$ 'dir.

Defne uçucu yağının mikroorganizmalar üzerindeki bakterisit ve fungusit etkilerinin en düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru sıralanışı *S. aureus* 0,195 $\mu\text{g/ml}$, *S. enteritidis* 0,39 $\mu\text{g/ml}$, *S. marcescens* 0,39 $\mu\text{g/ml}$, *K. pneumoniae* 0,781 $\mu\text{g/ml}$, *B. subtilis* 1,562 $\mu\text{g/ml}$, *E. aerogenes* 1,562 $\mu\text{g/ml}$, *S. typhimurium* 1,562 $\mu\text{g/ml}$, *E. durans* 3,125 $\mu\text{g/ml}$, *E. faecium* 3,125 $\mu\text{g/ml}$, *S. infantis* 3,125 $\mu\text{g/ml}$, *C. albicans* 3,125 $\mu\text{g/ml}$, *S. epidermidis* 6,25 $\mu\text{g/ml}$, *E. coli* 12,5 $\mu\text{g/ml}$, *P. fluorescens* 12,5 $\mu\text{g/ml}$, *L. innocua* 25 $\mu\text{g/ml}$, *E. faecalis* 100 $\mu\text{g/ml}$, *L. monocytogenes* 100 $\mu\text{g/ml}$, *S. kentucky* 100 $\mu\text{g/ml}$, *P. aeruginosa* 100 $\mu\text{g/ml}$ 'dir.

Defne yapraklı laden'in uçucu yağının MİK değerlerine bakıldığında mikroorganizmaların en yüksek duyarlılıktan daha düşük duyarlık derecesine göre sıralandığında *E. durans* 0,195 µg/ml, *S. aureus* 0,195 µg/ml, *C. albicans* 0,195 µg/ml, *P. aeruginosa* 0,781 µg/ml, *S. enteritidis* 3,125 µg/ml, *E. faecalis* 6,25 µg/ml, *S. epidermidis* 6,25 µg/ml, *S. typhimurium* 12,5 µg/ml, *P. fluorescens* 12,5 µg/ml, *B. subtilis* 25 µg/ml, *E. faecium* 25 µg/ml, *L. innocua* 25 µg/ml, *K. pneumoniae* 25 µg/ml, *S. marcescens* 25 µg/ml, *L. monocytogenes* 50 µg/ml, *E. aerogenes* 50 µg/ml, *E. coli* 50 µg/ml, *S. infantis* 50 µg/ml, *S. kentucky* 100 µg/ml'dir.

Defne yapraklı ladenin uçucu yağının mikroorganizmalar üzerindeki bakterisit ve fungusit etkilerinin en düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru sıralanışı *E. durans* 0,195 µg/ml, *S. aureus* 0,195 µg/ml, *E. faecalis* 3,125 µg/ml, *S. epidermidis* 3,125 µg/ml, *S. enteritidis* 3,125 µg/ml, *P. aeruginosa* 3,125 µg/ml, *C. albicans* 3,125 µg/ml, *S. typhimurium* 12,5 µg/ml, *P. fluorescens* 12,5 µg/ml, *E. faecium* 25 µg/ml, *L. innocua* 25 µg/ml, *K. pneumoniae* 25 µg/ml, *S. marcescens* 25 µg/ml, *L. monocytogenes* 50 µg/ml, *E. aerogenes* 50 µg/ml, *E. coli* 50 µg/ml, *S. infantis* 50 µg/ml, *B. subtilis* 100 µg/ml, *S. kentucky* 100 µg/ml'dir.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Türkiye’de yayılış gösteren Lauraceae (Defnegiller) familyasından *Laurus nobilis* ve Cistaceae (Ladengiller) ailesinden *Cistus laurifolius*’un su buharı distilasyonu ile elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal etkinliklerinin test edildiği bu araştırmada, belli değerlerde antimikrobiyal etkinliğin olduğu belirlenmiştir.

Ancak defne bitkisi defne yapraklı ladene göre belirgin bir farkla bakteriler üzerinde daha etkin antibakterial etkiye sahiptir. Bu çalışmada yağ verimliliği de göz önüne alındığında özellikle defne bitkisinin uçucu yağının etkin olduğu bakteri gruplarına karşı bitkisel preparatların hazırlanabileceği tespit edilmiştir.

Yurt dışında *Cistus incanus*, *Cistus ladanifer*, *Cistus creticus* ve *Cistus canadensis* taksonlarının uçucu yağ, distilasyon suyu ve ekstraksiyonları “Cistus Plus”, “Cistus Essential Oil”, “Organic Cistus Tea” gibi ürün başlıkları altında satılmaktadır. Ülkemizde “Cistus Antivirus” adıyla *Cistus creticus* ekstresi pastil olarak satılmaktadır.

Cistus cinsine ait türlerden yapılmış sağlığı destekleyici preparatların piyasada varoluşu, *Cistus laurifolius*’un çok yıllık bir çalı oluşu ve geniş alanlarda yayılıyor olması, budanarak hasatının yapılabilmesi, ekolojik isteklerinin yüksek değerlerde olmaması, yangın sonrasında kök sürgünlerinden hızla gelişebiliyor olması bu bitkiden uçucu yağ elde edilmesinde avantajlı yönleridir. Uçucu yağ verimliliğinin düşük olması ise bir dezavantajdır. Bu araştırmada *Cistus laurifolius*’un distilasyon sonucu yapraklarından elde edilen uçucu yağı çalışılmıştır. Piyasada satışı olan *Cistus* ürünlerinin bir kısmı ekstraksiyon ürünleri olduğundan *Cistus laurifolius*’unda ekstraksiyonla elde edilen ekstraktif maddesinin antimikrobiyal etkilerinin bir başka araştırmada sonuçlarının değerlendirilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Agueda, B., Parladé J, de Miguel AM, Martínez-Peña F. (2006). Characterization and identification of field ectomycorrhizae of *Boletus edulis* and *Cistus ladanifer*. *Mycologia*, 98(1): 23-30.
- Alma, M., H. (2003). Usage of Microwave Technique For Producing Essential Oil from *Laurus nobilis*, *Leaves from Turkey*.
- Alma M. H. (2011). *Türkiye' de Orman Tali Ürünleri Ve Kullanım Yerleri Ders Notları*, Kahramanmaraş Sütçü İmam üniversitesi, Kahramanmaraş
- Arrington JM, Kubitzki K, 2003. Cistaceae. In: Kubitzki K, Bayer C, (Eds.) *Kubitzki's The Families and Genera of vascular plants 5*. Springer, Berlin & Heidelberg & New York, pp.62–70.
- Bennadja S., Tlili Ait Kaki Y., Djahoudi A., Hadeif Y., Chefrour A. (2013). Antibiotic activity of the essential oil of laurel (*Laurus nobilis* L.) on eight bacterial strains. *Journal of Life Sciences*, Vol. 7, No. 8, pp. 814-819. ISSN 1934-7391.
- Chahal K.K., Kaur M., Bhardwaj U., Singla N., Kaur A. (2017). A review on chemistry and biological activities of *Laurus nobilis* L. essential oil. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 6(4): 1153-1161.
- Coode MJE, (1965). Cistaceae. P. Davis (Ed.). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands vol 1*, Edinburgh University Press. Edinburgh, UK. 506p.
- Coode MJE, (1988). Cistaceae. P Davis, Mill R, Tan K, (Ed.). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands. vol. 10*, Edinburgh University Press. Edinburgh, UK. 61p.
- Dahak K., Bouamama H., Benkhalti F., Taourirte M. (2014). Drying methods and their implication on quality, quantity and antimicrobial activity of the essential oil of *Laurus nobilis* L. from Morocco. *Online Journal of Biological Sciences* 14 (2), 94-101.
- Davis, P.H., (1965-1985). *Flora of Turkey and The East Eagean Islands*. Edinburg University Press, Edinburgh, (1-9): 1-600.
- Davis, P.H., Mill, R. R., Tan., Kit. (1988). *Flora of Turkey and The East Eagean Islands*. Supplement. Edinburg Universty Press, Edinburg, 1-590.
- Derwich E., Benziane Z., B. Abdellatif. (2009). Chemical composition and antibacterial activity of leaves essential oil of *Laurus nobilis* from Morocco. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(4): 3818-3824,. ISSN 1991-8178.

- El Malti J., Amarouch H. (2009). Antibacterial effect, histological impact and oxidative stress studies from *Laurus nobilis* extract. *Journal of Food Quality* 32 (2009) 190–208.
- Ghimire, B., Lee, C., Yang, J., Heo, K. (2015). Comparative leaf anatomy of some species of *Abies* and *Picea* (Pinaceae). *Acta Botanica Brasilica*, 29(3), 346-353.
- Göker, Y. ve Acar, İ. (1983). Orman yan ürünlerinden Akdeniz Defnesi (*Laurus nobilis* L.), *İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, Seri:B, Cilt:33, Sayı:1, İstanbul, sayfa: 125
- Gölükçü M., Tokgöz H., Yıldız T. D. (2018). Defne (*Laurus nobilis*) uçucu yağ bileşimi üzerine distilasyon süresinin etkisi. *Food And Health*. 4(1), 37-42.
- Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babaç, M.T., (edlr.). (2012).Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). *Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını*. İstanbul.
- Güner, A., Özhatay, N., Ekim T., Başer, K.H.C., (2000). *Flora of Turkey and The East Eagean Islands, Suplement 2*. Edinburg Universty Press, Edinburg, 1-5.
- Hosseinzadeh, S., Jafarikukhdan, A., Hosseini, A., & Armand, R. (2015). The Application of Medicinal Plants in Traditional and Modern Medicine: A Review of *Thymus vulgaris*. *International Journal of Clinical Medicine*, 6(9), 635.
- Kovacevic N. N., Simic M. D., Ristic M. S. (2007) Essential oil of *Laurus nobilis* from Montenegro. *Chemistry of Natural Compounds*, Vol. 43, No. 4.
- Lílian Sousa Pinheiro, Abrahão Alves de Oliveira Filho, Felipe Queiroga Sarmiento Guerra, Camilla Pinheiro de Menezes, Socrates Golzio dos Santos, Janiere Pereira de Sousa, Tassiana Barbosa Dantas, Edeltrudes de Oliveira Lima. (2017). Antifungal activity of the essential oil isolated from *Laurus nobilis* L. against *Cryptococcus neoformans* strains. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* Vol. 7 (05), pp. 115-118, May.
- Merghni A., Marzouki H., Hentati H., Aouni M., Mastouri M.(2016). Antibacterial and antibiofilm activities of *Laurus nobilis* L. essential oil against *Staphylococcus aureus* strains associated with oral infections. *Pathologie Biologie* 64, 9-34.
- Mukherjee D., Kaur G., Kumar M, and Thakur Y. (2015). In-vitro Study of the Medicinal Properties of *Coriandrum sativum* and *Laurus nobilis* against *Escherichia coli* and *Bacillus* species. *RJPBCS* 6(3) Page No. 957.
- Munoz F, Navarro C, eds. (1993). *Cistaceae*. In: , *Castroviejo Bolivar S, ed. Flora Ibe'rica. Volu'men III. Madrid*, Espan'ã: Real Jardín Bota'nico, CSIC. p. 318–436.

- Öğütveren M., Savas T. S. (2011). Composition of the essential oil of *Cistus laurifolius* L. from Turkey. *J. Essent. Oil Res.*, 16, 24-25.
- Özer, S. (1987). Ülkemizdeki Bazı Önemli Orman Tali Ürünlerinin Teşhis ve Tanıtım Klavuzu. *Orman Genel Müdürlüğü Yayını*, Yayın No: 659, Seri No: 18, Ankara.
- Santoyo S., Lloria R., Jaime L., Ibanez E., Senorans F. J., Reglero G. (2006). Supercritical fluid extraction of antioxidant and antimicrobial compounds from *Laurus nobilis* L. chemical and functional characterization. *Eur Food Res Technol*, 222: 565–571.
- Verdian-rizi M., Hadjiakhoondi A. (2008). Essential Oil Composition of *Laurus nobilis* L. of Different Growth Stages Growing in Iran. *Z. Naturforsch.* 63c, 785-788.
- Yılmaz E. S., Timur M., Aslim B. (2013). Antimicrobial, antioxidant activity of the essential oil of bay laurel from Hatay, Turkey. *TEOP* 16 (1) pp 108 – 116. ISSN Online: 0976-5026.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Esmâ Senâ Pattabanoğlu
Doğum Tarihi-Yeri : 27.09.1987/ Kastamonu
Medeni Hali : Evli
E-posta : e.sena@hotmail.com



Öğrenim Geçmişı

Lise : Kastamonu Yabancı Dil Ağırlıklı Kuzeykent Lisesi
Önlisans : Cumhuriyet Üniversitesi, Tıbbi Laboratuvar Teknikerliği
: Anadolu Üniversitesi Çocuk Gelişimi
Lisans : Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi
: Kastamonu Üniversitesi Hemşirelik Bölümü (Halen)

İş Deneyimi

Laboratuvar Tek. : Sivas Özel Derman Tıp Merkezi
Kastamonu Özel İsfendiyar Anadolu Hastanesi