

**T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TÜRKİYE'DE YAYILIŞ GÖSTEREN BAZI AĞAÇ  
TÜRLERİNE AİT UÇUCU YAĞLARIN ANTI-BİYOFİLM  
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BEKİR CAN TURGUT**

**DENİZLİ, ARALIK - 2016**

**T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**



**TÜRKİYE'DE YAYILIŞ GÖSTEREN BAZI AĞAÇ  
TÜRLERİNE AİT UÇUCU YAĞLARIN ANTI-BİYOFİLM  
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BEKİR CAN TURGUT**

**DENİZLİ, ARALIK - 2016**

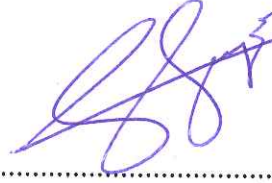
## KABUL VE ONAY SAYFASI

Bekir Can TURGUT tarafından hazırlanan "Türkiye'de Yayılış Gösteren Bazı Ağaç Türlerine Ait Uçucu Yağların Anti-biyofilm Etkilerinin Belirlenmesi" adlı tez çalışmasının savunma sınavı 16.12.2016 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği ile Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

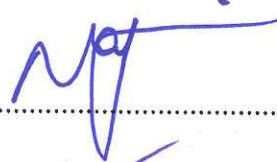
Jüri Üyeleri

İmza

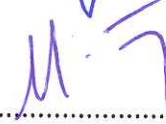
Danışman  
Doç. Dr. Gürkan SEMİZ  
Pamukkale Üniversitesi



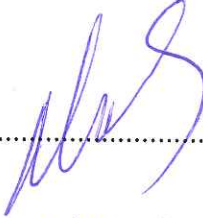
Üye  
Prof. Dr. Nazime MERCAN DOĞAN  
Pamukkale Üniversitesi




Üye  
Prof. Dr. Mustafa DURAN  
Pamukkale Üniversitesi



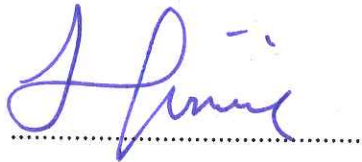
Üye  
Doç. Dr. Mesut KIRMACI  
Adnan Menderes Üniversitesi



Üye  
Doç. Dr. Gamze BAŞBÜLBÜL  
Adnan Menderes Üniversitesi



Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun  
04/01/2017 tarih ve 01/19... sayılı kararıyla onaylanmıştır.



Prof. Dr. Uğur YÜCEL

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

**Bu tez çalışması Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından 2014FBE034  
nolu proje ile desteklenmiştir.**

**Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.**

**BEKİR CAN TURGUT**



## ÖZET

### TÜRKİYE'DE YAYILIŞ GÖSTEREN BAZI AĞAÇ TÜRLERİNE AİT UÇUCU YAĞLARIN ANTI-BİYOFİLM ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BEKİR CAN TURGUT

PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. GÜRKAN SEMİZ)

DENİZLİ, ARALIK - 2016

Günümüzde tıbbi bitkilerin ve bu bitkilere ait uçucu yağların elde edilip değerlendirilmesi hem bilimsel hem de ekonomik yönden oldukça önemlidir. Bu çalışmada ülkemizde yayılış gösteren *Pinus nigra* Arn., *Pinus brutia* Ten., *Juniperus excelsa* Bieb., *Juniperus oxycedrus* L., *Juniperus communis* L., *Juniperus phoenicea* L., *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. türlerinden elde edilen uçucu yağların *Yersinia enterocolitica* RSKK 1501, *Staphylococcus aureus* ATCC 33862 *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 19433, *Staphylococcus sciuri* M16 (klinik izolat) ve *Enterococcus faecium* M20 (klinik izolat) suşlarında anti-biyofilm aktivitesi incelenmiştir. Su buharı distilasyonu ile elde edilen uçucu yağların SEM analizleri yapılarak suşların oluşturduğu biyofilm hakkında bilgi edinilmeye çalışılmıştır. Ayrıca uçucu yağların içeriği GC-MS analizi ile de belirlenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda en iyi anti-biyofilm aktivitesi *P. nigra* türünde *S. sciuri* M16 suşuna karşı 24. saatte gözlenmiştir. SEM analizinde hücrelerin topluluklar halinde veya tek hücreler şeklinde olduğu görülmüştür. Ayrıca yine SEM analizi sonucunda *P. nigra* türünde *S. sciuri* M16 suşunun biyofilm oluşumunun inhibe olduğu gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, bu bitkilerin uçucu yağlarının anti-biyofilm aktivitelerinin olduğunu göstermektedir. Uçucu yağ ve bileşenlerinin farmakolojik özellikleri incelenerek tıp, kozmetik ve endüstriyel alanlarda kullanılabilme imkânlarının yararlı olabileceği düşünülmektedir.

**ANAHTAR KELİMELER:** Biyofilm, bitki uçucu yağ, GC-MS, SEM.

## ABSTRACT

### ANTI-BIOFILM EFFECT OF ESSENTIAL OILS FROM SOME TREE SPECIES IN TURKEY

MSC THESIS

BEKİR CAN TURGUT

PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE  
BIOLOGY

(SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. GÜRKAN SEMİZ)

DENİZLİ, DECEMBER 2016

The essential oil obtained from medical plants and their evaluation are very important in both scientific and economic aspects. In present study, anti-biofilm activity of *Yersinia enterocolitica* RSKK 1501, *Staphylococcus aureus* ATCC 33862 *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 19433, *Staphylococcus sciuri* M16 and *Enterococcus faecium* M20 were examined on essential oils obtained from *Pinus nigra* Arn., *Pinus brutia* Ten., *Juniperus excelsa* Bieb., *Juniperus oxycedrus* L., *Juniperus communis* L., *Juniperus phoenicea* L., *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. species in Turkey. SEM analysis was performed of essential oils obtained by hydrodistillation, information has tried to get about biofilm formed by strains. Also, content analysis of essential oils was determined by GC-MS analysis. As a result of studies, the best activity of antibiofilm was observed against *S. sciuri* M16 strain of *P. nigra* at 24 hours. In SEM analysis, cells were observed as aggregate or single. Also, as a result of SEM analysis again, it was prevented formation of biofilm in *S. sciuri* M16 strain of *P. nigra*. According to results, essential oil of these plants indicates antibiofilm activity. By examining pharmacological properties of essential oil and components, it may be considered beneficial that use in medical, cosmetic and industrial areas.

**KEYWORDS:** Biofilm, plant essential oil, GC-MS, SEM.

# İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT .....	ii
İÇİNDEKİLER .....	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iv
TABLO LİSTESİ .....	v
SEMBOL LİSTESİ.....	vi
ÖNSÖZ.....	vii
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER .....</b>	<b>4</b>
2.1 <i>Pinus</i> L. (Çam) .....	4
2.1.1 <i>Pinus nigra</i> Arn. subsp. <i>pallasiana</i> (Lamb.) Holmboe (Karaçam) .....	5
2.1.2 <i>Pinus brutia</i> Ten. (Kızılçam) .....	6
2.2 <i>Juniperus</i> L. (Ardıç) .....	6
2.2.1 Sabina seksiyonu.....	8
2.2.1.1 <i>Juniperus excelsa</i> Bieb. subsp. <i>excelsa</i> (Boylu Ardıç-Boz Ardıç) 8	
2.2.1.2 <i>Juniperus phoenicea</i> L. (Finike Ardıcı) .....	8
2.2.2 <i>Oxycedrus</i> seksiyonu .....	9
2.2.2.1 <i>Juniperus oxycedrus</i> L. subsp. <i>oxycedrus</i> (Katran Ardıcı) .....	9
2.2.2.2 <i>Juniperus communis</i> L. var. <i>communis</i> (Adi Ardıç) .....	10
2.3 <i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehn. (Okaliptus) .....	10
2.4 Uçucu Yağlar .....	11
2.5 Çalışmada Kullanılan Bakteriler .....	12
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM .....</b>	<b>14</b>
3.1 Bitki Materyallerinin Toplanması .....	14
3.2 Bitki Uçucu Yağlarının Hazırlanması .....	14
3.3 Uçucu Yağların GC-MS Analizi .....	15
3.4 Çalışmada Kullanılan Bakteriler .....	15
3.5 Biyofilm Oluşumunun Kantitatif Tayini .....	16
3.6 Taramalı Elektron Mikroskopunda (SEM) Görüntüleme.....	16
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>17</b>
4.1 Bitkilerden Elde Edilen Uçucu Yağların Bileşenlerinin GC-MS Analizi ile Belirlenmesi.....	17
4.2 Anti-Biyofilm Oluşumuna Çeşitli Bitkilerden Elde Edilen Uçucu Yağların Etkisi .....	19
4.3 Taramalı (Scanning) Elektron Mikroskop ile Görüntüleme (SEM)24	
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>28</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>35</b>
<b>7. KAYNAKLAR.....</b>	<b>36</b>
<b>8. ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>46</b>



## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

Şekil 1: <i>Enterococcus faecium</i> 'un oluşturduğu biyofilm matriksinin ve hücrelerin SEM görünümü (kontrol).....	25
Şekil 2: <i>J. communis</i> 'den elde edilen yağın <i>E. faecium</i> üzerinde anti-biyofilm etkisinin SEM analizi ile görüntülenmesi.....	25
Şekil 3: <i>J. excelsa</i> 'dan elde edilen yağın <i>E. faecium</i> üzerinde anti-biyofilm etkisinin SEM analizi ile görüntülenmesi.....	26
Şekil 4: <i>J. oxycedrus</i> 'dan elde edilen yağın <i>E. faecium</i> üzerinde anti-biyofilm etkisinin SEM analizi ile görüntülenmesi.....	26
Şekil 5: <i>J. phoenicea</i> 'dan elde edilen yağın <i>E. faecium</i> üzerinde anti-biyofilm etkisinin SEM analizi ile görüntülenmesi.....	26
Şekil 6: <i>E. camaldulensis</i> 'dan elde edilen yağın <i>E. faecium</i> üzerinde anti-biyofilm etkisinin SEM analizi ile görüntülenmesi.....	27
Şekil 7: <i>Pinus brutia</i> 'dan elde edilen yağın <i>E. faecium</i> üzerinde anti-biyofilm etkisinin SEM analizi ile görüntülenmesi.....	27
Şekil 8: <i>P. nigra</i> 'dan elde edilen yağın <i>E. faecium</i> üzerinde anti-biyofilm etkisinin SEM analizi ile görüntülenmesi .....	27

## TABLO LİSTESİ

### Sayfa

<b>Tablo 1:</b> Çalışmada kullanılan bitkilerin isimleri, bulunduğu tarih ve bulunduğu mevki.....	14
<b>Tablo 2:</b> Çalışmada kullanılan bakteriler .....	15
<b>Tablo 3:</b> Bitkilerden elde edilen uçucu yağların bileşenleri ve alıkonma zamanları .....	18
<b>Tablo 4:</b> <i>J. communis</i> var. <i>communis</i> uçucu yağının anti-biyofilm etkisi (% cinsinden).....	20
<b>Tablo 5:</b> <i>J. excelsa</i> subsp. <i>excelsa</i> uçucu yağının anti-biyofilm etkisi (% cinsinden) .....	20
<b>Tablo 6:</b> <i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>oxycedrus</i> uçucu yağının anti-biyofilm etkisi (% cinsinden).....	21
<b>Tablo 7:</b> <i>Juniperus phoenicea</i> uçucu yağının anti-biyofilm etkisi (% cinsinden) .....	22
<b>Tablo 8:</b> <i>E. camaldulensis</i> uçucu yağının anti-biyofilm etkisi (% cinsinden) .....	23
<b>Tablo 9:</b> <i>P. brutia</i> uçucu yağının anti-biyofilm etkisi (% cinsinden) .....	23
<b>Tablo 10:</b> <i>P. nigra</i> subsp. <i>pallasiana</i> uçucu yağının anti-biyofilm etkisi (% cinsinden).....	24

## SEMBOL LİSTESİ

%	:	Yüzde
µg	:	Mikrogram
µl	:	Mikrolitre
dk	:	Dakika
g	:	Gram
GABA	:	Gama aminobütirik asit
GC-MS	:	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
HP	:	Hewlett Packard
L	:	Litre
m	:	Metre
mg	:	Miligram
mL	:	Mililitre
mm	:	Milimetre
MRSA	:	Metisiline dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
nm	:	Nanometre
OD	:	Optik yoğunluk
PBS	:	Fosfat Tampon Tuz
RT	:	Alıkonma süresi
SE	:	İkincil elektron
SEM	:	Taramalı Elektron Mikroskobu
TSB	:	Triptik Soy Broth
WHO	:	Dünya Sağlık Örgütü
PAÜ-BAP	:	Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Var	:	Varyete
Subsp.	:	Alttür
HP	:	Hewlett Packard
°C	:	Santigrat derece

## ÖNSÖZ

Bu çalışma 2013-2016 yılları arasında Pamukkale Üniversitesi, Biyoloji Bölümü Kimyasal Ekoloji Laboratuvarı'nda yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır.

Tez çalışmamın başından sonuna kadar, öncesinde ve sonrasında maddi ve manevi destek ve yardımlarını hiçbir zaman benden esirgemeyen, kendisiyle çalıştığım için her zaman şanslı hissettiğim, tecrübe ve eşsiz bilgilerinden yararlandığım, titiz ve disiplinli çalışmasını örnek aldığım değerli hocam Doç. Dr. Gürkan SEMİZ'e; anti-BİYOFİLM analizlerini yapmam için bana laboratuvarını açan, tezim sırasında ve tez yazım aşamasında bana her zaman destek veren Prof. Dr. Nazime MERCAN DOĞAN'a; Laboratuvar çalışmalarım sırasında desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, pratik buluşlarıyla işleri her zaman kolaylaştıran ve beni her zaman motive eden çok değerli dostum Dicle ARAR'a; Laboratuvar çalışmalarım sırasında desteğini esirgemeyen Erhan GÖNEN'e; İyi günümde, kötü günümde bana destek olan, eşim Gurbet ÇELİK TURGUT'a sonsuz teşekkür ederim.

Ayrıca 2014FBE034 nolu projemi destekleyen PAU-BAP birimine teşekkür ederim.

**BEKİR CAN TURGUT**

## 1. GİRİŞ

Bitkiler, Anadolu halkı tarafından yaklaşık 50.000 yıldan beri tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Şanidar mağarasında (Hakkari'nin güneyinde) bulunan yontma taş dönemi mezarlarda saptanan bitki türleri bu olgunun sağlam bir kanıtıdır. Elimizde bulunan ikinci kanıt, son yıllarda Ebla (Halep'in güneyinde) yakınında bulunan kraliyet arşivindeki tabletlerdir. Çivi yazısı ile yazılmış olan bu tabletlere göre, bitkiler en az 5.000 yıldan beri tedavi alanında kullanılmaktadır (Tan 1992). Türkiye, mevcut bitkisel çeşitliliği yönünden oldukça dikkate değer ve zengin bir floraya sahiptir. Bu zenginlik; üç fitocoğrafik bölgenin kesiştiği bölgede bulunması, Güney Avrupa ile Güney Batı Asya floraları arasında köprü olması, pek çok cins ve seksiyonun orijin ve farklılaşım merkezlerinin Anadolu'da oluşu, ekolojik ve fitocoğrafik farklılaşma ile ilgili olarak tür endemizmin yüksek oluşundan gelmektedir (Tan 1992).

Bitkilerle tedavi yöntemlerinin geçmişi çok eski yıllara dayanır. Son yıllarda sentetik kökenli maddelerin yan etkilerinin daha fazla olması, özellikle antibakteriyel olarak kullanılan sentetik ilaçlara karşı organizmaların direnç oluşturmaları gibi sebepler doğal bitkisel kaynakların ve bu maddeleri taşıyan tıbbi bitkilerin önemini daha çok artırmıştır (Nakipoğlu ve Otan 1992). Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün 91 ülkenin farmakopelerine ve tıbbi bitkileri üzerine yapılmış olan bazı yayınlarına dayanarak hazırladığı bir araştırmaya göre, tedavi amacıyla kullanılan tıbbi bitkilerin toplam miktarı 20.000 civarındadır (Kalaycıoğlu ve Öner 1994). Bitkilerin organizmaları öldürücü ve insan sağlığı için önemli olan özellikleri 1926 yılından bu yana laboratuvarlarda araştırılmaya başlanmıştır. Türkiye bitki florasının önemli bir özelliği oldukça zengin bir çeşitliliğe sahip olmasıdır. Ülkemizde 10.000'e yakın bitki türü doğal olarak yetişmesine rağmen yeterince istifade edilememektedir (İlçim ve diğ. 1998).

Günümüzde tıbbi bitkiler, geleneksel tedavi yöntemlerinin en aktif unsurları olarak bilinmektedir. WHO verileri gelişmekte olan ülkelerde insanların % 80'nin bu tedavi yöntemlerini kullandığını ve 3,3 milyar insanın da tıbbi bitkilerden tedavi aracı olarak yararlandığını ortaya koymuştur (Eloff 1998).

Türkiye dokuz bine yakın bitki taksonu ile dünyanın en zengin florasına sahip ülkelerden biri olmanın yanı sıra, köklü bir kültüre de sahiptir. Bu durum, bitkisel ilaçların daha etkili daha toksik ve daha pahalı olan sentetik ilaçlar ile bir arada kullanımlarında tamamlayıcı olarak rol oynamalarına olanak sağlamakta, tek başlarına ise, alternatif tedavi aracı olarak deri ve mukoza lezyonları ile diğer sistemlerin infeksiyonlarında iyileştirici ve antiseptik amaçlı olarak kullanımlarını gündeme getirmektedir. Bu yönüyle antibakteriyel aktiviteye sahip bitkilerin bakteriyel orijinli insan, hayvan ve bitki hastalıklarının tedavisinde etkili olabileceği ve hatta gıda üretim sistemlerindeki bakteriyel kontaminasyonu önlemek gibi spesifik bir işleve sahip olabileceği bildirilmektedir (Verastegul ve diğ. 1996).

Günümüzde tıbbi bitkilerin ve bu bitkilere ait uçucu yağların saf ve özellikle ana etken maddelerinin elde edilip değerlendirilmesi, hem bilimsel hem de ekonomik yönden oldukça önemlidir. Elde edilen sonuçlar, bu bitkilerin uçucu yağlarının antibakteriyel aktivitelerinin olduğunu göstermektedir. Uçucu yağ ve bileşenlerinin farmakolojik özellikleri de incelenerek tıp, kozmetik ve endüstriyel alanlarda kullanılabilme imkânlarının yararlı olabileceği belirtilmektedir (Gomez-Estaca ve diğ. 2010; Kacaniova ve diğ. 2014).

Günümüzde klasik kemoterapotik ajanlara karşı gelişen dirençli bakteri türlerinin sayıca artması ve özellikle penisiline dirençli suşların sıkça görülmesi, bu bileşiklerin kullanımını yetersiz hale getirmektedir. Antibakteriyel etkiye sahip bitkiler ve uçucu yağlar, halen kullanılmakta olan antibiyotiklerden farklı mekanizmalar ile bakterileri inhibe edebildiğinden direnç gelişen bakteri türlerini kontrol altına alabilme yeteneğine sahiptirler (Inuma ve diğ. 1996; Eloff 1998). Bu durumda bitkiler, tedavi edici etkilerinin yanı sıra yeni antibakteriyel ilaçların geliştirilmesi için yapılan araştırmalarda model olarak da kullanılabilirler (Fabry ve diğ. 1998; Serkedjieva 1997; Sindambiwe ve diğ. 1999).

Bu yüksek lisans tezinin ana amacı, yeni antibakteriyel etki gösteren maddelerin eldesidir. Bu amaçla, Türkiye'nin çeşitli yerlerinden toplanan çeşitli *Pinus*, *Juniperus* ve *Eucalyptus* cinslerine ait taksonlardan elde edilen uçucu yağların, Denizli Devlet Hastanesi'ndeki hasta örneklerinden izole edilen ve PAÜ Bakterioloji Laboratuvarı kültür stoklarında mevcut olan *Y. enterocolitica* RSKK

1501, *S. aureus* ATCC 33862, *E. coli* ATCC 25922, *E. faecalis* ATCC 19433, *S. sciuri* M16 (klinik izolat) ve *E. faecium* M20 (klinik izolat) suşlarında antibakteriyel aktivitesi incelenmiştir. SEM analizleri vasıtasıyla su buharı distilasyonu ile elde edilen uçucu yağların, suşların oluşturduğu biyofilm üzerine etkisi hakkında bilgi edinilmeye çalışılmıştır. Ayrıca çalışmada kullanılan türlere ait uçucu yağların terpen türevli bileşiklerinin analizi, GC-MS cihazı ve ilgili metotlarla yapılmıştır.

Bu tez çalışması bu alanda çalışan bilim insanları için kaynak oluşturacak niteliktedir. Tespit edilen yeni antibakteriyel maddeler ülser, ishal, idrar yolu enfeksiyonları gibi sadece bilinen hastalıkların tedavisinde değil, yeni tanımlanan hastalıkların veya tedavisi henüz bulunamamış hastalıkların tedavisinde de alternatif olabilecektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 *Pinus L. (Çam)*

Kozalaklılar sınıfının en önemli cinsi olan *Pinus* (Çamgiller) familyasına aittir. Kuzey Amerika, Avrupa ve Asya'da geniş yayılış gösterir. Terebentin yağı ve çam yağı, kolofan ve odun katranı elde edilir. Bazı çamlardan elde edilen tohumlar yenilebilmektedir. Kerestelik odun olarak birinci derecede önem taşırlar. Kâğıt yapımında da odunları elverişlidir (Rogachev ve Salakhutdinov 2015).

Genç yaşlarda dallar gövdeye çevresel dizilmiştir. Bütün çam türleri her dem yeşildir. Hem kısa hem de uzun sürgünleri bulunur. Fideciğin ilk yıllarında yapraklar uzun sürgünlere teker teker dizilmişlerdir. İlerleyen yıllarda dökülen bu tek yaprakların koltuğunda kısa sürgünler oluşur. Bunlara cüce sürgün de denilir ve üzerlerinde 1-2-3-5 ya da 8 adet yaprak taşırlar. Yaprakların enine kesitleri kaç yaprak taşıyorsa dairenin yaprak sayısına bölünmesi ile elde edilen şekle benzerler. Yaprakların ucu sivridir ve çok kere kenarları dişlidir. Yaprığın dip tarafında "glaf ya da kın" adı verilen sarı veya boz renkli ince deri gibi bir kısım bulunur. İletim demeti 1 ya da 2 adettir. Reçine kanalı 2 veya daha çok sayıdadır. Sürgünler üzerinde iğne yapraklar 2 yıldan başlayarak 7 yıla kadar kalabilir (Davis 1984). Her sene oluşan uzun sürgünlerin dip tarafı, sapsız ve iki anter taşıyan, pula benzeyen etaminlerden oluşur. Bunlar bir araya gelerek kozalakçık oluştururlar. Etamin pulları sarı, portakal sarısı veya kırmızı renktedir. Polenlerin her iki tarafında içleri hava dolu baloncuklar vardır. Dişi kozalak yan durumlu ya da subterminaldir. Spiral olarak bir eksen üzerine dizilmiş birçok çiçekten oluşmuştur. Her bir dişi çiçekte iki tohum tomurcuğu bir brakte, bir karpel bulunur. Brakte başlangıç kısmında görülür, bir süre sonra karpel gelişir, sertleşir, odunlaşır veya deri gibi olur. Kalkan adı verilen bir oluşum karpellerin uç kısımlarında görülür. Kozalak pulları açılır ama dağılmaz. Tohumu kıskaç gibi kavrayan bir kanat vardır. Kotiledon sayısı 3-18 arasındadır. Kazık kök yapısı oldukça kuvvetlidir (Syring ve diğ. 2007).



Odonları çok kıymetlidir. Koyu renkli öz odunları vardır. Odonlarında iki veya daha fazla sayıda reçine kanalı bulunur. Çamlar; yapraklarındaki iletim demeti sayısına, odun özellikleri ve kozalak özelliklerine göre yumuşak çamlar ve sert çamlar olarak 2 gruba ayrılır. Çamın tomurcuğundan, kozalağından, çırasından, filizlerinden yararlanır. Ayrıca kereste ticaretinde önemli bir yeri olan çam ağacı kâğıt hamuru yapımında da kullanılır (Behrendt ve Blanchette 1997).

Çamların tıbbi özellikleri de mevcuttur. Yapraklarındaki esansın ve reçinesinin (terebentin) öksürüğü kesme özelliği bulunur, balgamı söktürür. Akciğer hastalıklarında tedavi edici etkiye sahiptir. Terebentin pek çok tıbbi ilacın bileşiminde kullanılır. Güzel kokusu olduğu için parfüm yapımında da kullanılmaktadır. Bunların yanı sıra çam balından da yararlanır. Çam balı öncelikle Akdeniz ve Ege bölgelerinde üretilir. Arıların çam ağaçlarının üzerinde oluşan reçineleri işleyerek elde ettikleri salgı balı türüdür. Çam balının sindirim sistemine ve solunum yollarına olumlu etki ve faydaları tıpta kabul görmüştür. Ayrıca haricen yara iyileştirici, antimikrobiyal ve antiromatizmal olarak da faydalanılır (Sharma ve diğ. 2016).

### **2.1.1 *Pinus nigra* Arn. subsp. *pallasiana* (Lamb.) Holmboe (Karaçam)**

Tomurcuklar büyük, bol reçinelidir ve tomurcuk pullarının kenarları kirpiklidir. İğne yapraklar koyu yeşil ve serttir. Boyları 4-18 cm uzunluğundadır. Sürgün ucundaki yapraklar tomurcuğu huni gibi içine alır. Yaprakların uçları iğne gibi batıcı kenarları ise ince dişlidir. Erkek çiçekler soluk sarı renklidir. Kozalaklar kısa saplı ve simetriktir. Karpellerin göbeğinde iğne gibi dikenimsi bir çıkıntı bulunur. Kozalak boyu 3,5-12 cm arasında değişmektedir. Odonları sert, dayanıklı, iyi kaliteli ve reçinelidir. Sarıçamın yetişemediği ya da iyi gelişme gösteremediği yerlerde yetişmesi sarıçamla kıyaslandığında büyük avantaj sağlamaktadır. Ana taşı kalker olan topraklarda daha iyi gelişir. Çok geniş bir yayılış gösteren karaçam 5 alt türe ayrılmıştır. Çok sayıda ekotipi ve formu da bulunmaktadır. Bunun yanında ülkemizde 4 farklı varyetesi literatüre geçmiş

bulunmaktadır (Davis 1984). *P. nigra*'nın antibakteriyel (Politeo ve diğ. 2011), antioksidan ve antianaljesik (Gülçin ve diğ. 2003) etkilere de sahip olduğu bildirilmektedir.

### 2.1.2 *Pinus brutia* Ten. (Kızılçam)

Sahil kesimlerinde 15-20 m boyunda ve kalın dallıdır. Gövdeler düzgün değildir. Rakım yükseldikçe gövdeler düzgünleşmeye boy artmaya başlar. Tepeler sivrileşerek dallar inceler. Yapraklar 12-18 cm uzunluğunda, yumuşak ve açık yeşildir. Kozalakları 6-11 cm uzunluğunda, topaç biçimindedir. Sapsız veya çok kısa saplıdır ve sürgünlere dikine veya yan durur. Olgun kozalaklar parlak kırmızımsıtrak kahverengidir. Göbek içine doğru basık ve büyüktür. Birkaç tanesi bir arada toplu olarak bulunur. Reçine üretimi bakımından önem gösterir. Odunu daha çok yerel ihtiyaçlarda ve ambalaj sanayinde kullanılmaktadır. Genel olarak Akdeniz, Ege ve lokal olarak Karadeniz kıyılarında yayılış gösterir. Akdeniz iklim tipinin bir göstergesidir. Filistin, Ürdün, Suriye, Irak, Lübnan, Kıbrıs, Yunanistan ve İtalya'da yayılır. Marmara, Ege ve Akdeniz de çok geniş ormanlar kurar (Davis 1984).

Yapılan çalışmalarda *P. brutia*, *J. oxycedrus* ve *P. nigra*'nın içinde bulunduğu bir grup bitkinin çeşitli bölgelerinden elde edilen ekstraktların antioksidan özellikte olduğu gösterilmiştir (Diğrak ve diğ. 1999; Emami ve diğ. 2013; Cretu ve diğ. 2013).

## 2.2 *Juniperus* L. (Ardıç)

Ardıçlar yaklaşık 60 tür ile kuzey yarım kürede yayılış gösterirler. Çiçekler 1 veya 2 evcikli dir. Yapraklar bazı taksonlarda iğne halinde ve üçlü çevreseldir. Bazılarında pul halinde ve karşılıklıdır. Pul yapraklı ardıçlarda da gençlik devrelerinde iğne yaprak ve üçlü çevresel diziliş görülür. İğne yaprakların üstünde belirgin tek veya iki stoma izi görülür. Enine kesitlerinde tek bir reçine kanalı vardır. Dişi çiçek karşılıklı veya çevresel dizilmiş 3-8 puldan oluşur, küre şeklindedir. *Oxycedrus* seksiyonunda çiçekler kısa saplı, Sabina seksiyonunda ise

sapsızdır. Pulların hepsi veya bazıları üreyimlidir. Üreyimli pulların iç tarafında 1 ya da 2 tohum bulunur. Üzüksü kozalak pulları kaynaşmıştır. Tohumları kanatsızdır. Tohumların çimlenme engeli vardır. Kabuklar genellikle ince, uzunlamasına çatlaklıdır (Davis 1984).

Çok dayanıklı, kolay işlenebilen ince tekstürlü ve güzel kokulu odunları vardır. Özodunu çoğunlukla kırmızı-kahve, vişneçürüğü-kahverengindedir. Geniş kullanım yeri vardır. Özellikle kurşun kalem sanayinde, çekmece ve sandık, dolapların yapımında, oymacılık ve kaplamacılıkta, iç dekorasyonda, dam ve taban döşemelerinde kullanılır.

Odun ve yapraklarının destilasyonundan katran elde edilir. Bu tıpta ve parfümeri sanayinde değerlendirilir. Yaprak ve sürgünlerden elde edilen yağ da eczacılıkta kullanılır. Kuvvetli bir idrar söktürücüdür. Amerika'da bazı taksonların kozalakları kek ve hamur tatlılarına konulmaktadır. Kireçli topraklarda çok iyi gelişirler. Tohum, çelik ve aşı ile üretilebilirler. *Juniperus* cinsi dişi çiçek kozalak pulu-tohum tomurcuğu ve yaprak formuna göre iki seksiyona ayrılır. *Oxycedrus* seksiyonu en yukarıdaki kozalak pulları arasında yer alan terminal durumlu 3 tane tohum tomurcuğu vardır. Yapraklar iğne yaprak halindedir ve sürgünlere üçlü çevresel dizilmişlerdir. Sabina seksiyonunun tohum tomurcuğu (1) 3-9 (12) tanedir. Bunlar kozalak pullarının arasında değil önlerinde yer almışlardır. Teker teker ya da ikişer ikişer bulunurlar. Kozalak çoğu kez altı puldan oluşur. Pul yapraklar sürgünlere karşılıklı dizilmiştir. Bu cinsi ülkemizde iki seksiyonuna ait türler bulunmaktadır (Adams 2011). Bu seksiyonlar;

*Oxycedrus* seksiyonu; *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *oxycedrus*, *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *macrocarpa*, *Juniperus communis* L. sups. *communis*, *Juniperus communis* L. subsp. *nana*, *Juniperus communis* L. subsp. *hemispherica*,

Sabina seksiyonu; *Juniperus sabina*, *Juniperus excelsa*, *Juniperus foetidissima*, *Juniperus phoenicea* şeklindedir.

## 2.2.1 Sabina seksiyonu

### 2.2.1.1 *Juniperus excelsa* Bieb. subsp. *excelsa* (Boylu Ardıç-Boz Ardıç)

Gövde kabukları kül grisi renktedir ve ince çatlaklı orman ağacıdır. Boz, mavi yeşil iğne yaprakları son derece ince sürgünlere karşılıklı yatmıştır. Kozalak 4-6 puldan meydana gelmiştir. Olgun kozalaklar koyu morumtrak-kahverengi veya siyah renklidir. Her bir kozalakta 4-10 adet sivri uçlu küçük tohumlar bulunmaktadır. Bu tohumlar kozalağın dışından da fark edilebilir. Öz odunu koyu vişneçürüğü-kırmızı renklidir. Çok geniş bir alan üzerinde (300-3500 m arasında) yayılış gösterir. Anadolu'da genellikle Toros ve Antitoros'larda kuru ve taşlı yamaçlarda tek tek veya toplu halde görülür. Sıcak ve kuraklığa dayanıklıdır (Davis 1984).

*J. excelsa*'dan elde edilen uçucu yağın antibakteriyel (Al-Mariri ve Safi 2014; Afsharzadeh ve diğ. 2013; Sela ve diğ. 2015; Emami ve diğ. 2011) aktivitesi olduğu yapılan çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Hatta yapılan başka bir çalışmada antibakteriyel olarak kullanılan 'Chlorhexidine' isimli ilaçtan daha fazla antibakteriyel aktivitesi olduğu rapor edilmiştir (Azzimonti ve diğ. 2015). Ayrıca antioksidan (Emami ve diğ. 2007) ve kolinesteraz inhibitör (Orhan ve diğ. 2011; Ozturk ve diğ. 2011) aktivitesi de bulunmaktadır. *J. excelsa* ve *Pinus pinea*'dan elde edilmiş olan yağların lösemi hücrelerinde ilaç direncine karşı sitotoksik etkisi olduğu gösterilmiştir (Saab ve diğ. 2012).

### 2.2.1.2 *Juniperus phoenicea* L. (Finike Ardıcı)

Akdeniz Bölgesi, Kanarya Adaları, Güney Afrika ile Güney batı Anadolu'da denize yakın yerlerde, sahil kesimlerinde, kurak, taşlı ve kayalık yamaçlar üzerinde doğal yetişen bir ardıç türüdür. Uzaktan bakıldığında Servi ağacına benzemektedir. Bu nedenle 'Servi ardıç' da denilmektedir. Açık yeşil pul yapraklar sürgünlere dört sıra üzerine sarmal dizilmişlerdir. Çiçekler iki evcikliktir. Olgunlaşan kozalak portakal sarısı-kırmızı renktedir. Her bir kozalakta 3-9 adet tohum bulunur. Bu tür ülkemizde Muğla-Marmaris-Datça-Kuşadası-

Söke-Çeşme dolaylarında makiler içerisinde küçük gruplar halinde bulunur. Kanarya Adalarında 1000 yaşında ve kalın çaplı bireylerine rastlanılmaktadır. Cezayir’de 2000 m yüksekliğe kadar kadar çıkmaktadır (Davis 1984). Gemi ve bina inşaatlarında kullanılmış, sürgün ve dallarından “kokulu” katran elde edilmiştir.

*J. phoenicea*’dan elde edilen uçucu yağların antibakteriyel (Chaftar ve diğ. 2015; Fouad ve diğ. 2010), antioksidan (Medini ve diğ. 2011; Ennajar ve diğ. 2010), kolinesteraz inhibitör (Ozturk ve diğ. 2011), antiülser (Ben Ali ve diğ. 2015) aktivitesi olduğu gösterilmiştir. *J. phoenicea*’nın nöron hücrelerini koruyucu (Tavares ve diğ. 2012), karaciğer koruyucu (Alqasoumi ve diğ. 2013) ve hipertansiyonu engelleyici (Yvon ve diğ. 2012) olduğu da yapılan çalışmalarda bulunmuştur.

## **2.2.2 Oxycedrus seksiyonu**

### **2.2.2.1 *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *oxycedrus* (Katran Ardıcı)**

Çoğunlukla çalı veya ufak ağaç halinde Anadolu, Suriye, Kafkasya ve Kuzey İran da doğal olarak yetişir. Ülkemizde Trakya ve Anadolu’da (Tuz Gölü civarı ve Doğu Anadolu hariç) görülür. İğne yapraklar gayet sivri, batıcı, sürgünlerle dik bir açı yapar. Üçlü çevresel dizilmiştir. İki tane stoma bandı vardır. Çiçekler iki evciklidir. Üzümsü kozalak parlak kahverengi-kırmızı renkli küre veya yumurta biçimindedir. Ülkemizde iki alt türü bulunmaktadır. *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus* (Küçük kozalaklı katran ardıcı), *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *macrocarpa* (Büyük kozalaklı katran ardıcı). Küçük kozalaklı katran ardıcı en yaygın olanıdır. Büyük kozalaklı katran ardıcı çok lokal bir alanda yayılış alanı vardır. Kozalaklar 1,2-1,8 cm arasındadır. İlk etapta mavi dumanlı, olgunlaşınca kırmızı kahverengidir. Çoğunluklu 3, nadiren 6 puldan oluşur. Genellikle çalı formunda bulunur nadiren ufak ağaç halindedir. (Davis 1984). Odunu son derece kokuludur. Odununun kuru destilasyonundan katran elde edilir.

Bu katran insan ve hayvanlarda görülen bazı deri hastalıklarına haricen kullanılmaktadır.

*J. oxycedrus*'dan elde edilen uçucu yağın antibakteriyel (Chaftar ve diğ. 2015), antioksidan (Hanène ve diğ. 2012) ve kolinesteraz inhibitör (Ozturk ve diğ. 2011) aktivitesi vardır. Ayrıca *J. oxycedrus* ve *P. pinea*'dan elde edilen yağların lösemi hücrelerinde ilaç direncine karşı sitotoksik etkisi olduğu gösterilmiştir (Saab ve diğ. 2012).

### **2.2.2.2 *Juniperus communis* L. var. *communis* (Adi Ardıç)**

Akdeniz ile Orta ve Kuzey Avrupa'yı çevreleyen ülkelerin yüksek dağlık bölgelerinde, Anadolu, Kafkasya, İran, Afganistan, Himalaya Dağlarının batısı, Kuzey Amerika ve Kanada olmak üzere çok geniş bir yayılışı vardır. Çoğunlukla yerde sürünen çalı formlarında olmakla beraber 15 metreye kadar boylanabilmektedirler. Gövde asma gövdesi gibi çatlaklıdır. Yapraklar sivri, üçlü çevresel dizilmişlerdir. Yaprakların üst kısımlarında tek bir stoma bandı bulunur. Çoğunlukla iki evciklidir. Üzüksü kozalaklar 6-9 mm, kısa saplıdır. İki ya da üç yılda olgunlaşır. Her bir kozalakta 3 veya 2 nadiren 1 tohum bulunur. Tohumlar üç köşeli, uzun yumurta gibidir. Diri kısmı sarı, öz odunu koyudur. Olgunlaşmış kozalaklarından elde edilen “Ardıç Yağı” tıpta kullanılır.

*J. communis*'dan elde edilen uçucu yağın antibakteriyel (Afsharzadeh ve diğ. 2013; Wanner ve diğ. 2010), antioksidan (Emami ve diğ. 2007; Misharina ve diğ. 2009) ve kolinesteraz inhibitör (Orhan ve diğ. 2011) aktivitesi vardır.

### **2.3 *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. (Okaliptus)**

*E. camaldulensis* Avustralya'nın sulak yerlerinde yetişen bir türdür, ancak dünyanın çeşitli yerlerinde istilacı olarak sıklıkla boy göstermektedir. Boyu 45 m'ye kadar uzayabilir. Uzun ve iri gövdeleri sayesinde bünyelerinde çok fazla su barındırırlar. Okaliptus yapraklarından elde edilen okaliptus yağı çok

fazla 1,8-sineol (Eucalyptol) içermektedir. *E. camaldulensis* yağının antimikrobiyal aktivitesi yüksektir (Knezevic ve diğ. 2016).

## 2.4 Uçucu Yağlar

Uçucu yağlar halk arasında aromatik yağ, esans yağı, eterik yağ gibi adlandırılan bitki kimyasının önemli bileşenleri arasında yer alırlar (Çelik ve diğ. 2007). Genellikle sıcak tropik ülkelerde ve ılıman Akdeniz bölgelerinde yer alan çeşitli aromatik bitkilerden elde edilirler (Bakkali 2008). Bu yağlar bitkilerin yaprak, çiçek, tohum ve kabuklarından çeşitli ekstraksiyon ve su buharı destilasyonu yöntemleri kullanılarak elde edilirler. Oda sıcaklığında genellikle sıvı, çoğunlukla renksiz veya açık sarı renkli yağimsı karışımlardır. Bu bileşenler bitkilere koku ve yakıcı lezzet verirler. En belirgin özellikleri de oda sıcaklığında uçucu ve kokulu olmalarıdır. Suda çözünmezler, organik çözücülerde çözünürler bu yüzden yağ olarak tanımlansalar da sabit yağlardan farklıdırlar (Grassmann 2003). Bilinen uçucu yağların yaklaşık %10'u ticari olarak kullanılmaktadır.

Bu yağların kendisi ve içerdiği bileşenlerin bazıları ilaç sanayinde, tarımda, gıda ve kozmetik sanayide, hayvan beslemede ve doğal tedavi ajanları olarak kullanılmaktadır (Silva ve diğ. 2003; Hajhashemi ve diğ. 2003; Perry ve diğ. 2003). Bu yağların, antiinflamatuvar, antiviral, antiseptik, antibakteriyel, antioksidan gibi özellikleri bulunmaktadır (Boyle 1955; Bishop 1955; Azzouz ve diğ. 1982; Akgül ve diğ. 1988; Jayashree ve diğ. 1999; Pandey ve diğ. 2002; Pessoa ve diğ. 2002). Farklı bileşenler içerdikleri için etki dereceleri içerdikleri etken maddenin çeşit ve miktarına bağlı olarak değişmektedir (Toroglu ve diğ. 2003). Uçucu yağlar birçok Gram (-) ve Gram (+) bakteriler üzerinde antibakteriyel etki göstermektedir. Örneğin, bu yağ bileşenlerinden karvakrol, timol ve sinnamaldehit *E. coli* O157 ve *Salmonella typhimurium* üzerinde antibakteriyel etki göstermektedir (Halendar 1998). Yapılan başka bir çalışmada 8 farklı bitkiden elde edilen uçucu yağların 11 farklı mikroorganizma üzerinde farklı derecede inhibitör etki gösterdiği bildirilmiştir (Sartoratto 2004). Al-Howiriny, *Salvia lanigera* (tüylü adaçayı) bitkisinin uçucu yağını ekstrakte etmiş ve bu ekstraktın çeşitli mikroorganizmalar üzerinde antibakteriyel etki

gösterdiğini rapor etmiştir (Al-Howiriny 2003). Lee ve Ahn (1998)'nin yaptığı bir çalışmada tarçından elde edilen sinnamaldehit bileşenin çeşitli patojenleri inhibe ettiğini gösterilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada ise liken, mersin ve karanfil bitki ekstrelerinin çeşitli bakterilerin gelişimlerini değişik oranda etkilediği gösterilmiştir (İlçim 1998). Diğer bir çalışmada *Pinus* türlerinde olduğu çeşitli bitkilerden elde edilen 15 uçucu yağın *Clostridium* türleri üzerinde antibakteriyel ve antioksidan özellikleri gösterilmiştir (Kačániová 2014). Gomez-Estaca ve diğerlerinin yaptığı başka bir çalışmada da yine, içerisinde *P. sylvestris*'inde bulunduğu çeşitli bitkilerden elde edilen uçucu yağların, 18 bakteri üzerinde antimikrobiyal etkisi çalışılmış ve etkili bulunmuştur (Gomez-Estaca 2010). *Juniperus* türlerinin bulunduğu çeşitli bitkilerden elde edilen başta uçucu yağların ve kombinasyonlarının antimikrobiyal etkileri başka araştırmacılarının çalışmalarında gösterilmiştir (Chaftar 2015, Herman 2016).

## 2.5 Çalışmada Kullanılan Bakteriler

*Staphylococcus aureus* akut veya kronik infeksiyonlara neden olmaktadır. *S. aureus* suşlarının patojenitesi; aderans özellikleri, çeşitli toksinler, enzimler, yapısal ve ekstrasellüler faktörler gibi özelliklerine bağlıdır. Slime faktör üretmesi ve biyofilm oluşumu da patojenite faktörlerindedir. *S. aureus* vücut bölgelerine uygulanan tıbbi aletle ilişkili infeksiyonlardan en sık izole edilen mikroorganizmalardandır (Lowy 1998; Vancraeynest ve diğ. 2004). *S. aureus* bakterileri antibiyotiklerden korunarak, sepsis ve kronik infeksiyonlara da neden olmaktadır (Amorena ve diğ. 1999). Metisiline dirençlidir bununla birlikte metilsiline dirençli bir diğer *Staphylococcus* türü *S. sciuri*'de tanımlanmıştır (Wu ve diğ. 1996).

*Yersinia enterocolitica*, gastroenterite neden olan önemli bir bağırsak patojenidir. Bu bakterinin doğal kaynağı kemiriciler, domuz, koyun, sığır, kedi ve köpektir. *Y. enterocolitica*, hayvanlardan, taşıyıcılardan veya çevreden bulaşmış su, süt, süt ürünleri, et, sebzeler, vb. aracılığı ile ağız yoluyla alınmak suretiyle insanlara geçer. Bakterinin +4 °C'de üreyebilme özelliği nedeniyle buzdolabında saklanan enfekte etler, bulaştırıcılık açısından çok önemlidir. Hastalık



oluşabilmesi için en az bir milyar mikroorganizmanın ağız yolu ile alınması gerekir. Etken oral alımı takiben 2-11 gün sonra ince bağırsağın son bölümündeki lenf dokusu içinde çoğalarak o bölgede kanlanmaya ve ülserlere sebep olur; bağırsak duvarında iltihabî değişiklikler ve kalınlaşma meydana gelir

*Escherichia coli* memeli hayvanların kalın bağırsağında yaşayan bakteri türlerinden biridir. Normalde bağırsakta yaşadığı için, *E. coli* 'nin çevresel sularda varlığı dışkı kirlenmesinin bir belirtisidir. Bakteri çubuk şeklinde olup, boyutları 1-2 µm uzunluğunda ve 0,1-0,5 µm çapındadır. *E. coli* Gram (-) bir bakteri olduğundan endospor oluşturmaz, pastörizasyon veya kaynatma ile ölür. Memeli hayvanların bağırsaklarında büyümeye adapte olmuş olduğu için en iyi vücut sıcaklığında çoğalır.

*Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*, infeksiyonların büyük çoğunluğundan sorumlu olan iki enterokok türüdür. Bu bakteriler, sağlıklı erişkinlerde sıklık sırasına göre gastrointestinal sistem, oral kavite, vajina, safra kesesi ve üretranın normal florasında bulunurlar. Önceleri düşük infeksiyon potansiyelli mikroorganizmalar olarak düşünülen bu bakterilerin artık bakteremi ve endokardit gibi ciddi infeksiyonlara neden oldukları bilinmektedir. Ayrıca, batın içi infeksiyonlar, pelvik ve üriner sistem infeksiyonlarından da sorumludurlar. Daha az olarak menenjit, sellülit ve pnömoni nedeni de olabilirler (Moellering 1992; Eliopoulos 1997; Papanicolaou ve diğ. 1996; Montecalvo ve diğ. 1994; Henning ve Brown 1997; Johnson 1994).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Bitki Materyallerinin Toplanması

Çalışmada kullanılan bitkilerin tam adı ve ilgili toplama verileri Tablo 1'de verilmiştir. Bu bitkilere ait herbaryumlar PAÜ Fen Edebiyet Fakültesi Biyoloji Bölümü Kimyasal Ekoloji Laboratuvarında koruma altına alınmıştır.

**Tablo 1:** Çalışmada kullanılan bitkilerin isimleri, bulunduğu tarih ve bulunduğu mevki

Bitki Adı	Toplandığı Tarih	Bulunduğu Lokalite ve Yükseklik
<i>Pinus nigra</i> subsp. <i>pallasiana</i>	28.08.2014	Denizli, Sandras Dağı, Yangın kuyusu mevki, 1200 m
<i>Pinus brutia</i>	07.11.2014	Denizli, Çamlık, Mesire alanı, 450 m
<i>Juniperus excelsa</i> subsp. <i>excelsa</i>	28.07.2014	Antalya, Akseki, Güçlüköy, 690 m
<i>Juniperus oxycedrus</i> subsp. <i>oxycedrus</i>	28.08.2014	Denizli, Sandras Dağı, Yangın kuyusu mevki, 1150 m
<i>Juniperus communis</i> var. <i>communis</i>	22.11.2014	Denizli, Cankurtaran, Yangın havuzu mevki, 590 m
<i>Juniperus phoenicea</i>	29.11.2014	İzmir, Urla, Zeytineli Köyü mevki, 10 m
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	28.07.2014	Antalya, Manavgat-Antalya yol kenarı, 25 m

#### 3.2 Bitki Uçucu Yağlarının Hazırlanması

Bu çalışma yukarıda isimleri ve lokaliteleri verilen bitkilerin uçucu yağların anti-biyofilm aktivitelerinin belirlemesi planlanmıştır. Bu anlamda bitkisel yağların eldesinde Clevenger düzeneği kullanılmış olup kısaca mekanizması şu şekildedir:

Kaba değirmenden geçirilmiş bitki materyalinden (İbre ve yaprak kısımları) yaklaşık 500 gr alınarak, saf su ile birlikte 2000 mL'lik balon jöjeye konulmuş ve Clevenger düzeneğinde 4 saat süre ile bekletilmiştir. Zamanla oluşan eterik yağlar 10 mL'lik balon jöjelere alınmış, elde edilen eterik yağların analizi ve deneyleri yapılmak üzere + 4°C buzdolabında saklanmıştır.

### 3.3 Uçucu Yağların GC-MS Analizi

Çalışmada kullanılan bitkilerin uçucu yağları Gaz Kromatografi - Kütle Spektrofotometre (GC-MS, Agilent GC type 7820A, MSD 5795, Agilent, USA) analizi PAÜ, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kimyasal Ekoloji Laboratuvarında yapılmıştır. GC-MS'te 30 m uzunluğunda HP-5MS bir kapillar kolon kullanılmıştır (ID 0.25 mm, film kalınlığı 0.25 mm, Hewlett Packard). Taşıyıcı gaz olarak helyum kullanılmıştır. Sıcaklık programı 50°C'den 250°C'ye artış hızı 5<sup>0</sup>C/dk olacak şekilde düzenlenmiştir. İyon kaynağı sıcaklığı 230°C olarak ayarlanmıştır (Manninen ve diğ. 2002). Her bir terpen bileşiğinin miktarları yüzde değer olarak hesaplanmıştır. Çalışmada kullanılan uçucu yağlar 1/100 oranında *n*-hekzan ile seyreltilmiştir.

### 3.4 Çalışmada Kullanılan Bakteriler

Bu çalışmada kullanılan patojen bakteriler ve Metisiline Dirençli *S. aureus* (MRSA) suşları, Pamukkale Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Bakteriyoloji Laboratuvarı kültür stoklarından temin edilmiştir. Kullanılan bakterilerin isimleri ve kodları Tablo 2'de verilmiştir.

**Tablo 2:** Çalışmada kullanılan bakteriler

<b>Patojen Bakteriler</b>
<i>Yersinia enterocolitica</i> RSKK 1501
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 33862
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433
<i>Staphylococcus sciuri</i> M16
<i>Enterococcus faecium</i> M20

### 3.5 Biyofilm Oluşumunun Kantitatif Tayini

İzolaların biyofilm oluşumlarının kantitatif tayini, Jain ve Agarwal (2009) tarafından bildirilen yöntem modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. Mikroplaka kuyularına dilüe edilmemiş TSB ile 1/100 ve 1/200 oranlarında dilüe edilmiş TSB'lerden 200 µl konulmuş ve 37°C'de aktifleştirilen bakterilerden 30 µl ilave edilmiştir. Farklı miktarlarda (2 µl, 4 µl, 6 µl, 8 µl, 10 µl, 15 µl) elde edilen uçucu yağlardan mikroplakalara ilave edilerek 24 ve 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Mikroplakalardaki kuyular, % 0,1'lik kristal viyole ile boyanarak 15 dk bekletilmiş ve tekrar PBS ile yıkanmıştır. Son olarak, her bir kuyuya, %33'lük glasiyal asetik asit ilave edilmiştir. Mikroplakalar, mikroplaka okuyucusunda (Optic Ivymen Sistem 2100-C) 600 nm'de okunarak biyofilm artışları yüzde olarak aşağıdaki formül ile belirlenmiştir:

$$\% = 100 \times (OD_{\text{son}} - OD_{\text{ilk}}) / OD_{\text{ilk}}$$

### 3.6 Taramalı Elektron Mikroskopunda (SEM) Görüntüleme

SEM, polimerlerin yüzey morfolojisinin belirlenmesi için kullanılan yöntemlerden biridir. Bu yöntemde hızlandırılmış elektronlar örneğin yüzeyine çarptırılarak örnekten yansıyan ikincil elektronlar (SE), algılayıcı (dedektör) yardımıyla üç boyutlu görüntü elde edilmiştir. Uçucu yağların bakterilerin gelişimini ve biyofilm oluşumunu inhibe ettiğini doğrulamak için SEM analizi yapılmıştır. Altın ile kaplanan örnekler, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü'nde (İzmir, Türkiye) QUANTA FEG 250 Taramalı Elektron Mikroskop kullanılarak incelenmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1 Bitkilerden Elde Edilen Uçucu Yağların Bileşenlerinin GC-MS Analizi ile Belirlenmesi

Bu çalışmada *P. nigra* subsp. *pallasiana*, *P. brutia*, *J. excelsa* subsp. *excelsa*, *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*, *J. communis* var. *communis*, *J. phoenicea* ve *E. camaldulensis* bitkilerinin uçucu yağ bileşenlerini tayin etmek için GC-MS cihazı kullanılmıştır. GC-MS analizi sonucunda, bu bitkilerden toplam 33 adet bileşik belirlenmiştir. Bu bileşikler trisiklen + tujen,  $\alpha$ -pinen, kamfen, sabinen,  $\beta$ -pinen,  $\beta$ -mirsen,  $\delta$ -3-karen, d-limonen,  $\beta$ -fellandren, 1,8-sineol,  $\gamma$ -terpinen,  $\alpha$ -terpineol, linalool,  $\beta$ -tujone,  $\alpha$ -tujone, pinokarveol, kamfor, 4-terpineol, linalil asetat, isopulegil asetat, bornil asetat, 2,4 thujadien,  $\alpha$ -terpinil asetat,  $\alpha$ -humulene,  $\alpha$ -karyofillen,  $\alpha$ -amorfen,  $\alpha$ -kurkumin, naftalen,  $\delta$ -kadinen, karyofillen oksit, viridiflorol,  $\alpha$ -sedrol,  $\alpha$ -kadinol'dür. Bu bileşiklerin alıkonma zamanları ve yüzdelik değerleri Tablo 3'te verilmiştir.

*P. brutia*'dan elde edilen uçucu yağda çok miktarda  $\beta$ -pinen (%51,7) bileşeni bulunur. Ayrıca  $\alpha$ -pinen (%24,7) bileşeni de *P. brutia* uçucu yağında önemli bir yere sahiptir. *P. nigra* subsp. *pallasiana*'dan elde edilen uçucu yağda  $\alpha$ -pinen %27,5 ile en fazla bulunan bileşenken bunu %24,3 ile kamfen takip etmektedir. Ayrıca naftalen (%2,2) ve karyofillen oksit (%4,3) bileşenleri *P. nigra* subsp. *pallasiana*'dan elde edilen uçucu yağda bulunurken kullanılan diğer uçucu yağlarda bu bileşenlere rastlanmamıştır. *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*'dan elde edilen uçucu yağlarda %45,9 ile en fazla  $\alpha$ -pinen bileşenine rastlanmıştır. Bununla beraber  $\beta$ -fellandren (%10,2), pinokarveol (%2,3),  $\alpha$ -curcumen (%5,8) bileşenleri sadece *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*'dan elde edilen uçucu yağda görülmüştür. *J. communis* var. *communis* 'tan elde edilen uçucu yağda trisiklen + tujen (%2,7), sabinen (%7,8),  $\beta$ -tujone (%2,2),  $\alpha$ -tujone (%7,2), kamfor (%1,9), 2,4-thujadien (%11,6) bileşenlerine rastlanmışken bu bileşenlere çalışmada kullanılan diğer uçucu yağlarda rastlanmamıştır. *J. communis* var. *communis* uçucu yağında %38,3 ile en çok bulunan bileşen bornil asetat olarak tespit

edilmiştir. *J. excelsa* subsp. *excelsa* uçucu yağında %57'lik oran ile en fazla bulunan bileşen  $\alpha$ -pinen'dir. Bunu %16'lık oran ile  $\alpha$ -sedrol takip etmektedir. *J. phoenicea* uçucu yağında en fazla  $\alpha$ -pinen (%35,7) bileşeni görülmüştür. Bununla beraber linalool (%3), 4-terpineol (%2,8), linalil asetat (%5), isopulegil asetat (%4,8) ve  $\alpha$ -kadinol (%4,9) bileşenleri sadece *J. phoenicea*'ya ait uçucu yağda görülürken çalışmada kullanılan diğer uçucu yağlarda bu bileşenler görülmemiştir. *E. camaldulensis*'in uçucu yağında %77,7 oranında 1,8-sineol ve %6 oranında viridiflorol bileşenleri tespit edilmiştir. Bu bileşenler sadece *E. camaldulensis* uçucu yağında bulunurken kullanılan diğer uçucu yağlarda bu bileşenler bulunmamaktadır.

**Tablo 3:** Bitkilerden elde edilen uçucu yağların bileşenleri ve alıkonma zamanları

	RT (dk)	Bileşik	<i>P.brutia</i>	<i>P. nigra</i>	<i>E.camaldulensis</i>	<i>J.oxycedrus</i>	<i>J.communis</i>	<i>J.excelsa</i>	<i>J.phoenicea</i>
1	6,689	trisiklen + tujen	-	-	-	-	2,742	-	-
2	7,212	$\alpha$ -pinen	24,760	27,586	6,764	45,920	1,374	57,054	35,740
3	7,555	kamfen	-	24,318	-	-	1,653	1,598	1,553
4	8,090	sabinen	-	-	-	-	7,829	-	-
5	8,247	$\beta$ -pinen	51,732	-	-	3,270	-	1,537	1,710
6	8,469	$\beta$ -mirsen	1,631	1,570	1,608	8,046	6,051	2,588	5,027
7	9,181	3-karen	1,614	-	-	-	-	-	11,231
8	9,689	d-limonen	5,429	4,782	-	-	7,134	2,585	5,557
9	9,743	$\beta$ -fellandren	-	-	-	10,209	-	-	-
10	9,898	1,8 sineol	-	-	77,781	-	-	-	-
11	10,475	$\gamma$ -terpinen	-	-	-	-	1,621	-	1,353
12	11,385	$\alpha$ -terpineol	-	4,142	2,657	2,280	1,164	2,580	3,818
13	11,772	linalool	-	-	-	-	-	-	3,054
14	11,817	$\beta$ -tujone	-	-	-	-	2,217	-	-
15	12,300	$\alpha$ -tujone	-	-	-	-	7,216	-	-
16	12,824	pinokarveol	-	-	-	2,380	-	-	-
17	12,977	kamfor	-	-	-	-	1,949	-	-
18	13,905	4-terpineol	-	-	-	-	-	-	2,880
19	16,118	linalil asetat	-	-	-	-	-	-	5,097
20	16,746	isopulegil asetat	-	-	-	-	-	-	4,888
21	16,984	bornil asetat	-	-	-	-	38,320	1,615	2,774
22	17,577	2,4- thujadien	-	-	-	-	11,633	-	-
23	18,713	$\alpha$ -terpinil asetat	-	8,311	-	-	-	-	4,932
24	20,492	trans- $\beta$ - karyofillen	11,442	11,383	-	6,683	-	9,705	-

25	21,713	$\alpha$ -humulene	-	2,583	-	4,621	-	-	-
26	21,962	$\alpha$ -amorfen	-	4,526	-	-	-	-	-
27	22,034	$\alpha$ -curcumen	-	-	-	5,861	-	-	-
28	22,611	naftalen	-	2,247	-	-	-	-	-
29	22,944	$\delta$ -kadinen	-	1,828	-	-	1,300	-	2,804
30	23,821	karyofillen oksit	-	4,305	-	-	-	-	-
31	23,830	viridiflorol	-	-	6,083	-	-	-	-
32	24,145	$\alpha$ -sedrol	-	-	-	-	-	16,153	2,615
33	24,616	$\alpha$ -kadinol	-	-	-	-	-	-	4,966

#### 4.2 Anti-Biyofilm Oluşumuna Çeşitli Bitkilerden Elde Edilen Uçucu Yağların Etkisi

Çeşitli bitkilerden elde edilen uçucu yağların bazı patojen bakteriler üzerinde anti-biyofilm etkisi incelenmiştir. Bu çalışmada biyofilm oluşturduğu bilinen *Y. enterocolitica* RSKK 1501, *S. aureus* ATCC 33862, *E. coli* ATCC 25922, *E. faecalis* ATCC 19433, *S. sciuri* M16 (klinik izolat) ve *E. faecium* M20 (klinik izolat) suşları kullanılmıştır. Bakterilerin gelişim ortamına farklı konsantrasyonlarda (2 mg/mL, 4 mg/mL, 6 mg/mL, 8 mg/mL, 10 mg/mL, 15 mg/mL) *P. nigra* subsp. *pallasiana*, *P. brutia*, *J. excelsa* subsp. *excelsa*, *J. phoenicea*, *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*, *J. communis* var. *communis* ve *E. camaldulensis*'den elde edilen uçucu yağlar ilave edilmiştir. Sonuçlar Tablo 4-10 arasında verilmiştir.

*J. communis* var. *communis*'den elde edilen uçucu yağ, *S. sciuri* M16 suşuna karşı herhangi bir etki göstermezken, *Y. enterocolitica*'ya karşı en güçlü aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir. Uçucu yağın tüm konsantrasyonları 48. saatte *Y. enterocolitica*'nın biyofilm oluşumunu engellemiştir. *E. faecium* M20 suşu 24. saatte 2 mg/mL uçucu yağ konsantrasyonunda en iyi anti-biyofilm yüzdesine ulaşmışken (%14,53), *E. faecalis* suşu 24. saatte 4 mg/mL uçucu yağ konsantrasyonunda en iyi anti-biyofilm yüzdesine ulaşmıştır (%17,64). *J. communis* var. *communis* uçucu yağı 24. saatte 10 mg/mL (%27,99) ve 48. saatte 8 mg/mL (%19,77) *E. coli* suşunun biyofilm oluşumunu engellemiştir. *S. aureus* suşunda 24. saatte 10 mg/mL (%10,58) ve 48. saatte 2 mg/mL (%23,66) uçucu yağ konsantrasyonunda en iyi anti-biyofilm yüzdesine ulaşmıştır. Sonuçlara göre

*J. communis* var. *communis* uçucu yağının, *Y. enterocolitica* bakterisi üzerine seçici bir etki gösterdiği söylenebilir (Tablo 4).

**Tablo 4:** *J. communis* var. *communis* uçucu yağının anti-biyofilm etkisi (% cinsinden)

(mg/L)	<i>J. communis</i> var. <i>communis</i>											
	<i>S. sciuri</i> (M16)		<i>E. faecium</i> (M20)		<i>E. coli</i>		<i>E. faecalis</i>		<i>S. aureus</i>		<i>Y. enterocolitica</i>	
	Saat		Saat		Saat		Saat		Saat		Saat	
	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48
2	-	-	14,53	-	3,53	11,78	-	-	-	23,66	33,22	100,00
4	-	-	-	-	-	14,16	17,64	-	7,21	6,53	-	100,00
6	-	-	6,95	-	16,37	19,35	-	-	4,33	-	45,48	100,00
8	-	-	-	-	9,24	19,77	-	-	-	-	41,11	81,81
10	-	-	9,84	-	27,99	16,36	17,18	-	-	6,24	59,23	98,88
15	6,12	-	7,89	-	-	18,83	13,09	21,00	10,58	18,66	15,14	100,00

*J. excelsa* subsp. *excelsa*'dan elde edilen uçucu yağına karşı en dirençli bakteri türleri *S. sciuri* M16 ve *S. aureus* olmuştur. Buna ilaveten, *E. faecium* M20 ve *E. faecalis* bakteri türlerinin 24. saatinde anlamlı anti-biyofilm etkisi gözlenmemektedir. Uçucu yağ konsantrasyonu 10 mg/mL olduğunda *E. faecium* M20'ye karşı 48. saatte maksimum anti-biyofilm etki elde edilirken (%46,39), *E. faecalis* suşu 48. saatte 15 mg/mL uçucu yağ konsantrasyonunda inhibe olmuştur (%27,47). 10 mg/ml *J. excelsa* subsp. *excelsa* uçucu yağı *E. coli* suşunun biyofilm oluşumunu 24. saatte %57,27 oranında engellerken, *Y. enterocolitica* suşunda bu orana 8 mg/mL konsantrasyonunda ulaşılmıştır (%57,21). *Y. enterocolitica*'nın biyofilm oluşumu tüm konsantrasyonlarda 48. saatte tamamiyle inhibe olduğu görülmüştür (Tablo 5).

**Tablo 5:** *J. excelsa* subsp. *excelsa* uçucu yağının anti-biyofilm etkisi (% cinsinden)

(mg/L)	<i>J. excelsa</i> subsp. <i>excelsa</i>											
	<i>S. sciuri</i> (M16)		<i>E. faecium</i> (M20)		<i>E. coli</i>		<i>E. faecalis</i>		<i>S. aureus</i>		<i>Y. enterocolitica</i>	
	Saat		Saat		Saat		Saat		Saat		Saat	
	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48
2	-	-	-	-	-	-	-	1,58	-	-	41,94	100,00
4	-	-	-	-	33,22	-	-	15,78	-	-	-	100,00
6	-	-	-	-	41,99	-	-	5,87	-	-	68,03	51,18
8	-	-	-	17,35	-	2,55	-	10,60	-	-	57,21	100,00
10	-	-	-	46,39	57,27	8,05	27,86	22,19	-	-	40,38	44,34
15	-	-	-	13,07	-	7,65	-	27,47	-	-	30,00	100,00



*J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*'dan elde edilen uçucu yağın *S. sciuri* M16 türünde 24 ve 48. saatlerinde, ayrıca *E. faecium* M20, *E. coli* suşlarının 48. saatinde ve *E. faecalis*, *S. aureus* suşlarının 24. saatinde anlamlı anti-biyofilm etkisi gözlenmemektedir. *E. faecium* M20 suşu 24. saatte 10 mg/mL uçucu yağ konsantrasyonunda en iyi anti-biyofilm yüzdesine ulaşmışken (%73,16), *E. faecalis* suşu 48. saatte 2-6 mg/mL uçucu yağ konsantrasyon aralığında %100 inhibe olduğu tespit edilmiştir.

*J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* 24. saatte 8 mg/mL (%61,16) uçucu yağı *E. coli* suşunun biyofilm oluşumunu engellemiştir. *S. aureus* suşunda 48. saatte 6 mg/mL (%100) uçucu yağ konsantrasyonunda en iyi anti-biyofilm yüzdesine ulaşmıştır. *Y. enterocolitica* ise 24. saatte %58,49 oranında inhibe olurken 48. saatte yağın anti-biyofilm etkisi %100'e çıkmıştır. Sonuçlara göre *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* uçucu yağı da, *Y. enterocolitica* bakterisinde maksimum anti-biyofilm etkiye sahiptir (Tablo 6).

**Tablo 6:** *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* uçucu yağının anti-biyofilm etkisi (% cinsinden)

(mg/L)	<i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>oxycedrus</i>											
	<i>S. sciuri</i> (M16)		<i>E. faecium</i> (M20)		<i>E. coli</i>		<i>E. faecalis</i>		<i>S. aureus</i>		<i>Y. enterocolitica</i>	
	Saat		Saat		Saat		Saat		Saat		Saat	
	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48
2	-	-	16,41	-	-	-	-	100,00	-	96,28	-	100,00
4	-	-	-	-	-	-	-	100,00	-	100,00	-	92,10
6	-	-	50,13	10,06	8,86	7,07	-	100,00	-	100,00	58,49	100,00
8	-	-	-	-	61,16	-	-	6,51	-	12,77	-	-
10	-	-	73,16	-	-	-	-	6,28	-	4,68	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Elde edilen sonuçlara göre, *J. phoenicea*'dan elde edilen uçucu yağ *S. sciuri* (M16 klinik izolatu) bakteri türünde 24. saatte 15 mg/mL (%9,21) ve 48. saatte 2 mg/mL (%28,11) tek konsantrasyonlarında anti-biyofilm etkisi göstermiştir. Ayrıca *E. faecium* M20 (klinik izolat) 24. (%47,31) ve 48. saatinde (%5,87) 15 mg/mL konsantrasyonunda etkilidir. Aynı şekilde *E. faecalis* bakteri türünün 24 (%46,75) ve 48. saatinde (%36,75) 15 mg/mL konsantrasyonunda anti-biyofilm etkisi gözlenmektedir.

*J. phoenicea* 24. saatte 15 mg/mL (%100), 48. saatte 8 mg/mL (%100) uçucu yağı *E. coli* suşunun biyofilm oluşumunu engellemiştir. *S. aureus* suşunda 24 (%41,63) ve 48. saatte (%45,14) 15 mg/mL uçucu yağ konsantrasyonunda en iyi anti-biyofilm yüzdesine ulaşmıştır. *Y. enterocolitica* 24. saatte 10 mg/mL (%100) ve 48. saatte 8 mg/mL (%100) uçucu yağ konsantrasyonunda en iyi anti-biyofilm yüzdesine ulaşmıştır. Sonuçlara göre *Juniperus phoenicea* uçucu yağı, *Y. enterocolitica* bakterisinde maksimum anti-biyofilm yüzdesine ulaşmıştır (Tablo 7).

**Tablo 7:** *Juniperus phoenicea* uçucu yağının anti-biyofilm etkisi (% cinsinden)

(mg/L)	<i>Juniperus phoenicea</i>												
	<i>S. sciuri</i> (M16)		<i>E. faecium</i> (M20)		<i>E. coli</i>		<i>E. faecalis</i>		<i>S. aureus</i>		<i>Y. enterocolitica</i>		
	Saat		Saat		Saat		Saat		Saat		Saat		
	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	
2	-	28,11	41,96	-	21,69	86,11	-	-	-	-	68,66	6,72	
4	-	-	-	-	50,17	32,00	1,46	-	-	-	100,00	-	
6	-	-	-	-	64,36	31,50	-	-	-	-	82,50	-	
8	-	-	-	-	81,99	100,00	-	-	-	10,63	59,21	100,00	
10	-	-	-	-	99,83	100,00	30,60	-	5,21	18,13	100,00	40,72	
15	9,21	-	47,31	5,87	100,00	0	90,56	46,75	39,75	41,63	45,14	100,00	79,56

Elde edilen sonuçlara göre, *E. camaldulensis*'den elde edilen uçucu yağ *S. sciuri* (M16 klinik izolatu), *Staphylococcus aureus*, *Y. enterocolitica* ve *E. faecalis* bakteri türlerinin 48. saatinde anlamlı anti-biyofilm etkisi gözlenmemektedir. *S. sciuri* (%19,86) suşunun 2 mg/mL konsantrasyonunda, *S. aureus* (%100), *Y. enterocolitica* (%100) ve *E. faecium* (%100) bakteri türlerinin 15 mg/mL konsantrasyonunda 24. saatte en iyi anti-biyofilm yüzdesine ulaşmıştır. *E. camaldulensis* uçucu yağı *E. faecium* (M20 klinik izolatu) suşunun 24. saatte 2 mg/mL (%100), 48. saatte 8 mg/mL (%22,70) biyofilm oluşumunu engellemiştir. *E. coli* suşunda 24. saatte 15 mg/mL (%100) ve 48. saatte 8 mg/mL (%100) uçucu yağ konsantrasyonunda en iyi anti-biyofilm yüzdesine ulaşmıştır. Sonuçlara göre *E. camaldulensis* uçucu yağı, *Y. enterocolitica* bakterisinde 24. saatte maksimum anti-biyofilm yüzdesine ulaşmıştır (Tablo 8).

**Tablo 8:** *E. camaldulensis* uçucu yağının anti-biyofilm etkisi (% cinsinden)

(mg/L)	<i>E. camaldulensis</i>											
	<i>S. sciuri</i> (M16)		<i>E. faecium</i> (M20)		<i>E. coli</i>		<i>E. faecalis</i>		<i>S. aureus</i>		<i>Y. enterocolitica</i>	
	Saat		Saat		Saat		Saat		Saat		Saat	
	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48
2	19,86	-	100,00	6,18	100,00	73,07	34,94	-	100,00	-	100,00	-
4	-	-	71,90	2,13	100,00	48,44	57,44	-	80,24	-	100,00	-
6	-	-	22,06	-	100,00	41,56	45,88	-	58,21	-	100,00	-
8	-	-	51,08	22,70	100,00	100,00	69,88	-	71,59	-	100,00	-
10	-	-	97,45	-	100,00	71,04	85,00	-	100,00	-	100,00	-
15	0,35	-	88,78	0,34	100,00	78,92	100,00	2,82	100,00	-	100,00	-

Elde edilen sonuçlara göre, *P. brutia*'dan elde edilen uçucu yağ *S. sciuri* (M16 klinik izolatu) bakterisi türünde 24 (%8,93) ve 48. saatlerinde (%12,65) sadece 2 mg/mL konsantrasyonunda anti-biyofilm etkisi göstermiştir. *E. faecium* M20 (klinik izolat) 24. saatinde (%47,94) 4 mg/mL konsantrasyonunda 48. saatinde (%25) 8 mg/mL konsantrasyonunda anti-biyofilm etkisi gözlenmektedir. *E. faecalis* bakterisi türlerinin 24 (%12,22) 48. saatinde (%12,02) 8 mg/mL uçucu yağ konsantrasyonunda en iyi anti-biyofilm yüzdesine ulaşmıştır. *Pinus brutia* uçucu yağı 24. saatte 8 mg/mL (%100), 48. saatte 6 mg/mL (%39,86) *E. coli* suşunun biyofilm oluşumunu engellemiştir. *S. aureus* suşunda 24. saatte 8 mg/mL (%100) ve 48. saatte 6 mg/mL (%100) uçucu yağ konsantrasyonunda en iyi anti-biyofilm yüzdesine ulaşmıştır. *Y. enterocolitica* ise 24. saatte 8 mg/mL (%100) ve 48. saatte 6 mg/mL (%100) uçucu yağ konsantrasyonunda en iyi anti-biyofilm yüzdesine ulaşmıştır. Sonuçlara göre *P. brutia* uçucu yağı, *Y. enterocolitica* bakterisinde maksimum anti-biyofilm yüzdesine ulaşmıştır (Tablo 9).

**Tablo 9:** *P. brutia* uçucu yağının anti-biyofilm etkisi (% cinsinden)

(mg/L)	<i>Pinus brutia</i>											
	<i>S. sciuri</i> (M16)		<i>E. faecium</i> (M20)		<i>E. coli</i>		<i>E. faecalis</i>		<i>S. aureus</i>		<i>Y. enterocolitica</i>	
	Saat		Saat		Saat		Saat		Saat		Saat	
	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48
2	8,93	12,65	-	-	100,00	22,35	23,00	-	100,00	100,00	100,00	100,00
4	-	-	47,94	-	100,00	20,74	-	-	100,00	100,00	100,00	100,00
6	-	-	8,43	0,50	100,00	39,86	-	-	100,00	100,00	100,00	100,00
8	-	-	-	25,00	100,00	-	12,22	12,02	100,00	100,00	100,00	100,00
10	-	-	-	-	100,00	31,34	-	-	100,00	100,00	100,00	100,00
15	-	-	-	-	100,00	34,27	-	-	100,00	100,00	100,00	100,00

Elde edilen sonuçlara göre *P. nigra* subsp. *pallasiana*'dan elde edilen uçucu yağın *S. sciuri* (M16 klinik izolatu) bakterisi türünde 24. saatte 10 mg/mL

konsantrasyonunda (%100) ve 48. saatte 2 mg/mL konsantrasyonunda (%5,59) anti-biyofilm etkisi gözlenmektedir. *E. faecium* M20 (klinik izolat) suşu 24. saatte (%100) 8 mg/mL uçucu yağ konsantrasyonunda 48. saatte (%49,65) 2 mg/mL konsantrasyonunda en iyi anti-biyofilm yüzdesine ulaşmışken, *E. faecalis* suşu 24. saatte (%80,56) 10 mg/mL uçucu yağ konsantrasyonunda 48. saatte (%75,05) 2 mg/mL konsantrasyonunda en iyi anti-biyofilm yüzdesine ulaşmıştır.

*P. nigra* subsp. *pallasiana*'da 24. saatte 4 mg/mL (%100), 48. saatte 15 mg/mL (%88,11) uçucu yağın *E. coli* suşunun biyofilm oluşumunu engellemiştir. *S. aureus* suşunda 24. saatte (%95,42) ve 48. saatte (%65,05) 15 mg/mL uçucu yağ konsantrasyonunda en iyi anti-biyofilm yüzdesine ulaşmıştır. *Y. enterocolitica* ise 24. saatte 15 mg/mL (%100) ve 48. saatte 4 mg/mL (%100) uçucu yağ konsantrasyonunda en iyi anti-biyofilm yüzdesine ulaşmıştır. Sonuçlara göre *P. nigra* uçucu yağı, *S. sciuri* (M16 klinik izolatı) bakterisinde maksimum anti-biyofilm yüzdesine ulaşmıştır (Tablo 10).

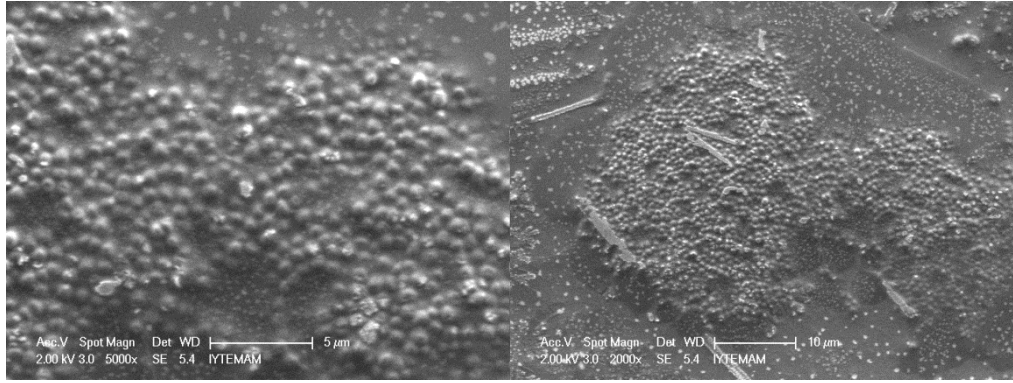
**Tablo 10:** *P. nigra* subsp. *pallasiana* uçucu yağının anti-biyofilm etkisi (% cinsinden)

(mg/L)	<i>P. nigra</i> subsp. <i>pallasiana</i>											
	<i>S. sciuri</i> (M16)		<i>E. faecium</i> (M20)		<i>E. coli</i>		<i>E. faecalis</i>		<i>S. aureus</i>		<i>Y. enterocolitica</i>	
	Saat		Saat		Saat		Saat		Saat		Saat	
	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48
2	-	5,59	-	49,65	100,00	61,70	-	75,05	-	31,73	100,00	-
4	7,27	-	-	-	100,00	56,70	-	-	-	-	100,00	43,39
6	100,00	-	13,94	8,65	100,00	17,81	-	-	16,88	35,30	100,00	-
8	100,00	-	100,00	20,53	100,00	-	37,46	2,69	59,24	8,12	100,00	22,82
10	100,00	-	83,56	21,00	100,00	52,41	80,56	15,71	66,18	12,92	100,00	41,52
15	100,00	-	100,00	48,82	100,00	88,11	76,69	9,58	95,42	65,05	100,00	34,33

### 4.3 Taramalı (Scanning) Elektron Mikroskop ile Görüntüleme (SEM)

SEM, uçucu yağların örnekler üzerine gösterdiği morfolojik değişiklikleri belirlemek için kullanılan yöntemlerden biridir. Bu yöntemde hızlandırılmış elektronlar örneğin yüzeyine çarptırılarak örnekten yansıyan ikincil elektronlar (SE), algılayıcı (dedektör) yardımıyla alınarak üç boyutlu görüntü elde edilmiştir. Dolayısıyla bakterilerin biyofilm oluşumunun engellendiğini

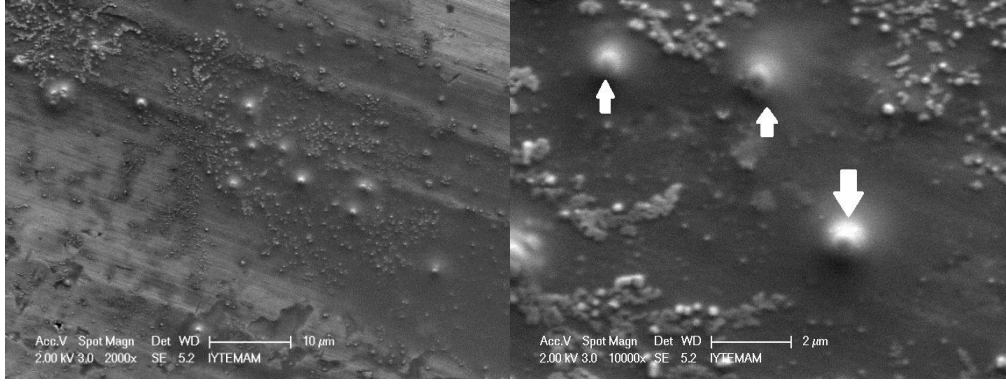
doğrulamak ve örneklerdeki biyofilm ya da bakteri gelişiminin inhibe olduğunu gösteren yüzey morfolojisi hakkında bilgi edinmek için SEM analizi yapılmıştır. SEM mikrografları, uçucu yağların anti-biyofilm etkilerini doğrular niteliktedir. Şekil 1'de *E. faecium* suşunun uçucu yağ içermeyen ortamda geliştirilerek kontrol grubu olarak elde edilen biyofilm görünümü verilmiştir. Bakterilerin topluluklar halinde ve yoğun olduğu görülürken, aynı bakterinin uçucu yağ içeren ortamlardaki SEM görünümüne göre, hücre gelişiminin yok denecek kadar az olduğu dikkati çekmiştir (Şekil 1-8).



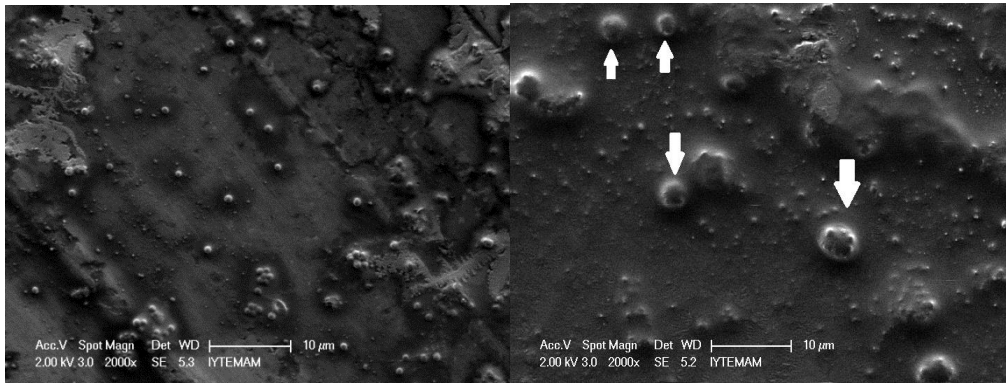
**Şekil 1:** *Enterococcus faecium*'un oluşturduğu biyofilm matrisinin ve hücrelerin SEM görünümü (kontrol)



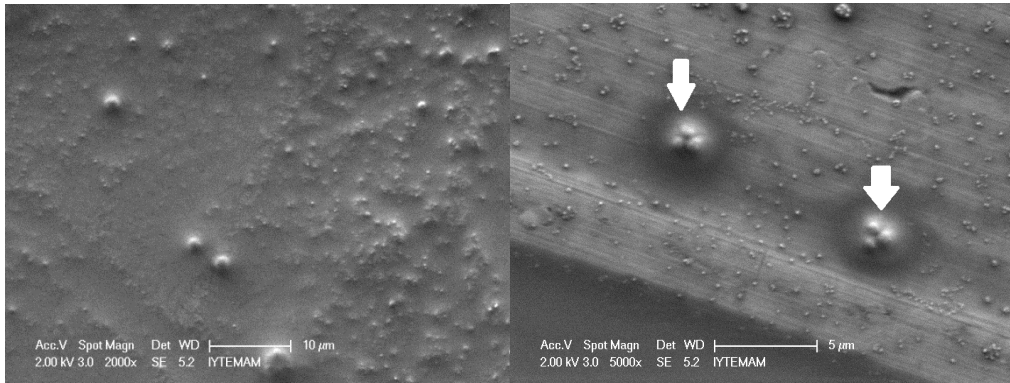
**Şekil 2:** *J. communis* var. *communis*'den elde edilen yağın *E. faecium* üzerinde anti-biyofilm etkisinin SEM analizi ile görüntülenmesi



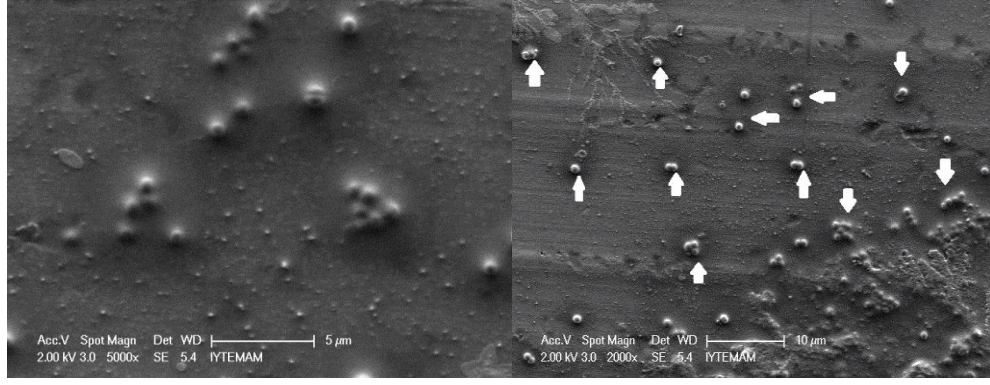
**Şekil 3:** *J. Excelsa* subsp. *excelsa*'dan elde edilen yağın *E. faecium* üzerinde anti-biyofilm etkisinin SEM analizi ile görüntülenmesi



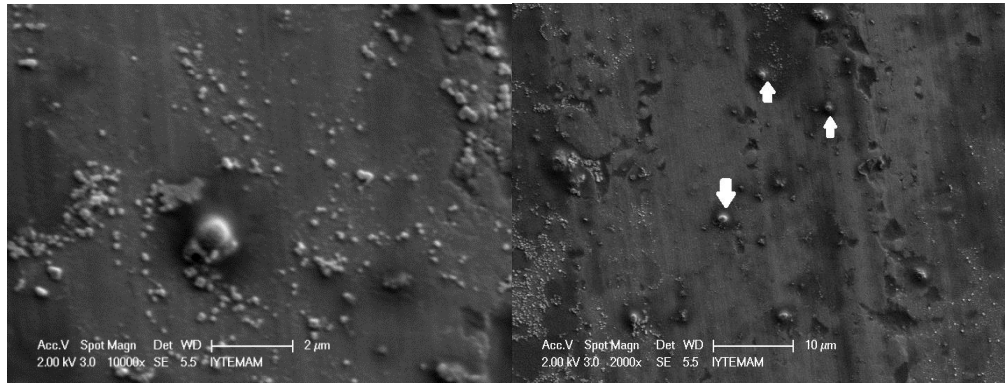
**Şekil 4:** *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*'dan elde edilen yağın *E. faecium* üzerinde anti-biyofilm etkisinin SEM analizi ile görüntülenmesi



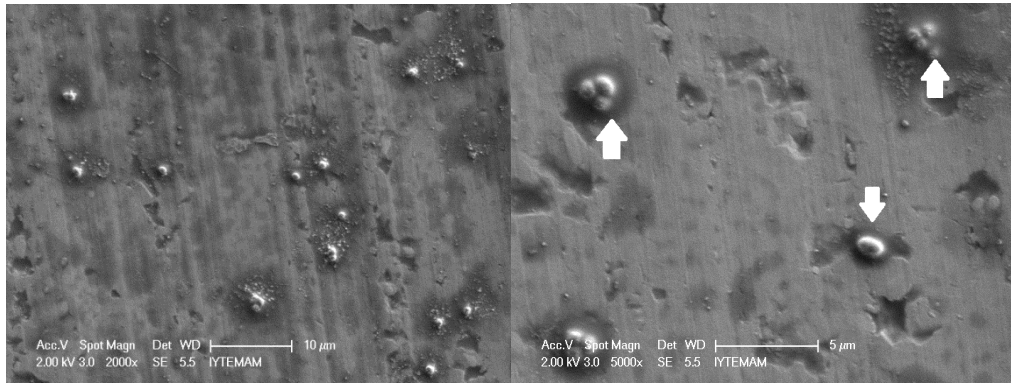
**Şekil 5:** *J. phoenicea*'dan elde edilen yağın *E. faecium* üzerinde anti-biyofilm etkisinin SEM analizi ile görüntülenmesi



**Şekil 6:** *E. camaldulensis*'dan elde edilen yağın *E. faecium* üzerinde anti-biyofilm etkisinin SEM analizi ile görüntülenmesi



**Şekil 7:** *Pinus brutia*'dan elde edilen yağın *E. faecium* üzerinde anti-biyofilm etkisinin SEM analizi ile görüntülenmesi



**Şekil 8:** *P. nigra* subsp. *pallasiana*'dan elde edilen yağın *E. faecium* üzerinde anti-biyofilm etkisinin SEM analizi ile görüntülenmesi

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, *P. nigra* subsp. *pallasiana* *P. brutia*, *J. excelsa* subsp. *excelsa*, *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*, *J. communis* var. *communis*, *J. phoenicea* ve *E. camaldulensis* bitkilerinin uçucu yağ bileşenleri GC-MS cihazı ile tayin edilmiştir. Analiz sonucuna göre 7 adet bitki örneğinden toplam 33 adet terpen türevli bileşen belirlenmiştir. Analiz edilen bitki bileşenlerine ait kütle spektrum verilerinin cihazda mevcut olan NIST ve Willey kütüphanelerinde bulunan bileşiklere ait kütle spektrum verileri ile karşılaştırma yapılarak gerçekleştirilmiştir. Ayrıca bu veriler literatür verileri ile de karşılaştırılarak sonuçlar desteklenmiştir. Alıkonma indeksleri (C<sub>6</sub>-C<sub>30</sub>) karbon sayılı standart hidrokarbon alıkonma zamanları referans alınarak hesaplanmıştır.

Yapılan çalışma sonucunda *P. nigra* subsp. *pallasiana*, *J. excelsa* subsp. *excelsa*, *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* ve *J. phoenicea*'nın ana bileşiği  $\alpha$ -pinen, *P. brutia*'nın  $\beta$ -pinen, *E. camaldulensis*'in 1,8-sineol, *J. communis* var. *communis*'in bornil asetat olduğu belirlenmiştir. Her bitkiden elde edilen uçucu yağlar tek tek incelenmiş ve içeriğindeki hangi bileşenlerin anti-biyofilm aktivitesi olduğu belirlenmeye çalışılmıştır. Bu kapsamda *P. brutia*'dan elde edilen beş terpen bileşiği, *P. nigra* subsp. *pallasiana*'dan elde edilen oniki terpen bileşiği, *E. camaldulensis*'den elde edilen beş terpen bileşiği, *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*'dan elde edilen on terpen bileşiği, *J. communis* var. *communis*'den elde edilen ondört terpen bileşiği, *J. excelsa* subsp. *excelsa*'dan elde edilen dokuz terpen bileşiği, *J. phoenicea*'dan elde edilen 17 terpen bileşiği, tezin önemini anlatmak ve yorumlama getirebilmek için kısa kısa teorik bilgilerle ele alınarak aşağıda verilmiştir.

Pinenler bisiklik monoterpenlerin kimyasal bileşiğidir. Doğal olarak pinenlerin iki yapısal izomeri vardır ( $\alpha$ -pinen ve  $\beta$ -pinen). Her iki formda önemli miktarda reçine içerir (Mann ve diğ. 1994). Bu iki izomer birçok bitki-böcek ilişkisinde önemli rollere sahiptir (Cristaldo ve diğ. 2015; Szmigielski ve diğ. 2011).  $\alpha$ -Pinen ve  $\beta$ -pinen çeşitli biyolojik aktivitelere sahiptir. Yapılan çalışmalarda  $\alpha$ -pinen ve  $\beta$ -pinenlerin anti-mikrobiyal ve bakterisidal aktiviteleri



gösterilmiştir ayrıca anti-fungal aktiviteye de sahip olduğu bulunmuştur (da Silva ve diğ. 2012). Fosfolipaz ve esteraz aktiviteleri vardır ve sıçan makrofajlarına karşı sitotoksik etki göstermektedir (Couladis ve diğ. 2003; da Silva ve diğ. 2012). Yaptığımız çalışma sonucunda  $\alpha$ -pinen tüm türlerde bulunurken;  $\beta$ -pinen *P. brutia*, *J. excelsa* subsp. *excelsa*, *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* ve *J. phoenicea* türlerinde bulunmuştur.  $\alpha$ -Pinen en çok *J. excelsa* subsp. *excelsa* 'da türünde,  $\beta$ -pinen en çok *P. brutia* türünde bulunmaktadır.  $\beta$ -Pinenler ve linalool antidepresan aktiviteye sahiptir (Guzmán-Gutiérrez ve diğ. 2015).

Terpenler, terpenoidler olarak sınıflandırılan izomerik hidrokarbonların bir grubudur. Her ikisinin de aynı molekül formülü ve karbon çerçevesi vardır, ancak karbon-karbon çift bağlarının konumları farklıdır.  $\alpha$ -Terpinen, *Origanum* yağlarından ve diğer doğal kaynaklardan izole edilmiştir.  $\gamma$ -Terpinen çeşitli bitki türlerinde sıklıkla bulunmaktadır.  $\alpha$ -Terpinen ve  $\gamma$ -terpinenlerin antimikrobiyal aktiviteleri yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Giweli ve diğ. 2012; Jagannath ve diğ. 2012; Carson ve Riley 1995). Bizim çalışmamızda *J. communis* var. *communis* ve *J. phoenicea*'nın  $\gamma$ -terpinen içerdiği görülmüştür.

Terpinol bir monoterpen alkol olup, çam yağı gibi çeşitli kaynaklardan izole edilmiştir.  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -terpineol ve terpinen-4-ol olmak üzere dört izomeri vardır.  $\beta$ - ve  $\gamma$ -terpineol sadece çift bağın yeri ile farklılık gösterir. Terpineol genellikle bu izomerlerin bir karışımıdır ve ana bileşen olarak  $\alpha$ -terpineol kullanılır.  $\alpha$ -Terpineol ve terpinen-4-ol özellikle gram (-) patojen bakterilerde bakterisidal aktiviteye sahiptir (Kotana ve diğ. 2007; Oyedemi ve diğ. 2008; Carson ve Riley 1995). *P. nigra* subsp. *pallasiana*, *J. excelsa* subsp. *excelsa*, *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*, *J. communis* var. *communis*, *J. phoenicea* ve *E. camaldulensis*  $\alpha$ -terpineol içerirken, *J. phoenicea*'nın terpinen-4-ol içerdiği görülmektedir.

Linalool, pek çok çiçek ve baharat bitkisinde bulunan hoş kokulu, birçok ticari uygulamaya sahip doğal olarak bulunan terpendir. Çoğunlukla Lamiaceae, Lauraceae ve Rutaceae familyasına ait 200'den fazla bitki türünde linalool bulunmaktadır. Linalool, ticari olarak kokusundan dolayı parfümlerde ve sabun, deterjan, şampuan, losyonları içeren hijyen ürünlerinin %60-80'inde temizleme maddesi olarak kullanılır.  $\alpha$ -Terpineol ve linalool periodontopatik ve karyojenik

bakterilere karşı anti-bakteriyel aktiviteye sahiptir (Park ve diğ. 2012). Yaptığımız çalışmada *J. phoenicea*  $\alpha$ -terpineol ve linalool bileşimine sahiptir.

Tujen, monoterpen olarak sınıflandırılmış bir organik bileşiktir. Çeşitli bitkilerin uçucu yağlarında bulunur. Tujen terimi genellikle  $\alpha$ -tujen işaret eder. Daha az bilinen bir kimyasal bağa sahip  $\beta$ -tujen'de bulunmaktadır. Bir başka çift bağ izomer sabinen olarak bilinir.  $\alpha$ -Tujen ve sabinen antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteye sahiptir (Kelen ve Tepe 2008; Glisic ve diğ. 2007). Yaptığımız çalışmada, *J. communis* var. *communis*  $\alpha$ -tujen ve sabinen içerdiği görülmüştür.

Kamfen bisiklik monoterpendir. Suda neredeyse çözünmez, ancak organik çözücüler içinde çok çözünür. Oda sıcaklığında kolaylıkla uçucu hale gelir ve keskin kokusu vardır. Endüstriyel olarak  $\alpha$ -pinen'in katalitik izomerleşmesiyle üretilir. Kamfen, kokuların hazırlanmasında ve tatlandırıcı katkı maddesi olarak kullanılır. Ayrıca yapılan çalışmalarda kamfenin antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir (Alma ve diğ. 2004; Polatogu ve diğ. 2010). Çalışmamızda *P. nigra* subsp. *pallasiana*, *J. excelsa* subsp. *excelsa*, *J. communis* var. *communis* ve *J. phoenicea* türlerinin kamfen bileşiği içerdiği görülmüştür.

$\beta$ -Mirsen, olefinik bir hidrokarbondur. Defne, kekik, maydanoz ve şerbetçiotu gibi çeşitli bitkilerin uçucu yağının bir bileşenidir. Çalışılan tüm bitkiler,  $\beta$ -mirsen bileşiğini içerdiği görülmüştür.

Limonen, siklik terpen olarak sınıflandırılan renksiz bir hidrokarbondur. Daha yaygın olarak bulunan d-izomerinin güçlü bir portakal kokusu vardır. Daha az yaygın olan d-izomer nane yağlarında bulunur ve çam fıstığı benzeri bir koku içerir. Limonen,  $\beta$ -pinen ve  $\beta$ -mirsen birlikte antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Sela ve diğ. 2015). Çalışılan tüm bitkilerin mirsen bileşiğini içerdiği görülmüştür. *P. nigra* subsp. *pallasiana*, *P. brutia*, *J. excelsa* subsp. *excelsa*, *J. communis* var. *communis* ve *J. phoenicea* d-limonen bileşiğini içerdiği görülmüştür. *P. brutia*, *J. excelsa* subsp. *excelsa* ve *J. phoenicea* d-limonen,  $\beta$ -pinen ve  $\beta$ -mirsen'nin üçünü birden ihtiva etmektedir.

Karen veya delta-3-karen, doğal olarak terebentin bileşeni olarak meydana gelen ve kaynağa bağlı olarak %42 gibi yüksek bir içeriğe sahip olan

bisiklik bir monoterpendir. Karenin tatlı ve keskin kokusu var. Karen antimikrobiyal aktiviteye sahiptir (Glamoçlija ve diğ. 2011). Bizim çalışmamızda *P. brutia* ve *J. phoenicea* 'nın karen içerdiği görülmüştür.

Tujone, doğal olarak iki diastereomerik formu olan monoterpendir:  $\alpha$ -tujone ve  $\beta$ -tujone. Tujone, birkaç uçucu yağın bir bileşeni olan GABA'ya bağlı olarak parfümeride de kullanılır. Tujone bileşiğinin antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir (Miladinović ve Miladinović 2000). *J. communis* var. *communis*  $\alpha$ -tujone ve  $\beta$ -tujone ihtiva etmektedir.

Fellandren, moleküler yapısı ve kimyasal özellikleri birbirine benzeyen iki organik bileşiğin adıdır ( $\alpha$ -fellandren ve  $\beta$ -fellandren). Her ikisi de suda çözünmez, ancak eter ile karışabilir. Antimikrobiyal aktiviteye sahiptir (Dai ve diğ. 2013). Bizim çalışmamızda *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*  $\beta$ -fellandren içerdiği görülmüştür.

1,8-Sineol siklik bir eter ve bir monoterpenoiddir. Gargara ve balgam söktürücü olarak kullanılmaktadır. Ayrıca böcek kovucu ve böcek öldürücü olarak ta kullanılmakta ve antimikrobiyal aktiviteye sahiptir (Li ve diğ. 2014; Hendry ve diğ. 2009). Sadece bitkilerimizden *E. camaldulensis* çok yüksek miktarda 1,8-sineol içermektedir.

Pinokarveol birbirine kaynaşmış iki halka içeren bisiklik monoterpendir. Kamfor ise güçlü bir aromaya sahip mumlu, yanıcı, beyaz veya şeffaf bir bileşiktir. Kamfor, terebentin yağından sentetik olarak üretilebilir. Pinocarvenol ve kamfor antimikrobiyal ve antioksidan özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir (Mothana ve diğ. 2012). Bizim çalışmamızda *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* pinokarveol içerirken, *J. communis* var. *communis* kamfor içerdiği görülmüştür.

Linalil asetat, birçok çiçek ve baharat bitkisinde bulunmaktadır. Bergamot ve lavanta yağlarının temel bileşenlerinden biridir. Kimyasal olarak, linalol asetat esteridir. Linalil asetat, anti-inflamatuvar etkiye sahiptir (Peanu ve diğ. 2002). Antimikrobiyal ve antifungal etkileri de vardır (Stappen ve diğ. 2015). Türlerimizden sadece *J. phoenicea* 'nın linalil asetat içerdiği görülmüştür.

Karyofillen veya trans- $\beta$ -karyofillen, pek çok esans yağının, özellikle karanfil yağı, olarak bilinen doğal bisiklik terpendir.  $\beta$ -Karyofillen'nin böcek öldürücü (Rodilla ve diğ. 2008; Omolo ve diğ. 2004), antimikrobiyal (Goren ve diğ. 2011; Cheng ve diğ. 2004), lokal anestetik (Ghelardini ve diğ. 2001), anti-karsinojenik (Silva ve diğ. 2007; Kubo ve diğ. 1996) ve anti-inflamatuvar (Tung ve diğ. 2008; Chavan ve diğ. 2010) aktiviteleri vardır. Ayrıca  $\alpha$ -humulen'in antikanserojenik etkisi vardır (Legault ve Pichette 2007). Yaptığımız çalışma sonucunda, *P. nigra* subsp. *pallasiana* ve *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*  $\alpha$ -humulen içerirken, *P. nigra* subsp. *pallasiana*'nın karyofillen oksit içerdiği görülmüştür.

Kadinenler, uçucu yağ üreten çok çeşitli bitkilerde bulunan bir dizi izomerik hidrokarbonun kimyasal adıdır. Kimyasal olarak, kadinenler bisiklik seskiterpenlerdir. "Kadinen" terimi, kadalen karbon iskeletine atıfta bulunmak için kullanılmıştır. Kadinenlerin kanser hücrelerine karşı sitotoksik etki gösterdiği, ayrıca antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları rapor edilmektedir (Ornano ve diğ. 2015; Vukovic ve diğ. 2007). *P. nigra* subsp. *pallasiana*, *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*, *J. communis* var. *communis* ve *J. phoenicea*'nın  $\delta$ -kadinen içerdiği görülmüştür.

Viridiflorol bir seskiterpendir. Anti-inflamatuvar, antioksidan ve antibakteriyel aktiviteye sahiptir (Trevizan ve diğ. 2016). Yaptığımız çalışma sonucu *E. camaldulensis*'in viridiflorol içerdiği tespit edilmiştir.

Sedrol, bilhassa *Cupressus* (servi) ve *Juniperus* (ardıç) cinsinde, kozalaklı ağaçların (sedir yağı) uçucu yağında bulunan bir seskiterpen alkoldür. Ayrıca *Origanum onites* L. 'de de tespit edilmiştir. Sedrol zehirli ve kanserojen özelliklere sahiptir. Antifungal ve antibakteriyel aktiviteye sahip değildir (Kiran ve diğ. 2010). Çalışmamız sonucunda *J. phoenicea* ve *J. excelsa* subsp. *excelsa*'nın sedrol içerdiği görülmektedir.

$\alpha$ -Kadinol, seskiterpenoid alkol bileşiğidir. Bu bileşik, pek çok bitkinin esans yağları ve ekstraktlarında bulunur.  $\alpha$ -Kadinol'ün anti-mantar ve karaciğer koruyucu olarak rol aldığı ve ilaca dirençli tüberküloz için olası bir çare olarak

önerildiği bildirilmiştir (Ho ve diğ. 2011; Tung ve diğ. 2011). Çalışmamız sonucunda *J. phoenicea*'nın  $\alpha$ -kadinol içerdiği tespit edilmiştir.

Tezin ikinci aşamasında, elde edilen uçucu yağların biyofilm oluşumunu engelleyerek anti-biyofilm aktiviteleri incelenmiştir. Bakteriler biyofilm oluşumuna neden olarak infeksiyonlara yol açmaktadır (Otto 2008). Biyofilmin tedavi ve immün sisteme direnç oluşturması nedeniyle kronik enfeksiyon oluşumunda önemli bir yeri vardır. Günümüzde antibiyotiklere artan direnç nedeniyle enfeksiyon tedavisi yetersizdir. Belkide önümüzdeki yıllarda antibiyotik tedavileri geçersiz olacaktır. Bu yüzden bilim insanları doğal yollarla tedavi arayışına girmişlerdir. Aromatik bitkiler ve bunlardan elde edilen uçucu yağlar, yüzyıllardan beri halk arasında hastalıkların tedavisi amacıyla kullanılmaktadır. Biyofilm oluşturduğu bilinen *Y. enterocolitica*, *S. aureus*, *E. coli*, *E. faecalis*, *S. sciuri* M16 (klinik izolat) ve *E. faecium* M20 (klinik izolat) suşları kullanılarak çeşitli konsantrasyonlarda *P. nigra* subsp. *pallasiana*, *P. brutia*, *J. excelsa* subsp. *excelsa*, *J. foetidissima*, *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*, *J. communis* var. *communis* ve *E. camaldulensis* türlerinden elde edilen uçucu yağların anti-biyofilm etkisi incelenmiştir.

Yapılan çalışmalarda *P. nigra* subsp. *pallasiana*'nın *S. aureus*, *E. coli*, *E. faecalis* üzerinde anti-biyofilm etkileri çalışılmıştır. Maksimum inhibitör etkisini *E. coli* ve *E. faecalis* gösterirken, *S. aureus* daha az inhibitör etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Nasrollahzadeh-Sabet ve diğ. 2013; Diğrak ve diğ. 1999).

*P. brutia* ve *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium smegmatis*, *Proteus vulgaris*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis* ve *Penicillium italicum* türlerinde antimikrobiyal aktiviteye sahiptir (Diğrak ve diğ. 1999). *P. brutia*, *Y. enterocolitica*, *S. aureus* ve *E. coli*'de %100 inhibitör etkiye sahipken, *S. sciuri* M16 *E. faecium* M20 (klinik izolat), *E. faecalis*'de daha az antimikrobiyal etkiye sahiptir. *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* *S. sciuri* M16'nın 24 ve 48. saatinde *S. aureus* ve *E. faecium*'un 24. saatinde hiçbir etki göstermezken, en yüksek inhibisyonu *Y. enterocolitica*'da göstermiştir.

*J. communis*'in Gram (+) ve Gram (-) bakterilerde antimikrobiyal aktivitesi çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir (Pepeljnjak ve diğ. 2005; Marino ve diğ. 2010). *S. sciuri* M16 24 ve 48. saatinde *E. faecium* M20 ve *E. faecium*'ın 48. saatinde anti-biyofilm etkisi gözlenmezken ve yine en yüksek anti-biyofilm etkisi *Y. enterocolitica*'da gözlenmiştir.

*J. excelsa* ve *J. phoenicea*'nunda Gram (+) ve Gram (-) bakterilerde anti-mikrobiyal aktivitesi gösterilmiştir (Moein ve diğ. 2010; Ennajar ve diğ. 2009) *J. excelsa* subsp. *excelsa*, *S. sciuri* M16 ve *S. aureus*'da antibakteriyel etki göstermezken en yüksek anti-mikrobiyal aktivite *Y. enterocolitica*'da göstermiştir. *J. phoenicea*'da ise en yüksek etki *Y. enterocolitica*'da *E. coli*'de gözlenmiştir.

*E. camaldulensis* *Klebsiella* spp, *Salmonella typhi*, *Y. enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus* ve *Bacillus subtilis* üzerinde antimikrobiyal aktiviteye sahiptir (Ayepola ve Adeniyi 2008; Pandey ve Singh 2014). Bizim yaptığımız çalışmada *Y. enterocolitica* ve *E. coli*'nin 24. saatinde en yüksek aktiviteye sahiptir.

Ayrıca, SEM fotomikrografları suşların biyofilm oluşumları ve uygulanan yağların anti-biyofilm özelliğine sahip olduğunu kanıtlamıştır. Kantitatif tayin ile benzerlik göstermektedir. En iyi anti-biyofilm aktivitesi, *P. nigra* subsp. *pallasiana* türünde *S. sciuri* M16 suşunda 24. saate gözlenmiştir. SEM analizinde hücrelerin topluluklar halinde veya tek hücreler şeklinde olduğu görülmüştür. Ayrıca yine SEM analizi sonucunda *P. nigra* subsp. *pallasiana* türünde M16 suşunun biyofilm oluşumunun inhibe olduğu gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, bu bitkilerin uçucu yağlarının anti-biyofilm aktivitelerinin olduğunu göstermektedir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada ülkemizde yayılış gösteren çeşitli ağaç türlerinden elde edilen uçucu yağların çeşitli bakteri suşlarında anti-biyofilm aktivitesi incelenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucu elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal aktiviteleri 6 bakteri üzerinde test edilmiştir. Kullanılan bitkilerden elde edilen uçucu yağların farklı bakteriler üzerinde antibakteriyel etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. Bu yağların genel olarak hepsinin *Y. enterocolitica* üzerinde; ayrıca *P. nigra* subsp. *pallasiana*, *P. brutia*, *E. camaldulensis*, *J. communis*, *J. phoenicea*'dan elde edilen yağların *E. coli* üzerinde; *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*, *J. phoenicea*, *E. camaldulensis*, *P. nigra* subsp. *pallasiana*'dan elde edilen yağların *E. faecium* bakterisi üzerinde; *P. nigra* subsp. *pallasiana*, *P. brutia*, *E. camaldulensis*, *J. oxycedrus*'dan elde edilen yağların *S. aureus* bakterisi üzerinde; *J. oxycedrus*, *J. phoenicea*, *P. nigra* subsp. *pallasiana* ve *E. camaldulensis* türlerinden elde edilen yağların *E. faecalis* bakterisi üzerinde önemli oranda anti-biyofilm etkisi gözlenmiştir. Elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal aktiviteleri bu altı bakteri haricinde farklı mikroorganizmalar üzerinde de incelenip, aktivite gösterip göstermedikleri sonraki çalışmalarda araştırılabilir. Ayrıca bu yağların içeriğinde bileşikler tek tek denenerek antimikrobiyal aktivitenin hangisi bileşiğin etkisi olduğu araştırılmalıdır. Bu tez çalışması ile yeni antibakteriyel aktivite gösteren maddelerin eldesi mümkün olmuştur. Elde edilen verilerin ilaç sektöründe ve antibakteriyel tedavilerde kullanılabilir hale gelmesi için daha fazla verilerle desteklenmelidir. Bu çalışma yapılacak diğer çalışmalar için öncü olabilecek niteliktedir. Ayrıca bugün mevcut kemoterapötiklere hızla direnç geliştiren ve tedavisi her geçen gün zorlaşan bazı enfeksiyon ve bakteriyel hastalıklarının etmenlerinin de ileride kontrol altına alınması bu ve benzeri çalışmaların katkısıyla söz konusu olabilir. Uçucu yağ ve bileşenlerinin farmakolojik özellikleri de incelenerek tıp, kozmetik ve endüstriyel alanlarda kullanılabilme imkânlarının yararlı olabileceği düşünülmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

- Adams, R.P., *Junipers of the World: The Genus Juniperus*, 53-55, (2011).
- Akgül, A., Kıvanç, M., 'Inhibitory effects of selected Turkish species and Oregano components on some foodborne fungi', *Int. J. of Food Microbio.*, 6(3), 263-268, (1988).
- Al-Howiriny, T.A., 'Composition and antimicrobial activity of essential oil of *Salvia lanigera*', *Pakistan J. of Biolog. Scien.*, 6(2), 133-135, (2003).
- Alma, M.H., Nitz, S., Kollmannsberger, H., Digrak, M., Efe, F.T., Yilmaz, N., 'Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from the gum of Turkish pistachio (*Pistacia vera* L.)', *J. Agric. Food Chem.*, 52(12), 3911-4, (2004).
- Alqasoumi, S.I., Farraj, A.I., Abdel-Kader, M.S. 'Study of the hepatoprotective effect of *Juniperus phoenicea* constituents', *Pak. J. Pharm. Sci.*, 26(5), 999-1008, (2013).
- Amorena, B., Gracia, E., Monzon, M., Leiva, J., Oteiza, C., Perez, M., Alabart, J. L. and Hernandez-Yago, J., 'Antibiotic susceptibility assay for *Staphylococcus aureus* in biofilms developed in vitro', *J. Antimicrob. Chemoth.*, 44, 43-55, (1999).
- Ayepola, O.O., Adeniyi, B.A., 'The antibacterial activity of leaf extracts of *Eucalyptus camaldulensis* (Myrtaceae)', *J. of App. Scien. Research.*, 4(11), 1410-1413, (2008).
- Azzimonti, B., Cochis, A., Beyrouthy, M.E., Iriti, M., Uberti, F., Sorrentino, R., Landini, M.M., Rimondini, L., Varoni, E.M. 'Essential Oil from Berries of Lebanese *Juniperus excelsa* Bieb. subsp. *excelsa* M. Bieb Displays Similar Antibacterial Activity to Chlorhexidine but Higher Cytocompatibility with Human Oral Primary Cells', *Molecules*, 20(5), 9344-57, (2015).
- Azzouz, M.A., Bullerman, L.B., 'Comparative antimycotic effects of selected herbs, spices, plant components and commercial antifungal agents', *J. of Food Protec.*, 45(14), 1298-1301, (1982).
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M., 'Biological effects of essential oils- A review', *Food and Chem. Toxicol.*, 46(2), 446-475, (2008).



- Behrendt, C.J., Blanchette, R.A., 'Biological Processing of Pine Logs for Pulp and Paper Production with *Phlebiopsis gigantea*', *Appl. Environ. Microbiol.*, 63(5), 1995-2000, (1997).
- Ben Ali, M.J., Guesmi, F., Harrath, A.H., Alwasel, S., Hedfi, A., Ncib, S., Landoulsi, A., Aldahmash, B., Ben-Attia, M. 'Investigation of antiulcer and antioxidant activity of *Juniperus phoenicea* L. (1753) essential oil in an experimental rat model', *Biol. Pharm. Bull.*, 38(11), 1738-46, (2015).
- Bishop, C.D., 'Antiviral activity of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (Maiden and Betche) Cheel (tea tree) against tobacco mosaic virus', *J. of Essential Oil Research.*, 7(6), 641- 644, (1995).
- Boyle, W., 'Spices and essential oils as preservatives', *The American Perfumer and Essential Oil Review*, 66, 25-28, (1955).
- Carson, C.F., Riley, T.V., 'Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*', *J. Appl. Bacteriol.*, 78(3), 264-9, (1995).
- Çelik, E., Çelik, G.Y., 'Bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal özellikleri', *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi* 5(2), 1-6 (2007).
- Chaftar, N., Girardot, M., Labanowski, J., Ghrairi, T., Hani, K., Frere, J., Imbert, C., 'Comparative evaluation of the antimicrobial activity of 19 essential oils', *Adv. Exp. Med. Biol.* 901, 1-15, (2016).
- Chavan, M.J., Wakte, P.S., Shinde, D.B., 'Analgesic and anti-inflammatory activity of karyofillen oksit from *Annona squamosa* L. Bark', *Phytomedicine*, 17, 149–151, (2010).
- Cheng, S.S., Wu, C.L., Chang, H.T., Kao, Y.T., Chang, S.T., 'Antitermitic and antifungal activities of essential oil of *Calocedrus formosana* leaf and its composition', *J. Chem. Ecol.*, 30, 1957–1967, (2004).
- Couladis, M., Chinou, B., Tzakou, O., Petrakis, P.V., 'Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Hypericum rumeliacum* subsp. *apollinis* (Boiss. & Heldr.)', *Phytother. Res.*, 17, 152–154, (2003).
- Cretu, E., Miron, S.D., Miron, A., 'Bioactivity screening of *Pinus brutia* bark extracts: superoksit dismutase-like and nitric oksit scavenging effects', *Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat. Iasi.*, 117(2), 551-7, (2013).
- Cristaldo, P.F., Jandák, V., Kutalová, K., Rodrigues, V.B., Brothánek, M., Jiříček, O., DeSouza, O., Šobotník, J., 'The nature of alarm communication in *Constrictotermes cyphergaster* (Blattodea: Termitoidea: Termitidae): the integration of chemical and vibroacoustic signals', *Biol. Open*, 4(12), 1649-59. (2015).

- da Silva, A.C.R., Lopes, P.M., Azevedo, M.M.B., Costa, D.C.M., Alviano, C.S., Alviano D.S., 'Biological activities of  $\alpha$ -pinen and  $\beta$ -pinen enantiomers', *Molecules*, 17, 6305-6316, (2012).
- Dai, J., Zhu, L., Yang, L., Qiu, J., 'Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil from *Wedelia prostrata*' *Excli. J.*, 12, 479–490, (2013).
- Davis, P.H., 'Flora of Turkey and the East Aegean Islands'2", 167-68., Univ. Press, Edinburgh, (1984).
- Diğrak, M., İlçim, A., Hakki Alma, M., 'Antimicrobial activities of several parts of *Pinus brutia*, *Juniperus oxycedrus*, *Abies cilicia*, *Cedrus libani* and *Pinus nigra* Arn. subsp. *pallasiana*', *Phytother. Res.*, 13(7), 584-7, (1999).
- Eliopoulos, G.M., 'Vancomycin-resistant enterococci', *Infect. Dis. Clin. North. Am.*, 11, 851-65, (1997).
- Eloff, J.N., 'Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants?', *J. Ethnopharmacol.*, 60, 1-8, (1998).
- Emami, S.A., Abedindo, B.F., Hassanzadeh-Khayyat, M. 'Antioxidant activity of the essential oils of different parts of *Juniperus excelsa* Bieb. subsp. *excelsa* M. Bieb. subsp. *excelsa* and *J. excelsa* M. Bieb. subsp. *polycarpus* (K. Koch) Takhtajan (Cupressaceae)', *Iran J. Pharm. Res.*, 10(4), 799-810, (2011).
- Emami, S.A., Shahani, A., Hassanzadeh Khayyat, M., 'Antioxidant activity of leaves and fruits of cultivated conifers in Iran', *Jundishapur J. Nat. Pharm. Prod.*, 8(3), 113-7, (2013).
- Ennajar, M., Bouajila, J., Lebrihi, A., Mathieu, F., Abderraba, M., Raies, A., Romdhane, M., 'Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of essential oils and various extracts of *Juniperus phoenicea* L. (Cupressaceae)', *J. Food Sci.*, 74(7), M364-71, (2009).
- Fabry, W., Okemo, P.O. and Ansorg, R., 'Antibacterial activity of East African medicinal plants', *J. Ethnopharmacol.*, 60, 79-84, (1998).
- Ghelardini, C., Galeotti, N., Mannelli, L.D.C., Mazzanti, G., Bartolini, A., 'Local anaesthetic activity of  $\beta$ -karyofillen', *Il Farmaco*, 56, 387–389, (2001).
- Giweli, A., Džamić, A.M., Soković, M., Ristić, M.S., Marin, P.D., 'Antimicrobial and antioxidant activities of essential oils of *Satureja thymbra* growing wild in Libya', *Molecules*, 17(5), 4836-50, (2012).

Glamočlija, J.M., Soković M.D., Šiljegović, J.D., Ristić, M.S., Ćirić, A.D., Grubišić, D.V., 'Chemical composition and antimicrobial activity of *Echinophora spinosa* L. (Apiaceae) essential oil', *Rec. Nat. Prod.*, 5, 4, 319-323, (2011).

Glisic, S.B., Milojevic, S.Z., Dimitrijevic, S.I., Orlovic, A.M., Skala, D.U., 'Antimicrobial activity of the essential oil and different fractions of *J. communis* L. and a comparison with some commercial antibiotics', *J. Serb. Chem. Soc.*, 72 (4), 311–320, (2007).

Goren, A.C., Piozzi, F., Akcicek, E., Kılıç, T., Çarıkçı, S., Mozioglu, E., Setzer, W.N., 'Essential oil composition of twenty-two *Stachys* species (mountain tea) and their biological activities', *Phytochem. Lett.*, 4, 448–453. 95, (2011).

Grassmann, J., Elstner, E.F., 'Essential oils/properties and uses', *Encyclopaedia of Food Science Food Technology and Nutrition*, 2177-2184 p. (2003).

Gülçin, I., Büyükokuroglu, M.E., Oktay, M., Küfrevioğlu, O.I. 'Antioxidant and analgesic activities of turpentine of *Pinus nigra* Arn. subsp. *pallsiana* (Lamb.) Holmboe', *J. Ethnopharmacol.*, 86(1), 51-8, (2003).

Guzmán-Gutiérrez, S.L., Bonilla-Jaime, H., Gómez-Cansino, R., Reyes-Chilpa, R., 'Linalool and  $\beta$ -pinen exert their antidepressant-like activity through the monoaminergic pathway', *Life Sciences*, 128, 24-29, (2015).

Hajhashemi, V., Ghannadi, A., Sharif, B., 'Anti-inflammatory and analgesic properties of the leaf extracts and essential oil of *Lavandula angustifolia* Mill.', *J. Ethnopharmacol.*, 89(1), 67–71, (2003).

Halendar, I.M., Alakomi, H.L., Latva-Kala, K., Mattila-Sandhom, T., Pol, I., Smid, E.J., Gorris, L.G. M., von Wright, A., 'Characterisation of the action of selected essential oil components on gram negative bacteria', *J. of Agricultural and Food Chemistry*, 46(9), 3590–3595, (1998).

Hanène, M., Ameer, E., Larbi, K.M., Piras, A., Porcedda, S., Falconieri, D., Marongiu, B., Farhat, F., Chemli, R., 'Chemical composition of the essential oils of the berries of *Juniperus oxycedrus* L. ssp. *rufescens* (L. K.) and *Juniperus oxycedrus* L. ssp. *macrocarpa* (S. & m.) Ball. and their antioxidant activities', *Nat. Prod. Res.*, 26(9), 810-20, (2012).

Hendry, E.R., Worthington, T., Conway, B.R., Lambert, P.A., 'Antimicrobial efficacy of eucalyptus oil and 1,8-sineol alone and in combination with chlorhexidine digluconate against microorganisms grown in planktonic and biofilm cultures', *J. Antimicrob. Chemother.*, 64 (6), 1219-1225, (2009).

Henning, K., Brown, A.E., 'Vancomycin-resistant Enterococci', *Infect. Med.*, 12,17-9, (1997).

Herman, A., Tambor, K., Herman, A., ‘Linalool affects the antimicrobial efficacy of essential oils’, *Curr. Microbiol.*, 72(2),165-72 (2016).

Ho, C.L., Liao, P.C., Wang EI Su, Y.C., ‘Composition and antifungal activities of the leaf essential oil of *Neolitsea parvigemma* from Taiwan’, *N. Product Communications.*, 6 (9), 1357–60, (2011).

İlçim, A., Dığrak, M ve Bağcı, E., ‘Bazı bitki ekstraktlarının antimikrobiyal etkilerinin araştırılması’, *J. of Biology*, 22, 119-125, (1998).

Inuma, M., Tosa, H., Tanaka, T., Kanamaru, S., Asai, F., Kobayashi, Y., Miyauchi, K. and Shimano, R. ‘Antibacterial activity of some garcinia benzophenone derivatives against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*’ *Biol. Pharm. Bull.*, 19 (2), 311-314 (1996).

Jagannath, N., Ramakrishnaiah, H., Krishna, V., Gowda, P.J., ‘Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Heracleum rigens.*’, *Nat. Prod. Commun.*, 7(7), 943-6, (2012).

Jayashree, T., Subramanyam, C., ‘Antiaflatoxic activity of eugenol is due to inhibition of lipid peroxidation’, *Letters in Applied Microbiology* 28(3), 179-183, (1999).

Johnson, A.P., ‘Reviews: The patogenicity of enterococci’, *J. Antimicrob. Chemother.*, 33, 1083-9, (1994).

Kalaycıoğlu, A. ve Öner C., ‘Bazı bitki ekstraktlarının antimutajenik etkilerinin ames–salmonella test sistemi ile araştırılması’, *J. of Botany* 18, 117 – 122, (1994).

Kelen, M., Tepe, B., ‘Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora’, *Bioresour. Technol.*, 99(10), 4096-104, (2008).

Kiran, I., Durceylan, Z., Kirimer, N., Baser, K.H., Noma, Y., Demirci, F., ‘Biotransformation of alpha-sedrol and karyofillen oksit by the fungus *Neurospora crassa*’, *Nat. Prod. Commun.*, 5(4), 515-8, (2010).

Kotana, R., Kordalic, S., Cakird, A., ‘Screening of antibacterial activities of twenty-one oxygenated monoterpenes’, *Naturforsch.*, 62 c, 507-513, (2007).

Kubo, I., Chaudhuri, S.K., Kubo, Y., Sanchez, Y., Ogura, T., Saito, T., Ishikawa, H., Haraguchi, H., ‘Cytotoxic and antioxidative sesquiterpenoids from *Heterotheca inuloides*’, *Planta Med.*, 62, 427–430, (1996).

Lee, H.S., Ahn, Y.J., ‘Growth-inhibiting effects of *Cinnamomum cassia* bark-derived materials on human intestinal bacteria’, *J. Agri. Food Chem.*, 46(1), 8-12, (1998).

Legault, J., Pichette, A., 'Potentiating effect of beta-caryophyllene on anticancer activity of alpha-humulene, isocaryophyllene and paclitaxel', *J. Pharm. Pharmacol.*, 59(12), 1643-7, (2007).

Li, L., Li, Z.W., Yin, Z.Q., Wei, Q., Jia, R.Y., Zhou, L.J., Xu, J., Song, X., Zhou, Y., Du, Y.H., Peng, L.C., Kang, S., Yu, W., 'Antibacterial activity of leaf essential oil and its constituents from *Cinnamomum longepaniculatum*', *Int. J. Clin. Exp. Med.*, 7(7), 1721–1727, (2014).

Lowy, F. D., 'Staphylococcus aureus infections', *N. Engl. J. Med.*, 339, 520-532, (1998).

Mann, J., Davidson, R.S., Hobbs, J.B., Banthorpe, D.V., Harborne, J.B., 'Natural Products', Harlow, UK: Addison Wesley Longman Ltd. pp. 309–311, (1994).

Marino, A., Bellinghieri, V., Nostro, A., Miceli, N., Taviano, M.F., Güvenç, A., Bisignano, G., 'In vitro effect of branch extracts of *Juniperus* species from Turkey on *Staphylococcus aureus* biofilm', *FEMS. Immunol. Med. Microbiol.*, 59(3), 470-476, (2010).

Miladinović, D., Miladinović, Lj., 'Antimicrobial activity of essential oil of age from Serbia', *Physics, Chemistry and Technology*, 2(2), 97-100, (2000).

Misharina, T.A., Terenina, M.B., Krikunova, N.I. 'Antioxidant properties of essential oils', *Prikl. Biokhim. Mikrobiol.*, 45(6), 710-6, (2009).

Moein, M.R., Ghasemi, Y., Moein, S., Nejati, M., 'Analysis of antimicrobial, antifungal and antioxidant activities of *Juniperus excelsa* Bieb. subsp. *excelsa* M. B subsp. *polycarpus* (K. Koch) Takhtajan essential oil', *Pharmacognosy Res.*, 2(3), 128–131, (2010).

Moellering, R.C., 'Emergence of enterococcus as a significant pathogen', *Clin. Infect. Dis.*, 14, 1173-8, (1992).

Montecalvo, M.A., Horowitz, H., Gedris, C., et al., 'Outbreak of vancomycin-, ampicillin-, and aminoglycoside-resistant *Enterococcus faecium* bacteremia in an adult oncology unit', *Antimicrob. Agents Chemother.*, 38, 1363-7, (1994).

Mothana, R.A., Alsaid, M.S., Hasoon, S.S., Al-Mosaiyb, N.M., Al-Rehaily, A.J., Al-Yahya, M.A., 'Antimicrobial and antioxidant activities and gas chromatography mass spectrometry (GC/MS) analysis of the essential oils of *Ajuga bracteosa* Wall. ex Benth. and *Lavandula dentata* L. growing wild in Yemen', *J. of Medicinal Plants Research*, 6(15), 3066-3071, (2012).

Nakipoğlu, M. ve Otan H., 'Tıbbi Bitkilerin Flavonitleri, Anadolu', *J. of AARI*, 4 (1), 70 – 93, (1992).

- Nasrollahzadeh-Sabet, M., Tabaei-Aghdaei, S.R., Imani, A., 'Investigate the antibacterial effect of black pine essence (*Pinus nigra* Arn. subsp. *pallasiana*) against the bacteria *E.coli*, *Staphylococcus aureus* and *E. faecalis* in three province of Ardabil, Gilan and Tehran', *European Journal of Zoological Research*, 2 (4), 76-81, (2013).
- Omolo, M.O., Okinyo, D., Ndiege, I.O., Lwande, W.L., Hassanali, A., 'Repellency of essential oils of some Kenyan plants against *Anopheles gambiae*', *Phytochemistry*, 65, 2797–2802, (2004).
- Ornano, L., Venditti, A., Sanna, C., Ballero, M., Maggi, F., Lupidi, G., Bramucci, M., Quassinti, L., Bianco, A., 'Chemical composition and biological activity of the essential oil from *Helichrysum microphyllum* Cambess. ssp. *tyrrhenicum* Bacch., Brullo e Giusso growing in La Maddalena Archipelago, Sardinia', *J. Oleo. Sci.*, 64(1), 19-26, (2015).
- Otto, M., 'Staphylococcal biofilms', *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 322, 207–228, (2008).
- Oyedemi, S.O., Okoh, A.I., Mabinya, L.V., Pirochenva, G., Afolayan, A.J., 'The proposed mechanism of bactericidal action of eugenol,  $\alpha$ -terpineol and  $\gamma$ -terpinen against *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus vulgaris* and *Escherichia coli*', *African J. of Biotechnology*, 8(7), 1280-1286, (2008).
- Pandey, B., Singh, S., 'Evaluation of antimicrobial potential of *Eucalyptus camaldulensis* L.', *J. of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*, 2(3), 166-171, (2014).
- Pandey, R., Kalra, A., Tandon, S., Mehrotra, N., Singh, H.N., Kumar, S., 'Essential oil compounds as potent source of nematicidal compounds', *J. of Phytopathology*, 148(7-8), 501-502, (2000).
- Papanicolaou, G.A., Meyers, B.R., Meyers, J., et al., 'Nosocomial infections with vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in liver transplant recipients: Risk factors for acquisition and mortality', *Clin. Infect. Dis.*, 23, 760-6, (1996).
- Park, S.N., Lim, Y.K., Freire, M.O., Cho, E., Jin, D., Kook, J.K., 'Antimicrobial effect of linalool and  $\alpha$ -terpineol against periodontopathic and cariogenic bacteria', *Anaerobe.*, 18(3), 369-72, (2012).
- Peana, A.T., Aquila, P.S., Panin, F., Serra, G., Pippia, P., Moretti, M.D., 'Anti-inflammatory activity of linalool and linalil aasetat constituents of essential oils', *Phytomedicine*, 9(8), 721-6, (2002).
- Pepeljnjak, S., Kosalec, I., Kalodera, Z., Blazevic, N., 'Antimicrobial activity of juniper berry essential oil (*J. communis* Cupressaceae)', *Acta. Pharm.*, 55, 417–422, (2005).

Perry, N.S., Bollen, C., Perry, E.K., Ballard, C., 'Salvia for dementia therapy: Review of pharmacological activity and pilot tolerability clinical trial', *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 75(3), 651–659, (2003).

Pessoa, L.M., Morais, S.M., Bevilaqua, C.M.L., Luciano, J.H.S., 'Anthelmintic activity of essential oil of *Ocimum gratissimum* Linn. and eugenol against *Haemonchus contortus*', *Veter. Parasit.*, 109(1-2), 59-63, (2002).

Polatoglu, K., Demirci, F., Demirci, B., Gören, N., Başer, K.H., 'Antibacterial activity and the variation of *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip. essential oils from Turkey', *J. Oleo. Sci.*, 59(4), 177-84, (2010).

Politeo, O., Skocibusic, M., Maravic, A., Ruscic, M., Milos, M., 'Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of endemic Dalmatian black pine (*Pinus nigra* Arn. subsp. *pallasiana*)', *Chem. Biodivers.*, 8(3), 540-547, (2011).

Rodilla, J.M., Tinoco, M.T., Morais, J.C., Gimenez, C., Cabrera, R., Martín-Benito, D., Castillo, L., Gonzalez-Coloma, A., 'Laurus novocanariensis essential oil: Seasonal variation and valorization', *Biochem. Syst. Ecol.*, 36, 167–176, (2008).

Rogachev, A.D., Salakhutdinov, N.F., 'Chemical composition of *Pinus sibirica* (Pinaceae)', *Chem. Biodivers.*, 12(1), 1-53, (2015).

Rokade, Y.B., Sayyed, R.Z., 'Naftalen Derivatives: A New range of antimicrobials with high therapeutic value', *Rasayan J. Chem.*, 2(4), 972-980, (2009).

Sartoratto, A., Machado, A.L.M., Delarmelina, C., Figueria, G.M., Duarte, M.C.T., Rehder, V.L.G., 'Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil', *Brazilian J. of Microbiology*, 35(4), 275-280, (2004).

Sela, F., Karapandzova, M., Stefkov, G., Cvetkovikj, I., Kulevanova, S., 'Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Juniperus excelsa* Bieb. subsp. *excelsa* Bieb. (Cupressaceae) grown in R. Macedonia', *Pharmacognosy Res.*, 7(1), 74-80, (2015).

Serkedjieva, J., 'Antiinfective activity of a plant preparation from *Geranium sanguineum*', *L. Pharmazie*, 52, 799-802 (1997).

- Sharma, A., Goyal, R., Sharma, L., 'Potential biological efficacy of *Pinus* plant species against oxidative, inflammatory and microbial disorders' *BMC Complement Altern. Med.*, 28, 16:35, (2016).
- Silva, J., Abebe, W., Sousa, S.M., Duarte, V.G., Machado, M.I.L., Matos, F.J.A., 'Analgesic and anti-inflammatory effects of essential oils of *Eucalyptus*', *J. Ethnopharmacol*, 89(2-3), 277–283, (2003).
- Silva, S.L., Figueiredo, P.M.S., Yano, T., 'Chemotherapeutic potential of the volatile oils from *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. leaves', *Eur. J Pharmacol.*, 576, 180–188, (2007).
- Sindambiwe, J.B., Calomme, M., Cos, P., Totte, J., Pieters, L., Vlietinck, A. and Vanden Berghe, D. 'Screening of seven selected Rwandan medicinal plants for antimicrobial and antiviral activities', *J. Ethnopharmacol*, 65, 71-77, (1999).
- Stappen, I., Tabanca, N., Ali, A., Wedge, D.E., Wanner, J., Kaul, V.K., Lal, B., Jaitak, V., Gochev, V.K., Schmidt, E., Jirovetz, L., 'Chemical Composition and Biological Activity of Essential Oils from Wild Growing Aromatic Plant Species of *Skimmia laureola* and *Juniperus macropoda* from Western Himalaya', *Nat Prod Commun.*, 10(6), 1071-1084, (2015).
- Syring, J., Farrell, K., Businský, R., Cronn, R., Liston, A., 'Widespread genealogical nonmonophyly in species of *Pinus* subgenus *Strobus*,' *Syst. Biol.*, 56(2), 163-181, (2007).
- Szmigielski, R., Cieslak, M., Rudziński, K.J., Maciejewska, B., 'Identification of volatiles from *Pinus sylvestris* attractive for *Monochamus galloprovincialis* using a SPME-GC/MS platform', *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, 2860-2869, (2011).
- Tan, A., 'Türkiye'de Bitkisel Çeşitlilik ve Bitki Genetik Kaynakları, Anadolu', *J. of AARI.*, 2, 50 – 64, (1992).
- Tavares, L., McDougall, G.J., Fortalezas, S., Stewart, D., Ferreira, R.B., Santos, C.N., 'The neuroprotective potential of phenolic-enriched fractions from four *Juniperus* species found in Portugal', *Food Chem.*, 135(2), 562-570, (2012).
- Toroğlu, S., Çenet, M., 'Tedavi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin kullanım alanları ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için kullanılan metodlar', *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi*, 9(2), 12-20, (2006).
- Trevizan, L.N., Nascimento, K.F., Santos, J.A., Kassuya, C.A., Cardoso, C.A., Vieira, M.D., Moreira, F.M., Croda, J., Formagio, A.S., 'Anti-inflammatory, antioxidant and anti-*Mycobacterium tuberculosis* activity of viridiflorol: The major constituent of *Allophylus edulis* (A. St.-Hil., A. Juss. & Cambess.)', *Radlk J. Ethnopharmacol.*, 192, 510-515, (2016).



Tung, Y.T., Chua, M.T., Wang, S.Y., Chang, S.T., 'Anti-inflammation activities of essential oil and its constituents from indigenous Cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*) twigs', *Bioresour. Technol.*, 99, 3908–3913. 91, (2008).

Tung, Y.T., Huang, C.C., Ho, S.T., Kuo, Y.H., Lin, C.C., Lin, C.T., Wu, J.H., 'Bioactive phytochemicals of leaf essential oils of *Cinnamomum osmophloeum* prevent lipopolysaccharide/D-galactosamine (LPS/D-GalN)-induced acute hepatitis in mice', *J. Agric. Food Chem.*, 59(15), 8117-8123, (2011).

Ulukanli, Z., Karabörklü, S., Bozok, F., Ates, B., Erdogan, S., Cenet, M., Karaaslan, M.G. 'Chemical composition, antimicrobial, insecticidal, phytotoxic and antioxidant activities of Mediterranean *Pinus brutia* and *Pinus pinea* resin essential oils', *Chin. J. Nat. Med.*, 12, 901-910, (2014).

Vancraeynest, D., Hermans, K. and Haesebrouck, F., 'Genotypic and phenotypic screening of high and low virulence *Staphylococcus aureus* isolates from rabbits for biofilm formation and MSCRAMMs', *Vet. Microbiol.*, 103, 241–247, (2004).

Verastegul, M.A., Sanchez, C.A., Heredia, N.L. and Garcia-Alvarado J.S., 'Antimicrobial activity of extracts three major plants from the Chihuahuan desert', *J. Ethnopharmacol.*, 52, 175-177, (1996).

Vukovic, N., Milosevic, T., Sukdolak, S., Solujic, S., 'Antimicrobial Activities of Essential Oil and Methanol Extract of *Teucrium montanum*', *Evid. Based Complement Alternat. Med.*, 4(1), 17-20, (2007).

Wanner, J., Schmidt, E., Bail, S., Jirovetz, L., Buchbauer, G., Gochev, V., Girova, T., Atanasova, T., Stoyanova, A. 'Chemical composition and antibacterial activity of selected essential oils and some of their main compounds', *Nat. Prod. Commun.*, 5(9), 1359-1364, (2010).

Wu, S., Piscitelli, C., de Lencastre, H., Tomasz, A., 'Tracking the evolutionary origin of the methicillin resistance gene: cloning and sequencing of a homologue of *mecA* 66 from a methicillin susceptible strain of *Staphylococcus sciuri*', *Microb. Drug Resist.*, 2(4), 435-41, (1996).

Yvon, Y., Raelison, E.G., Razafindrazaka, R., Randriantsoa, A., Romdhane, M., Chabir, N, Mkaddem, M.G., Bouajila, J., 'Relation between chemical composition or antioxidant activity and antihypertensive activity for six essential oils', *J. Food Sci.*, 77(8), 184-191, (2012).

## 8. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Bekir Can TURGUT

Doğum Yeri ve Tarihi :Aydın 19.08.1979

Lisans Üniversite :Pamukkale Üniversitesi

Elektronik posta :bcturgut@gmail.com

İletişim Adresi :1019 sok. No18 Melis Konutları Bağbaşı  
DENİZLİ