

**T.C.  
GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ  
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÜÇ FARKLI BÖLGEDEN TOPLANAN YEŞİL  
CEVİZ KABUĞUNUN DÖRT BAKTERİ VE  
BİR MAYA TÜRÜ ÜZERİNDE GÖSTERDİĞİ  
ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTENİN TAYİNİ**

**Aslıhan KURT  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GEBZE  
2006**

T.C.  
GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ  
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÜÇ FARKLI BÖLGEDEN TOPLANAN YEŞİL  
CEVİZ KABUĞUNUN DÖRT BAKTERİ VE  
BİR MAYA TÜRÜ ÜZERİNDE GÖSTERDİĞİ  
ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTENİN TAYİNİ

Aslıhan KURT  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Abdülkadir AKÇİN

GEBZE  
2006

## ÖZET

### TEZ BAŞLIĞI: Üç Farklı Bölgeden Toplanan Yeşil Ceviz Kabuğunun Dört Bakteri ve Bir Maya Türü Üzerinde Gösterdiği Antimikrobiyal Aktivitenin Tayini

YAZAR ADI: Aslıhan KURT

Çalışmamızda, *Juglans regia* L. (ceviz) bitkisinin yeşil meyve kabukları bitki materyali olarak seçilmiştir. Bu bitki tıbbi ve ticari değere sahiptir. Bitki materyalleri üç farklı istasyondan (İstanbul-Güzelyalı-G.Z.O.L. Bahçesi, Giresun-Şebinkarahisar-Bağlar Köyü, Kocaeli-Çayırova-GYTE Kampüsü) toplanmıştır. Bitki materyalleri iki farklı yöntem kullanılarak (Direk özütleme ve Soxhlet apereyi ile özütleme) özütlenmiştir. Bu özütler canlılarda ve insanda patojen olan mikroorganizmalar (*Bacillus cereus* 4312, *Staphylococcus aureus* 29213, *Salmonella enteritidis* 64, *Escherichia coli* ATCC 1213, *Candida albicans* ATCC 8739) üzerine uygulanmıştır. Bu çalışmanın amacı *Juglans regia* L. (ceviz)' nin yeşil meyve kabuklarının antimikrobiyal aktivitesini belirlemektir. *Juglans regia* L. bitkisinin yeşil meyve kabuklarının antimikrobiyal aktivitesini belirlemek için Disk-Difüzyon Metodu kullanılmıştır. Çalışmada kontrol grubu olarak beş farklı antibiyotik (Gentamisin, Ampisilin, Kanamisin, Streptomisin, Siproflaksin) ve bir tane de ticari antifungal ilaç (Oceral) kullanılmıştır.

Üç farklı istasyondan toplanan cevizlerden elde edilen özütlerin mikroorganizmalar üzerine uygulanması sonucunda, *Staphylococcus aureus* 29213 suşunun 8 mm-16 mm, *Salmonella enteritidis* 64 suşunun 7 mm-12 mm, *Escherichia coli* ATCC 1213 suşunun 8 mm-10.5 mm, *Candida albicans* ATCC 8739 10 mm-17 mm ve *Bacillus cereus* 4312 suşunun ise 10 mm-15.5 mm aralığında inhibisyon zon çapları oluşturdukları belirlenmiştir. Sonuçlar kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, Güzelyalı cevizinden direk elde edilen özütlerin tüm deney mikroorganizmaları üzerinde, GYTE ve Şebin cevizlerinden direk elde edilen özütlerin ise *Staphylococcus aureus* 29213 ve *Bacillus cereus* 4312 suşları hariç diğer deney mikroorganizmaları üzerinde kontrol gruplarına göre daha az etkili olduğu gözlemlenmiştir. GYTE cevizinin özütlerinin bu iki suş üzerinde Ampisilin

kadar, Şebin cevizinin özütlerinin ise bu iki suş üzerinde Ampisilin' den daha fazla etkili olduğu belirlenmiştir. Üç farklı istasyondan toplanan cevizlerden Soxhlet apereyi ile elde edilen özütlerin uygulanması sonucunda sadece Şebin cevizinin *Candida albicans* ATCC 8739 ve *Bacillus cereus* 4312 üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiği gözlemlenirken, GYTE ve Güzelyalı cevizleri bu yöntemle özütlendiğinde herhangi bir aktiviteye sahip olmadıkları gözlemlenmiştir. Sonuçlara göre *Juglans regia* L. bitkisinin yeşil meyve kabuklarından elde edilen özütlerin antimikrobiyal aktivitesinin olduğu belirlenmiştir.

## SUMMARY

**TITLE of THE THESIS: The determining of the antimicrobial activity of green husk of walnut that were collected from three different regions on four bacteria and a fungi**

**AUTHOR: Aslıhan KURT**

In this study, the green fruit husks of *Juglans regia L.* (walnut) was choosed as a plant material. This plant has medical and commercial values. Plant materials were collected from three different stations (İstanbul-Güzelyalı-G.Z.O.L. Garden, Giresun-Şebinkarahisar-Bağlar Village, Kocaeli-Çayırova-GYTE Campus). Plant materials were extracted by using two different methods (Direct Ekstraction and Soxhlet Extraction). These extracts were applied on different microorganisms that are pathogens on different organisms and human (*Bacillus cereus* 4312, *Staphylococcus aureus* 2923, *Salmonella enteritidis* 64, *Escherichia coli* ATCC 1213, *Candida albicans* ATCC 8739). The aim of this study is to determine the antimicrobial activity of the green fruit husks of *Juglans regia L.* (walnut). To observe the antimicrobial activity of the green fruit husks of *Juglans regia L.*, Disk-Diffusion Method was used in this study. Four antibiotics (Gentamisine, Amphicilline, Canamycine, Streptomycine, Ciprofloxacin) and an antifungal medicine (Oceral) were used in studies for control group.

After applying the extracts of walnuts that were collecting from three different stations on the microorganisms, *Staphylococcus aureus* 2923; 8 mm-16 mm, *Salmonella enteritidis* 64; 7 mm-12 mm, *Escherichia coli* ATCC 1213; 8 mm-10.5 mm, *Candida albicans* ATCC 8739; 10 mm-17 mm and *Bacillus cereus* 4312; 10 mm-10.5 mm inhibition zones were formed. When the results were compared with the control groups, the extracts of Güzelyalı walnut by direct extraction were less active on all experiment microorganisms and the extracts of GYTE and Şebin walnuts by direct extraction were less active on the other experiment microorganisms except *Staphylococcus aureus* 2923 and *Bacillus cereus* 4312 strains according to the control groups was seemed. The extracts of GYTE walnut were active as Ampicilline on these two strains, the extracts of Şebin were more active on these two strains from

Ampicilline was determined. After applying the extracts of Soxhlet of walnuts that were collecting from three different stations on the microorganisms, while only Şebin walnut had antimicrobial activity on *Candida albicans* ATCC 8739 and *Bacillus cereus* 4312 strains was seeming, GYTE and Güzelyalı walnuts had not any antimicrobial activity. According to the results, the antimicrobial activity of the extracts of green fruit husks of *Juglans regia L.* was determined.

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda bu noktaya gelmemde, bilgilerinden ve tecrübesinden faydalandığım danışmanım sayın Prof. Dr. Abdülkadir AKÇİN' e, deneylerimde tüm laboratuvar imkanlarını sağladığı için sayın Prof. Dr. Yavuz SEZEN' e, tezimin yazım aşamasında ve şekillenmesinde büyük emek sarfeden, bilgisi ve bakış açısı ile ufkumu genişleten sevgili hocam sayın Yrd. Doç. Dr. Yosun MATER' e teşekkürü bir borç bilirim.

Tezimde konumun şekillenmesinde emekleri olan sayın Dr. Meltem AKBAŞ' a, desteğini hiç esirgemeyen sayın Ar. Gör. Mine Gül ŞEKER'e sonsuz teşekkürler. Deneylerimin yapılma aşamasında onlardan çok şey öğrendiğim ve yardımlarını tezimin her aşamasında gördüğüm başta sevgili dostum Ar. Gör. Çiğdem İLERİ' ye, Uzm. Özlem ASKER' e, Ar. Gör. Fatih AKYOL' a, Ar. Gör. Tuğrul DORUK' a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Her sıkıntılı anımda yanımda olan ve çok sevgili dostlarım Ar. Gör. Aliye İNTEPE' ye, Ar. Gör. Elif ŞENTÜRK' e, Ar. Gör. Berra BEYOĞLU' na, Ar. Gör. Sümeyra GÜLER' e, Ceren EFE' ye, Ümmünur SÖYLER' e, Zehra' ya ve Melda ÜÇÜNCÜOĞLU' na ve can dostlarım Dilek ve Sema' ya çok teşekkür ederim. Aynı zamanda deneylerim devam ederken bir yandan da iş yerimde beni her konuda destekleyen tüm iş arkadaşlarıma, hem iş arkadaşım hem de dostlarım olan Mehtap AL ve Zeynep Lamia GÜRLER' e teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatımın ilk gününden son gününe kadar sevgilerini, desteklerini hep gördüğüm ve göreceğim sevgili babama, anneme, ablama ve eşine, kardeşime, kuzenlerime ve akrabalarım sonsuz teşekkür ederim. Teyzeleri olmaktan gurur duyduğum biricik yeğenlerim Yusuf Furkan ve Elif Nur' a...

Bu tezi sevgili babam Metin KURT ve sevgili annem Türkmen KURT' a ithaf ediyorum. Sizin varlığınıza daima şükrediyorum.

# İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<b><u>Sayfa</u></b>
ÖZET	iv
SUMMARY	vi
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
TABLOLAR DİZİNİ	xv
RESİMLER DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Ceviz Bitkisine Ait Genel Bilgiler	3
2.2. Ceviz Bitkisinin Farnosötik ve Kimyasal Özelliklerine Yönelik Çalışmalar	7
2.3. Deneylerde Kullanılan Mikroorganizmaların Genel Özellikleri	12
2.3.1. <i>Staphylococcus</i> Genusu	13
2.3.1.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	13
2.3.1.2. Patogenez ve Enfeksiyonları	14
2.3.1.3. Tedavi, Epidemoloji ve Korunma	14
2.3.2. <i>Bacillus</i> Genusu	15
2.3.2.1. <i>Bacillus cereus</i>	16
2.3.3. <i>Escherichia</i> Genusu	16
2.3.3.1. <i>Escherichia coli</i>	17
2.3.3.2. Enterik Patojen Olan <i>E. coli</i> ' ler	18
2.3.4. <i>Salmonella</i> Genusu	18
2.3.5. <i>Candida</i> Genusu	19
2.3.5.1. <i>Candida albicans</i>	20
3. MATERYAL ve METOT	22
3.1. Materyal	22
3.1.1. Materyalin Eldesi	22



3.1.2. Deneylerde Kullanılan Mikroorganizmalar	23
3.1.3. Kullanılan Maddeler	23
3.1.4. Kullanılan Araç ve Gereçler	24
3.2. Metot	25
3.2.1. Bitkinin Özütlenmesi İçin Yapılan İşlemler	25
3.2.2. Yeşil Ceviz Kabuklarının Özütleme İşlemleri İçin Hazırlanması	25
3.2.3. Direk Özütleme	26
3.2.4. Soxhlet Apereyi İle Özütleme	26
3.2.5. Çözücünün Uzaklaştırılması	28
3.2.6. Besiyeri ve Mikroorganizmaların Hazırlanması	28
3.2.6.1. Besiyerinin Hazırlanması	28
3.2.6.2. Mikroorganizmaların Ekimler İçin Hazırlanmaları	28
3.2.7. Mikroorganizmalar ve Mc Farland Yoğunluk Standardının Hazırlanması	29
3.2.8. Elde Edilen Özütlerin Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler	30
3.2.8.1. Disk-Difüzyon Yöntemi	31
3.2.8.2. Disk-Difüzyon Yönteminde Disklerin Hazırlanması	31
3.2.8.3. Disk-Difüzyon Yöntemi İle Bitki Materyalinin Antimikrobiyal Etkinliğinin Araştırılması	31
3.2.9. Zon Çaplarının Ölçülmesi	32
4. BULGULAR	33
4.1. Disk-Difüzyon Yönteminin Sonuçları	33
4.1.1. Soxhlet Apereyi İle Güzelyalı Cevizinden Elde Edilen Özütün <i>Bacillus cereus</i> 4312 Üzerine Etkisi	33
4.1.2. Soxhlet Apereyi İle Güzelyalı Cevizinden Elde Edilen Özütün <i>Staphylococcus aureus</i> 29213 Üzerine Etkisi	34
4.1.3. Soxhlet Apereyi İle Güzelyalı Cevizinden Elde Edilen Özütün <i>Escherichia coli</i> ATCC 1213 Üzerine Etkisi	35
4.1.4. Soxhlet Apereyi İle Güzelyalı Cevizinden Elde Edilen Özütün <i>Candida albicans</i> 8739 Üzerine Etkisi	36

4.1.5. Soxhlet Apereyi İle GYTE Cevizinden Elde Edilen Özütün <i>Bacillus cereus</i> 4312 Üzerine Etkisi	37
4.1.6. Soxhlet Apereyi İle GYTE Cevizinden Elde Edilen Özütün <i>Salmonella enteritidis</i> 64 Üzerine Etkisi	38
4.1.7. Soxhlet Apereyi İle GYTE Cevizinden Elde Edilen Özütün <i>Eschrichia coli</i> ATCC 1213 Üzerine Etkisi	39
4.1.8. Soxhlet Apereyi İle GYTE Cevizinden Elde Edilen Özütün <i>Candida albicans</i> 8739 Üzerine Etkisi	40
4.1.9. Soxhlet Apereyi İle Şebin Cevizinden Elde Edilen Özütün <i>Eschrichia coli</i> ATCC 1213 Üzerine Etkisi	41
4.1.10. Soxhlet Apereyi İle Şebin Cevizinden Elde Edilen Özütün <i>Salmonella enteritidis</i> 64 Üzerine Etkisi	42
4.1.11. Soxhlet Apereyi İle Şebin Cevizinden Elde Edilen Özütün <i>Bacillus cereus</i> 4312 Üzerine Etkisi	43
4.1.12. Soxhlet Apereyi İle Şebin Cevizinden Elde Edilen Özütün <i>Candida albicans</i> 8739 Üzerine Etkisi	44
4.2. Mikroorganizmalar İle Yapılan Antibiyogram Sonuçları	45
4.3. Direk Özütleme Yöntemi İle Elde Edilen Özütlerin Deney Mikroorganizmaları Üzerine Etkileri	48
5. TARTIŞMA ve SONUÇLAR	53
KAYNAKLAR	60
ÖZGEÇMİŞ	66

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

M.Ö.	Milattan önce
km <sup>2</sup>	Kilometrekare
WHO	Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)
%	Yüzde
cm	Santimetre
FAO	Gıda ve Tarım Organizasyonu (Food and Agriculture Organization)
LDL	Düşük yoğunluktaki lipoprotein
HDL	Yüksek yoğunluktaki lipoprotein
pH	Çözeltideki hidrojen iyonu konsantrasyonu
NaCl	Sodyum klorür
°C	Santigrat
H <sub>2</sub> S	Hidrojen Sülfür
mm	Milimetre
Atm	Atmosfer basıncı
ml	Mililitre
org.	Organizma
CFU/ml	Mililitredeki bir canlı koloni birimi
µl	Mikrolitre
ATCC	Amerikan kültür koleksiyonu merkezi (American Type Culture Collection)
µm	Mikrometre
+	Pozitif
-	Negatif
As	Su aktivitesi
Gram (+)	Gram pozitif
Gram (-)	Gram negatif
EMB	Eozin Metilen Blue
SS	Salmonella Shigella
KOH	Potasyum hidroksit
ELISA	Anti-HIV testi

IMViC	Indol, Metil kırmızı, Voges-Proskauer, Sitrat testleri
gr	Gram
ml	Mililitre
M	Molar
KW	Kilowatt
V	Volt
A	Amper
Hz	Hertz
RPM	Dakikadaki devir sayısı (Rounds per minute)
Max.	Maksimum
d	Özkütle
mg	Miligram
No.	Numara
W	Watt
BaCl <sub>2</sub>	Baryum klorür
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sülfürik asit
C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>	Hekzan
nm	nanometre
bkz.	Bakınız
ark.	Arkadaşları
et.al.	Arkadaşları
GYTE	Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü
TG	Ortalama plazma trigliserit seviyesi
TM	Türk Malı
Ref.	Referans

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b><u>Sekil</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
2.1. Cevizde bulunan bazı kimyasalların yapısı	12
3.1. Soxhlet Apereyi	28

## TABLolar DİZİNİ

<b><u>Tablo</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
3.1. Mc Farland Standardı hazırlanmasında BaCl <sub>2</sub> ve H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> çözeltilerine karşılık gelen bakteri (hücre) sayısı	29
4.1. Güzelyalı cevizinden iki farklı yöntemle elde edilmiş olan özütlerin, farklı mikroorganizmaların üzerine uygulanması sonucu görülen ve kontrol grubu olarak kullanılan antibiyotikler ile antifungal ilaç sonrasında oluşan zon çapları	50
4.2. GYTE cevizinden iki farklı yöntemle elde edilmiş olan özütlerin, farklı mikroorganizmaların üzerinde uygulanması sonucu görülen ve kontrol grubu olarak kullanılan antibiyotikler ile antifungal ilaç sonrasında oluşan zon çapları	51
4.3. Şebin cevizinden iki farklı yöntemle elde edilmiş olan özütlerin, farklı mikroorganizmaların üzerinde uygulanması sonucu görülen ve kontrol grubu olarak kullanılan antibiyotikler ile antifungal ilaç sonrasında oluşan zon çapları	52

## RESİMLER DİZİNİ

<u>Resim</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Ceviz meyvesinin genel görünüşü	6
2.2. Ceviz ağacının farklı organları	6
4.1. Güzelyalı istasyonundan toplanan cevizden Soxhlet apereyi ile elde edilen özütün <i>Bacillus cereus</i> 4312 suşunun üzerine uygulanması sonucu görülen zonlar	33
4.2. Güzelyalı istasyonundan toplanan cevizden Soxhlet apereyi ile elde edilen özütün <i>Staphylococcus auerus</i> 29213 suşunun üzerine uygulanması sonucu görülen zonlar	34
4.3. Güzelyalı istasyonundan toplanan cevizden Soxhlet apereyi ile elde edilen özütün <i>E. coli</i> ATCC 1213 suşunun üzerine uygulanması sonucu görülen zonlar	35
4.4. Güzelyalı istasyonundan toplanan cevizden Soxhlet apereyi ile elde edilen özütün <i>Candida albicans</i> 8739 suşu üzerine uygulanması sonucu görülen zonlar	36
4.5. GYTE istasyonundan toplanan cevizden Soxhlet apereyi ile elde edilen özütün <i>Bacillus cereus</i> 4312 suşu üzerine uygulanması sonucu görülen zonlar	37
4.6. GYTE istasyonundan toplanan cevizden Soxhlet apereyi ile elde edilen özütün <i>Salmonella enteritidis</i> 64 suşu üzerine uygulanması sonucu görülen zonlar	38
4.7. GYTE istasyonundan toplanan cevizden Soxhlet apereyi ile elde edilen özütün <i>E. coli</i> ATCC 1213 suşu üzerine uygulanması sonucu görülen zonlar	39
4.8. GYTE istasyonundan toplanan cevizden Soxhlet apereyi ile elde edilen özütün <i>Candida albicans</i> ATCC 8739 suşu üzerine uygulanması sonucu görülen zonlar	40
4.9. Şebinkarahisar istasyonundan toplanan cevizden Soxhlet apereyi ile elde edilen özütün <i>E. coli</i> ATCC 1213 suşu üzerine uygulanması sonucu görülen zonlar	41

4.10. Şebinkarahisar istasyonundan toplanan cevizden Soxhlet apereyi ile elde edilen özütün <i>Salmonella enteritidis</i> 64 suşu üzerine uygulanması sonucu görülen zonlar	42
4.11. Şebinkarahisar istasyonundan toplanan cevizden Soxhlet apereyi ile elde edilen özütün <i>Bacillus cereus</i> 1213 suşu üzerine uygulanması sonucu görülen zonlar	43
4.12. Şebinkarahisar istasyonundan toplanan cevizden Soxhlet apereyi ile elde edilen özütün <i>Candida albicans</i> ATCC 8739 suşu üzerine uygulanması sonucu görülen zonlar	44
4.13. <i>Salmonella enteritidis</i> 64 suşu ve antibiyogramda oluşan zonlar	45
4.14. <i>Bacillus cereus</i> 4312 suşu ve antibiyogramda oluşan zonlar	46
4.15. <i>Staphylococcus aureus</i> 29213 suşu ve antibiyogramda oluşan zonlar	46
4.16. <i>Escherichia coli</i> ATCC 1213 suşu ve antibiyogramda oluşan zonlar	47
4.17. <i>Candida albicans</i> ATCC 8739 suşu ve antibiyogramda oluşan zonlar	47
4.18. Direk özütleme yöntemi ile elde edilen özütlerin <i>S. auerus</i> 29213 suşu üzerine etkisi	48
4.19. Direk özütleme yöntemi ile elde edilen özütlerin <i>C. albicans</i> ATCC 8739 suşu üzerine etkisi	48
4.20. Direk özütleme yöntemi ile elde edilen özütlerin <i>B. cereus</i> 4312 suşu üzerine etkisi	49
4.21. Direk özütleme yöntemi ile elde edilen özütlerin <i>S. auerus</i> 29213 suşu üzerine etkisi	49
4.22. Direk özütleme yöntemi ile elde edilen özütlerin <i>C. albicans</i> ATCC 8739 suşu üzerine etkisi	49
4.23. Direk özütleme yöntemi ile elde edilen özütlerin <i>S. aerus</i> 29213 suşu üzerine etkisi	49



# 1.GİRİŞ

İnsanoğlunun var olduğu tarihten bu yana hastalıkların tedavileri için çok farklı yöntemler kullanılmıştır. İlk çağlarda hastalıkların ve ölümlerin tanrılar veya doğaüstü güçler tarafından gönderildiğine inanılıyordu. Ortaçağa doğru gelindikçe toplu ölümler görülmeye başlandı. Rönesans döneminde ise insanoğlunun doğaüstü güçlerden sıyrılıp, bilim alanındaki ilerlemeler sayesinde hastalıklar ve tedavi yöntemleri daha bilimsel bir boyut kazandı. Mikroskobun bulunmasıyla mikrobiyolojinin konusu olan, gözle görülemeyen canlıların tanısı ve hastalık yapıcı unsurların keşfi ile tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi kolaylaştı (Arda, 2000).

Son senelerde, insanlarda görülen enfeksiyonlarda, genellikle ticari (sentetik) antimikrobiyal ilaçların rastgele kullanımı, patojen mikroorganizmaların bu ilaçlara karşı direnç kazanmalarına neden olmuştur. Bu durum bilim adamlarını tıbbi bitkiler gibi birçok kemoterapik kaynaktan yeni antimikrobiyal maddeleri araştırmaya yöneltmiştir (Karaman ve ark., 2002). Bitkilerin tedavi edici olarak kullanılması insanlık tarihinin başlangıcına dayanır. M.Ö. 3000 yıllarında Sümerler, Akadlar ve Asurlular tarafından hastalarda bitkisel karışımlar kullanılmaya başlanmıştır (www.bitkievi.com).

Türkiye; Akdeniz ve Kara iklimlerinin hakim olduğu, 814.578 km<sup>2</sup> lik yüzölçümüne sahip bir ülkedir. Üç fito-coğrafik bölgenin (Akdeniz, İran-Turan, Avrupa-Sibirya) kesişme noktasında olan ülkemiz, asırlardır canlı hareketlerinin yoğun olduğu bir bölgede yer almasından dolayı zengin bir bitki çeşitliliğine sahiptir. Ülkemiz geniş bir tıbbi ve aromatik bitki potansiyeline sahiptir. Buna karşın potansiyel bitkisel ilaç hammaddelerinin eldesi günümüze kadar gerekli derecede araştırılmamış olup, bu durum halen çok sayıda bitkinin tıbbi öneminin gizli kalmasına neden olmuştur (Tunç, 2000).

Tıbbi bitkiler uzun yıllardır, geniş oranda ve birçok amaçla Türkiye’ de kullanılmaktadır. Bu bitkilerin yağları ve özütleri, besin korunumu işlemleri, ilaç bilimi (farmakoloji), alternatif tıp ve doğal tedavi yöntemleri gibi alanlarda temel oluşturmaktadır. Son yıllarda ülkemizde mikroorganizmalar üzerine birçok bitki

özütünün antimikrobiyal aktivitesi ile ilgili konularda yapılan çalışmalar, konunun önemine kıyasla oldukça az sayıdadır (Dülger ve Gönüz, 2004).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO)' nün 1994 yılı verilerine göre; 91 ülkede tıbbi bitki bulunmakta ve bu bitkilerin sayısı yaklaşık olarak 20.000 olarak bilinmektedir. Dünyada 1926' dan beri laboratuvar koşullarında, bitkilerin mikroorganizmaları inhibe edici özellikleri, özellikle insan sağlığı için önemli olduklarından dolayı araştırılmaktadır. Günlük yaşamda geleneksel yöntemlerle tedavide kullanılan tıbbi bitki denemeleri şimdilerde empirik metodlar ile kullanılmaktadır (Ateş ve Erdoğan, 2003). WHO' nun 2001 yılında verdiği bilgilere göre ise, dünya popülasyonunun % 80' i, özellikle de gelişmekte olan ülkelerde, bitkisel ilaçlar hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Tadeg et al., 2005).

Çalışmamızda, üç farklı bölgeden toplanan yeşil ceviz kabuklarından elde edilen özütün, dört bakteri ve bir maya türü üzerinde gösterdiği antimikrobiyal aktivitenin tayini esas alınmıştır. Bu tez çalışmasında *Juglans regia L.* (ceviz) bitkisi kullanılmıştır. Literatürlere göre bu bitki ve türlerinin farklı organları ile birçok antimikrobiyal aktivite çalışması yapılmasına rağmen *Juglans regia L.* meyvesinin yeşil kabukları ile ilgili yapılan çalışmalar oldukça az sayıdadır. Bu nedenle deneylerimizde, bugüne kadar yapılan çalışmalardan yola çıkılarak yeşil ceviz kabuklarının insanlarda patojen olan *Bacillus cereus* 4312, *Staphylococcus aureus* 29213, *Salmonella enteritidis* 64, *Escherichia coli* ATCC 1213 ve *Candida albicans* ATCC 8739 türleri üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi *in vitro* koşullarda araştırılmıştır.

## 2.KAYNAK ARAŞTIRMASI

Araştırmamızda kullanılan Latince adı *Juglans regia L.* olan ceviz bitkisi ve yeşil ceviz kabuğu ile ilgili olan genel bilgiler aşağıda özetlenmiştir.

### 2.1. Ceviz Bitkisine Ait Genel Özellikler

*Juglans regia L.* bitkisinin sistematığı aşağıdaki gibidir.

Sınıf: *Dicotyledoneae*

Takım: *Juglandales*

Familiya: *Juglandaceae*

Cins: *Juglans*

Tür: *Juglans regia L.*

*Juglandaceae* (cevizgiller) familyası, yaprak döken ağaçlardan ve nadiren çalılardan oluşur. Yaprakları güzel kokulu, imparinnat ve stipülsüzdür. Çiçekler tek eşeyli, erkek çiçek bir önceki yılın sürgünleri üzerinden çıkan uzun, sert ve sarkık amentum durumunda, periant 3-6 loplulu veya lopsuzdur. 3-40 stameni vardır. Dişi çiçekler yeni sürgünlerin ucunda, dik rasemus veya sarkık spika durumunda olup, periant 4 parçalıdır. Stigma 2 lopludur. Loplular geniş olduğundan polen yakalaması kolaydır. Ovaryum alt durumlu, üstte 1, altta 2-4 lokuslu, genellikle 2 karpelli (nadiren 3), 1 ovüllü, ortotrop tipte olup, plasentasyon bazaldır. Tohum taslağı tek integümentli atop (dik) tiptedir. Meyve durupamsı nuks ve eksokarpı etli olup, yapraklarında familyanın diğer üyelerinde olduğu gibi naftakinon türevi juglon ve hidrojuglon- $\beta$ -glukosid bulunmaktadır. Bu nedenle ölen bitki organları bu maddelere bağlı olarak siyah renge döner (Seçmen ve ark., 1995). Kuzey ve ılıman bölgelerde yayılış gösteren familya, 6 cinse ait yaklaşık 60 tür içerir. Ülkemizde ise 2 cins ve 2 türü bulunmaktadır. Meyvelerinden, yağından ve kerestesinden yararlanılır. Süs bitkileri olarak da kullanılır (Zeybek ve Zeybek, 1994).

Bazı kaynaklara göre, ceviz tohumunda endosperm olmadığı, yenen ceviz kısımlarının tohumun kotiledonları olup çok yağlı olduğu, cevizgiller familyasını temsil eden en önemli cinsin *Juglans* cinsi olduğu, bu cinsin önemli türlerinin kara ceviz (*Juglans nigra*), kafkasya ceviz (*Juglans regia*) ve ak ceviz (*Juglans cinere*) türlerinden oluştuğu bildirilmiştir. 20-30 metreye kadar boyolanabilen geniş taçlı ağaçlar, anavatani

Anadolu olan Akdeniz' den Doğu Asya' ya kadar yabani olarak yetişen ceviz, aynı zamanda kültüre de alınmış bir tür olarak tanımlanmıştır. *Juglans regia L.* (ceviz), *Juglandaceae* ailesinin bir üyesi ve Avrupa' nın güney bölgesi, Asya' nın küçük bir bölgesi, Hindistan ve Çin' de yetişen, çok yıllık bir bitki olarak tanımlanmıştır. Aynı kaynaklara göre, ceviz yağının cilde olan faydasının yüzyıllardır bilindiği ve çoğunlukla kozmetik endüstrisinde kullanılmakta olduğu belirtilmiştir (Seçmen ve ark., 1995; Tsamouris et al., 2002).

Ülkemizin hemen hemen her tarafında ceviz bitkisine rastlanır. Bununla birlikte bilhassa Kastamonu, Bilecik, Manisa, Kütahya, Afyon, Tunceli, Tokat, Bolu, Konya, Samsun, Trabzon ve Bitlis illerinde yayılış gösterir. Ceviz ağacının gövdesi 1.5 ila 2.5 metre çapında, gümüş renkli ve ağaç kabuğu pürüzsüz, yaprakları oval, bütün ve 22-35 cm olup, meyveleri yeşil, 4-6 cm çapında, endokarp hafifçe kıvrımlı, ince ya da kalın kabukludur. Yaşam alanlarının Meşe ya da her yıl yaprak döken karma ormanlarda, kalkerli, eğimli, alüvyonca zengin çakıllı vadilerde, meyve bahçelerinde, 1000-1550 metre yükseltiler olduğunu bildirilmektedir. Ülkemizde çoğunlukla meyveleri için kültüre alınmış olduğu, tohumlarının dağıtılmasında çoğunlukla kargalar, sincaplar ya da göçebe yaşayan toplumların rol oynadığı bildirilmektedir. Birinci ve İkinci Dünya Savaşları' ndan 1950' lere kadar özellikle yaşlı ceviz ağaç gövdelerinin Türkiye' den Avrupa'ya ihracatının yapıldığı (Davis, 1965, 1982), cevizin ticari ve ihraç açısından değerli bir ürün olduğu belirtilmiştir (Mahoney et al., 2000).

Yaprağı, ağacının kabuğu, bitki suyu, tomurcukları, meyvesi, filizleri ve meyvesinin yeşil kabuklarıyla ceviz, sağlığa çok yararlıdır. Kabız giderici ve kan temizleyici etkisi vardır. Bol şekerli suyu kan temizleyicidir. Tomurcuklarından saç dökülmesinde yararlanır. Başıklarının kılcal damarları sıkıştırıcı etkisi vardır. Vajinal akıntılarda, raşitizmde ve bağırsak kanamalarında yapraklarından yararlanır. Ceviz yaprakları kandaki glikoz oranını düşürür, bu nedenle meyvesi şeker hastalarına önerilir. Ceviz kökünde, yapraklarında, meyve ve gövde kabuklarında boyar madde bulunduğu ve yaygın olarak kullanılan kısmının ise meyve kabukları olduğu belirtilmiştir (Harmancıoğlu, 1955; Enez, 1987; Uğur, 1988). Diğer bir kaynakta ise, Birinci Dünya Savaşı sırasında Türk ordusundaki askerlerin çadırlarını ve elbiselerini ceviz yaprağı ve soğan kabuğundan elde edilen bir karışımla boyadıkları belirtilmiştir (Baytop, 1984).

Yine bazı kaynaklarda, *Juglans regia* yaprakları dünyada çoğunlukla; antifungal, solucan düşürücü, kanama durdurucu, deride pullaşmayı önleyici, antidiyareik, düşük kan şekerini düzenleyici olarak ve kanın temizlenmesinde, tonik olarak, sinüzit ve soğuk algınlığı tedavisinde, karın ağrısını geçirici olarak kullanılmakta olduğu bildirilmektedir. Ayrıca etanol özütü indometasin gibi enfeksiyon oluşumuna karşı aktivite gösterdiği, Türk geleneksel tedavi yöntemlerinde ise güneş çarpmasından kaynaklı ateşlenmelerde ve romatizma ağrıların azaltılmasında haricen kullanıldığı ifade edilmektedir. Genç yapraklar toplanıp kurutulularak folia juglandis drogu elde edilir. Taze ve kurutulmuş yapraklar ılık banyo suyuna atılarak cildi güzelleştirmede kullanılır. Son yıllarda saçları besleyici boya olarak kullanımda önem kazanmıştır. Özütünden saç dökülmesini önleyici şampuanlar yapılmıştır. Antalya ve yöresinde çok genç meyveler toplanılarak reçel yapılmaktadır. Acımsı tadı ile iştah açıcıdır, limondan 30 misli daha fazla C vitamini vardır. Ülkemizin farklı yörelerinde, hemoroit şikayetlerinin giderilmesi ve tedavisinde kullanılan 46 familyaya ait 84 cinsin bulunduğu ve bu bitkilerin içerisinde hemoroit tedavisinde cevizin de kullanıldığı ifade edilmiştir (Zeybek ve Zeybek, 1994; Erdemoğlu ve ark., 2003; Gürhan ve Ezer, 2004). Başka bir kaynakta, juglon (5-hidroksi-1,4-naftakinon) ve plumbagin' in (5-hidroksi-3-metil-1,4-naftakinon) kara cevizde (*Juglans nigra*) bulunan sarı pigmentleri oluşturduğu ve bunların akne tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir (Inbaraj and Chignell, 2004).

FAO (Food and Agriculture Organization=Gıda ve Tarım Organizasyonu)' nun resmi internet sayfasında ([www.fao.org](http://www.fao.org)), 1980-1996 yıllar arasında dünya kabuklu ceviz ihracatında önemli yere sahip olan ülkelerin ABD, Meksika, Fransa ve Çin olduğu bildirilmektedir. Aynı siteye göre, ihracat kayıtlarında yer alan diğer ülkeler ise Şili, Bulgaristan, Çin, Moldavya, Hollanda, İtalya ve Hindistan' dır. Dünya kabuklu ceviz ihracatının % 60' ını ABD tek başına karşılamaktadır. ABD' yi izleyen ülkeler ise % 16.4' lük bir oranla Meksika ve % 9.3' lük bir payla Fransa' dır. Bir başka kaynağa göre, ülkemiz yaklaşık 4 milyonu aşkın ceviz ağacı ve yıllık 110 bin ton kabuklu ceviz üretimi ile dünya ceviz üretiminde ilk sıralarda yer almasına rağmen, üretimin standart aşılı ceviz çeşitleriyle yapılmamasından dolayı ceviz ihracatında hak ettiği yere bir türlü gelemediği bildirilmektedir. Gelecek yüzyılın meyvesi olarak kabul edilen ceviz ülkemizde son yıllarda önem verilmeye başlandığı yine aynı kaynakta belirtilmiştir ([www.fao.org](http://www.fao.org).; Akça, 2006).



Resim 2.1. Ceviz meyvesinin genel görünüşü  
([www.bitkiterapi.tripod.com](http://www.bitkiterapi.tripod.com))



Resim 2.2. Ceviz ağacının farklı organları  
([www.henriettesherbal.com](http://www.henriettesherbal.com))

## 2.2. Ceviz Bitkisinin Farmasötik ve Kimyasal Özelliklerine Yönelik Çalışmalar

Ceviz bitkisinin farmasötik ve kimyasal özelliklerine yönelik çok sayıda çalışma yapılmıştır. Aşağıda bu konu ile ilgili literatür özetleri verilmiştir.

2004 yılında gerçekleştirilen bir çalışmada, dünyada birçok yetişkin ve çocukta gastrointestinal enfeksiyonların nedeni olan *Helicobacter pylori* bakterisi ile çalışılmıştır. Genellikle bu enfeksiyon antibiyotik ve üç ilaç kombinasyonu ile tedavi edilmektedir. Çalışmada İran’ da yetişen meyan, ceviz, kurtbağrı, kekik, yasemin ve sıraca otu (*Glycyrrhiza aspena*, *Juglans regia*, *Ligustrum vulgare*, *Thymus kotschyonus*, *Trachyspermum copticum* ve *Xanthium brasilicum*) olmak üzere altı bitki türünün *H. pylori* üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu bitki özütlerinin 70 çocuktan kliniksel olarak izole edilen vakalarda uygulanması sonucunda tüm bitkilerin *H. pylori*’ e karşı antibakteriyal aktiviteye sahip olduğu, *X. brasilicum* ve *T. Copticum*’ dan elde edilen özütlerin en aktif özütler olduğu ifade edilmiştir (Nariman et al., 2004). Bir başka grup tarafından 1999 yılında Filistin’ de yapılan çalışmada, antifungal aktivite yönünden 22 yerel bitki araştırılmıştır. Bitki özütleri, *Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes* ve *Tricophyton violaceum* kolonilerinin gelişimi üzerinde denenmiştir. Farklı bitki türlerinin özütleri üç dermatofitin koloni gelişimini % 36-100 oranında indirmişdir. 22 bitkiden *Capparis spinosa* ve *Juglans regia*; *M. canis* ve *T. violaceum*’ un gelişimini tamamen önlemiştir (Ali-Shtaveh and Abu Ghdeib, 1999).

2005 yılında yapılan bazı çalışmalara göre, cevizde melatonin bulunmaktadır. Ceviz tüketildiğinde, kandaki melatonin konsantrasyonunun artmakta olduğunu ve bu artışın kandaki antioksidatif kapasitenin artışı ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. Dokuz ceviz kültüründe (Arco, Franquette, Hartley, Lara, Marbot, Mayette, Mellanaise, Parisienne, Rego) tokoferol ve tokotrienol kompozisyonuna bakılmıştır. Analizlerin sonucunda gözlemlenen bileşikler, alfa-tokoferol, beta-tokoferol, gama-tokoferol, delta-tokoferol ve gama-tokotrienol’ dür. Gama-tokoferol’ ün tüm örneklerde ana bileşik olduğu, sonraki bileşiklerin sırası ile alfa ve beta-tokoferol olduğu belirlenmiştir. Kültürlere ait önemli kompozisyon farklılıklarının, üretim yıllarına, genetik faktörlere bağlı olduğunu ve E

vitamini kompozisyonunun çevresel faktörler tarafından etkilendiği bildirilmiştir (Amaral et al., 2005; Reiter et al., 2005).

1997 ve 1998 yıllarında yapılan bazı çalışmalarda, *Juglans regia* L. ağacının kabuğu özütlendiğinde doza bağlı durumlarda geniş bir antimikrobiyal aktivite spektrumu gösterdiği belirtilmiştir. Birçok patojen mikroorganizma türünün gelişimini inhibe ettiği ve bu mikroorganizmaların *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp. mutantları, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Candida albicans* olduğu belirtilmiştir. Ceviz ağacının kabuğu tükürüğün pH değerini yükselttiği, böylece kabukla dişlerin fırçalanmasının oral hijyeni geliştirebileceği, diş plağı ve çürük oluşumunu engelleyebileceği, iltihaplanma ve peridental enfeksiyonları indirgeyebileceği bildirilmiştir. Ceviz ağaçlarının juglon denilen bir toksine sahip olduğunu ve juglonun bir naftakinon olduğunu belirtilmiştir. Bu maddenin ceviz ailesinin tüm üyelerinde (olgunlaşmış meyve hariç), bütün bitki bölümlerinde bulunduğu, güçlü bir fitotoksin olup, bitkileri öldürdüğü ve bazı bahçıvanların bu özelliğinden dolayı cevizi kullanışlı buldukları ifade edilmiştir. Bitkinin kökleri ile juglonu toprağa verdiği, geniş bir antimikrobiyal aktivite spektrumuna sahip olduğu, birçok bakteri ve mantar türünü öldürdüğü belirtilmiştir. Organizmanın çoğunda olayların gerçekleşmesini sağlayan birçok önemli enzimin çalışmasını juglonun inhibe ettiği, *Juglandaceae* ailesinin birçok açıdan kullanışlı olmasına rağmen, bunun tıbbi açıdan tedavi edici anlamda olmadığı belirtilmektedir. Kaynaklara göre, ceviz ağacının olgunlaşmış meyvesinde juglonun bulunmamasının hem sağlıklı hem de lezzetli bir yiyecek halini almasını sağladığı, hem de zirai yönden bitkiyi değerli kıldığı bildirilmektedir (Alkhawajah, 1997; Onken, 1998). 2003 yılında bir başka grubun gerçekleştirdiği çalışmada aralarında *Juglans regia*'nin da bulunduğu on iki tıbbi ve aromatik bitki özütlenerek, antioksidant etkisi olan fenolik bileşik içeriğine bakılmıştır. Bu bitkilerin büyüme evresinde en yüksek flavanoid oranının *Juglans regia* ve *Geranium macrorrhizum*'un gövde ve yapraklarında bulunduğu bildirilmiştir. *Juglans regia* ile yapılan çalışmalarda önemsenen genellikle meyvesi olurken, diğer kısımların özelliklerinin daha az bilinmekte olduğu ifade edilmiştir (Miliauskus et al., 2003).

2003 yılında yapılan bir çalışmada içinde *Juglans regia* yapraklarının da olduğu yedi bitki türü etanol ve su ile özütlenmiştir. Çalışma sonucunda ceviz yapraklarının etanolik özütünün farelerde görülen pençe ödemine karşı herhangi gastrik zarar



vermeksizin etkili olduğu bildirilmiştir. Diğer bir grup tarafından 2004 yılında yapılan bir çalışmada, aynı coğrafik, zirai ve iklimsel koşullarda Mayıs-Eylül ayları arasında toplanan altı farklı ceviz kültürüne ait yapraklarında yedi fenolik bileşik tanımlanmıştır. Bunlar 3-kafeolikuinik, 3-p-kumarolikuinik, 4-p-kumarolikuinik asit, kuersetin-3-galaktosid, kuersetin-3-arabinoz, kuersetin-3-ksilosid, kuersetin-3-ramnosit' ten oluşan yedi bileşik tanımlanmış olup, iki tanesinin ise kısmen tanımlanmış olan kuersetin-3-pentoz, kaempferol-3-pentoz türevleri olduğu bildirilmiştir. Aynı araştırmacılar *Juglans* türlerinde, juglonun (5-hidroksi-naftakinon) karakteristik bir bileşik olduğunu, taze ceviz yapraklarında sentezlendiği rapor etmişler ve diğer bazı Avrupa ülkelerinde olduğu gibi Portekiz' de kuru ceviz yapraklarının içeriğindeki fenolik bileşikler ve flavonoidlerden dolayı birçok gıda ürününün kalitesinin korunmasında kullanıldığını ve juglonun, kuru yapraklarda özütlendiğinde görülmediği, fakat taze yapraklardan özütlendiğinde, izole edilmesinin mümkün olduğunu ifade etmişlerdir. Yine aynı araştırmacılar, ceviz yapraklarının Mayıs ve Temmuz ayları arasında toplanılmasının tercih edilmesi gerektiğini, çünkü fenolik içeriğin daha yüksek olduğunu belirterek bu bileşiklerin, kafeik asit ve kuersetin türevlerinin mükemmel birer antioksidant olduğunu, ve bu özelliklerinin ortho-dihidroksi adlı aromatik halka özelliğinde olan yapısal bir gruptan kaynaklandığını bildirmişlerdir. 2005 yılında ise farklı bir grup yaptıkları çalışmada, akne lezyonlarından izole edilen organizmalar ve akne bölgelerinin ana oluşturucuları *Propionibacterium acnes*' e (*P.acnes*) karşı *Psidium guajava* ve *Juglans regia* yapraklarının özütünü *in vitro* koşullarda inhibitör etkisi yönünden incelemişlerdir. 38 kişiden farklı tipteki akne lezyonlarını kültüre almışlar ve *P. acnes* frekansının (yalnız ve *Staphylococci* spp.) % 47, *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis*' in sırası ile % 13 ve % 24 oranında olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmalarının sonuçlarına göre, bu bitkilerin özütlerinin yangı önleyici aktiviteleri bilindiği için akne tedavisinde etkili olabileceğini belirtmişlerdir. 1990 yılında ceviz yapraklarının ve meyvelerinin yüzey mumlarının incelendiği bir çalışmada, yüzey mumlarının % 41.6' sının yaprakta, % 35.7' sinin ise meyvede bulunduğu ifade edilmiştir. Yüzey mumlarının birincil alkollerle benzer kimyasal kompozisyon gösterdiği, diğer homolog seri olan hidrokarbonların; yaprakta % 3.0, meyvede % 15.6, esterlerin; % 3.5 yaprakta, % 3.4 meyvede, aldehytlerin; % 5.5 yaprakta, % 10.0 meyvede ve yağ asitleri; % 8.4 yaprakta, % 4.7 oranında meyvede bulunduğu belirlenmiştir. Küçük miktarlarda genel mum yağlarının ise, yaprakta % 29.8 ve meyvede % 28.6 oranında bulunduğu ifade edilmiştir (Prasad and Gülz, 1990; Erdemoğlu ve ark., 2003; Amaral et al., 2004; Qadan et al., 2005).

Geçmişte yapılan araştırmalar incelendiğinde ceviz meyveleri üzerine de farklı çalışmalar yapılmıştır. 1982 ve 2005 yılında yapılan bazı çalışmalarda, olgunlaşmamış ceviz meyvesinde çeşitli fenolik asitler, siyrinjaldehit ve juglon bulunduğu ve cevizin pelisel bölgesinin önemli fenolik bileşiklerin kaynağı olduğu da ifade edilmiştir. Olgunlaşmamış *Juglans nigra* (siyah ceviz) ve *Juglans regia* meyveleri aseton ile özütlendiğinde, sekiz farklı çeşitte uçucu 1-4 naftakinon bulunduğu belirtilmiştir. 2001 yılındaki bir diğer çalışmada 13 tane *Juglans regia L.* kùltürü incelenmiştir. Seçilen kùltürlerde çekirdek içindeki oranlara bakıldığında; toplam yağ içeriğinin, % 62.6-70.3 aralığında, ham protein oranının % 13.6-18.1 aralığında, lif oranının % 4.2-5.2 aralığında ve nişasta içeriğinin % 2.8' den fazla olmadığı gözlemlenmiştir. Çalışma sonucunda amino asit içeriğinin kùltürler arasında benzer olduğu gözlenmiş ve yüksek kalitedeki proteinlerin bulunma nedeninin içerdikleri esansiyel amino asitlerden kaynaklandığı belirtilmiştir. 2003 yılında ùlkemizde yapılan bir çalışmada, Türkiye' de yetişen *Juglans regia L.* genotiplerinin mineral, yağ asiti kompozisyonu ve çekirdek özünün (ceviz içi) özellikleri belirlenmiştir. İncelenen genotipler arasında, şebin-Tip-1, Kõrcegõz, Karabodur, Tozam ve Güvenli bulunmaktadır. Bu genotipler incelendiğinde sayılan özelliklere göre, şebin-Tip-1 ve Güvenli genotiplerinin kalitesinin daha yüksek olduğu ifade edilmiştir (Binder, 1982; Savage, 2001; Çağlarırmak, 2003; Colaric et al., 2005).

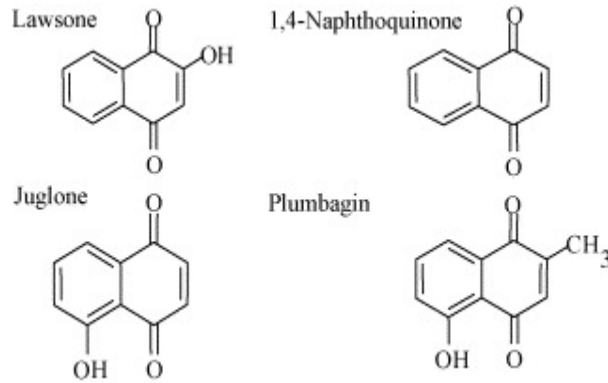
Ceviz bitkisinin tohumu üzerine 1982 ve 2004 yıllarında yapılan bazı çalışmalarda, tohum kabuğunda bulunan gallik ve ellajik asit oranları incelenmiştir. Tohum kabuğundaki gallik asit içeriğinin aflatoksigenenin inhibisyonunda potansiyel bir belirteç olduğu belirtilmiş ve cevizde bulunan hidroliz edilebilen taninlerden gallik asit seviyesinin regùlasyonu, geleneksel yetiştirme ya da genetik manipùlasyon yöntemleri ile aflatoksigeneye karşı yüksek dirence sahip olan yeni kùltürlerin yetiştirilmesi için potansiyel oluşturabileceği ifade edilmiştir. Bitkilerde serotonin' in (5-hidroksitriptamin) hormon ve avlanmaya karşı koruyucu ajan olarak görev yaptđı, ceviz tohumlarında amonyak detoksifikasyonunda ikincil ùrün olarak rol oynadığı, aynı zamanda plastidlerde gerçekleşen şikimik Asit yolunda enzimler yardımı ile sentezlendiği bildirilmiştir. Bu maddenin kotiledonlarda olgunlaşma sırasında protein taneciklerinde saklandığı ve birikmesi ile tohumların amonyağı detoksifiye edebildiği ifade edilmiştir (Grobe, 1982; Mahoney and Molyneux, 2004). 2003 ve 2004 yıllarında farklı gruplar tarafından yapılan çalışmalarda cevizin, çõzünmeyen yağ asitleri (linoleik ve oleik asit) açasından oldukça zengin olduğu ve bu asitlerin oksidasyona neden olduğu

bildirilmektedir. Ceviz özütünün ellajik asit, gallik asit, flavonoid ve kateçin içerdiği, bunların insan plazmasında ve *in vitro* sistemlerde düşük yoğunluktaki lipoproteinlerin (LDL) oksidasyonunu inhibe ettiği, LDL' nin sitotoksik etkisine karşı limfoid hücrelerini koruduğu ve *Juglans regia* özütünün kemoterapi boyunca siklofosfamid' in toksik etkisini ortadan kaldırmada yardımcı olabileceği rapor edilmiştir. Cevizdeki ellajik asit ve flavonoidlerin serumda kolesterol düzenleyici etkiye sahip potansiyeli olduğu ifade edilmektedir. Flavonoidlerden bir gurubun kalp koruyucu etkisi olduğu bilinmektedir (Fukuda et al., 2003; Haque et al., 2003; Stampar et al., 2005). 2001 yılında yapılan farklı bir çalışmada ise Yunanistan' ın Evia adasından toplanan *Juglans regia L.* (ceviz) tohumları özütlenerek yağı çıkarılmıştır. Bu yağın, Bligh-Dyer Metodu kullanılarak toplam lipit oranına bakılmıştır. Kromatografik tekniklerle lipitler izole edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda toplam yağın % 96.9' u nötral yağlarca zengin, %3.1' in ise düşük oranda polar lipitler olduğu görülmüş, nötral yağlar genellikle trigliseraldehitten oluşurken, polar yağların sfingolipitlerden oluştuğu gözlenmiştir. Yine analiz sonuçlarına göre bu yağdaki temel yağ asitinin linoleik asit olduğu bildirilmiştir. Çalışmaya göre çözünmeyen yağ asiti oranı % 85 iken, çözünen yağ asitinin oranı ise % 15' tir. Çalışmada ceviz yağı kullanılarak fosfolipitlerden lipozom oluşturulmuş ve yeniden formüle edildiği bildirilmiştir. Bu lipozomların kozmetik ve ilaç sanayinde kullanıldığı ifade edilmiştir (Tsamouris et al., 2002).

Bizim de çalışmamızda kullandığımız, cevizin yeşil kabuğu üzerine yapılan çalışmalarda ise, cevizin yeşil kabuğunda bulunan dört naftakinon serisinin (1,4-naftakinon, juglon, 2-metil-1,4-naftakinon ve plumbagin) fungal yaşama yeteneği ve aflatoksigenез üzerine etkisi *in vitro* olarak çalışılmış ve kinonların mantar türlerinin germinasyonunu geciktirdikleri, yüksek konsantrasyonlarda gelişmelerini tamamen inhibe edebildikleri gözlemlenmiştir. Naftakinonun daha yüksek konsantrasyonları uygulandığında aflatoksin üretiminin düştüğü ya da tamamen inhibe edildiği gözlenmiş, düşük konsantrasyon uygulamalarında ise aflatoksin sentezini teşvik ettiği rapor edilmiştir. Naftakinonlara ait olan juglonun, serbest oluşumu ile yükseltgenme-indirgenme reaksiyonlarını geri dönüşümlü olarak yürüttüğü ve taze yapraklarda, meyvenin yeşil kabuğunda, kök kabuğunun içersinde bulunduğu bildirilmiştir. Yeşil ceviz kabuklarında, juglonun yanında hidroksi sinamik asit, hidrobenzoik asit, flavonoid' lerin bulunduğu ve ayrıca yeşil ceviz kabuklarından geleneksel yöntemler ile

likör yapıldığı bildirilmiştir (Mahoney et al., 2000; Solar et al., 2005; Stampar et al., 2005).

Antimikrobiyal çalışmalar genellikle *in vitro* koşullarda gerçekleştirilmekle beraber *in vivo* olarak gerçekleştirilen 2005 yılındaki bir çalışmada, cevizin kandaki yağ düşürücü özelliğini belirlemek amacı ile 52 gönüllü kişi iki guruba ayrılmıştır. A gurubundaki kişilere 8 hafta boyunca günde 20 gr ceviz, B gurubuna (kontrol gurubu) ise hiç ceviz verilmemiştir. Ölçümlerde, trigliserit, yüksek yoğunluktaki toplam lipoprotein (HDL) ve düşük yoğunluktaki lipoprotein (LDL) seviyelerine bakılmıştır. A gurubunda, ortalama plazma trigliserit seviyesi (TG) % 17.1' e, HDL ve kolesterol % 9' a önemli şekilde düştüğü gözlemlenmiş ve günlük besin alımında ceviz tüketiminin, potansiyel kronik arter hastalık riskini düşürdüğü bildirilmiştir (Zibaenezhad et al., 2005).



Şekil 2.1. Cevizde bulunan bazı kimyasalların yapısı (Babula et al., 2006)

### 2.3. Deneylerde Kullanılan Mikroorganizmaların Genel Özellikleri

Aşağıda çalışmamızda kullandığımız mikroorganizmalara ait genel özellikler ve literatür özetleri verilmiştir.

### 2.3.1. *Staphylococcus* Genusu

*Micrococcaceae* familyasının *Planococcus*, *Stomatococcus*, *Micrococcus* ve *Staphylococcus* adlı dört tane genusu vardır. Stamatokoklar ve mikrokoklar insanlarda bulunsalar bile nadir olarak hastalık etkenidirler. Buna karşın stafilokoklar, basit, yüzeysel enfeksiyonlardan, insan hayatını tehdit eden ciddi sistemik enfeksiyonlara kadar geniş bir spekturuma sahiptirler. İlk defa 1880 yılında Ongston bir hastadan aldığı cerahati boyayarak üzüm salkımına benzeyen koklar görmüş ve bunlara (*staphyle*: üzüm salkımı) görünümülerinden dolayı stafilokok adını vermiştir. Rosenbach ise 1884 yılında, hastalardan alınan örneklerden, besiyerlerinde stafilokokları izole etmiştir. Stafilokoklar normal olarak, insanın derisinde ve müköz membranlarında bulunurlar. Yuvarlak hücreler olup, 0.5-1.5 µm çapında, tekli, çiftli ya da kümeler halinde bulunurlar. Fakültatif anaeropturlar. Kemoorganotroftirler, hem solunum hem de fermantasyon metabolizmasını gerçekleştirirler. Koloniler genellikle mat renkli, beyaz ya da krem renkli olabilir, bazen sarı ve turuncu olabilir. Genellikle katalaz (+), sitokrom bulundurur fakat genellikle oksidaz (-) tirler. Nitratı sık sık nitrite indirgerler. Lizostatin tarafından lizize duyarlıdır. Fakat lizozim tarafından lizize duyarlı değildirler. Genellikle % 10 NaCl içinde büyürler. Optimum sıcaklıkları 30-37 °C' dir. Genel olarak deride, sıcakkanlı omurgasızların mukuslu yüzeylerinde bulunurlar fakat tozdan, sudan ve yiyeceklerden izole edilirler. Bazı türleri insanda ve hayvanlarda fırsatçı patojendir ya da ekstraselüler toksinleri üretirler. İnsanlarda sıklıkla hastalık nedeni olan türleri *Staphylococcus aureus*, *S. epidermisis*, *S. haemolyticus*, *S. lugdenensis*, *S. saprophyticus* dur. *S. intermedius* ve *S. schleiferi*, daha çok veteriner hekimliğin ilgi sahasına girmektedir (Kılıçturgay ve ark.,1994; Holt et al., 1994).

#### 2.3.1.1. *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* spor oluşturmadığı halde vücut dışında canlılığını uzun süre koruyabilen tek insan patojenidir. Geniş bir ısı aralığında üreyebilirler (6-46 °C). Toksin oluşturmaları için gerekli minimum ve maksimum sıcaklık dereceleri daha yüksek olup 10-48 °C' dir. Optimum olarak 7.0-7.5 pH' ı tercih eden *Staphylococcus aureus* 4.0-9.3 pH sınırları arasında gelişmesini sürdürür. Gıdalarda toksin oluşturabilmek için minimum pH istekleri vejetatif gelişme isteklerinin biraz üzerindedir (pH: 4.9-5.1). Benzer durum su aktivitesi (As) değerlerinde de görülür. Minimum su aktivitesi sırası ile aerop gelişme için As: 0.83-0.86, anaerop gelişme için As: 0.90 olarak belirtilmiştir.

Toksin oluşturmak için daha yüksek su aktivitesi gerekmektedir. Sıcaklığa direnci, bulunduğu gıda maddesinin yapısına göre farklılık gösterir. Kanlı agarda 18-24 saatte, yuvarlak, düzgün, 1-4 mm çapında, hafif konveks koloniler yapar. Gliserol mono asetat gibi yağ asitleri ile zenginleştirilmiş besiyerinde 37 °C’ de üretildiklerinde, karotinoidlerden dolayı pigment oluştururlar. Anaerop koşullarda ve buyyonda pigment yapmazlar. *Staphylococcus aureus* altın sarısı kolonileri ile tanımlanır. Kanlı agarda beta hemoliz yapmaktadır (Cengiz, 1999; Akçelik ve ark., 2000).

### 2.3.1.2. Patogenez ve Enfeksiyonları

Stafilokoklar deri enfeksiyonlarında, yağ ve ter bezleri ile kıl diplerinden organizmanın vücuduna girer. İnsanın savunma mekanizması, mikroorganizmanın sayısı, virulansı, deri ve mukoza bütünlüğünün bozulması enfeksiyon oluşumunu etkileyen faktörlerdir. Damar içi protez ve katater uygulamaları ile de bakteriyemi gelişebilir (Cengiz, 1999). Doğal olarak en fazla burun ve boğaz boşluğunu örten mukoza tabakasında yer alır. Buradan birçok yere yayılır. Deride, en çok ellerde, kollarında ve yüzde bulunur. İnsan ve hayvan dışkısında, apseli yaralarda, sivilce ve çibanlarda yoğun olarak bulunmaktadır (Akçelik ve ark., 2000). Stafilocok pnömonisinin etkeni *S. aureus*’ tur. Yeni doğanlarda solunum yolu enfeksiyonlarından oluşan ölümlerin en sık nedenidir. Toksik şok sendromu ise, 1978 yılında tanımlanan, menstrual dönemde tampon kullanan kişilerde stafilocokların oluşturduğu klinik bir vakadır. Birden yükselen ateş, bulantı, kusma, baş ve karın ağrısı, diyare, hipotansiyon görülür. Bunu kalp, böbrek, karaciğer, koagülasyon bozuklukları izler. Erken tanı, etkin bir tedavi ile hastalar 7-10 gün içinde iyileşebilir (Kılıçturgay ve ark., 1994).

### 2.3.1.3. Tedavi, Epidemoloji ve Korunma

Stafilokok enfeksiyonlarına karşı aktif bağışıklık kazandırabilmek için stafilocok toksoidlerinin kullanılması başarılı olmamıştır. Aynı şekilde stafilocok aşılarının tedavideki değeride çok şüphelidir. Birçok antimikrobik, kemoterapotik madde stafilocoklara *in vitro* etkili bulunmuştur. Fakat ilaçların çoğuna karşı hızlı bir direnç oluşturması ve ilaçların nekrotik bölgelerin ortalarına kadar sızamayışları, enfekte kişinin iyileşmesini zorlaştırmaktadır. Stafilocok enfeksiyonlarında, yerel, titiz bir antiseptinin çok büyük önemi vardır. Stafilocok toplumlarının çoğunda dirençli varyantlar bulunmaktadır. Bunun içinde buna bağlı olarak herhangi bir ilacın etkisi

önceden kestirilemediği için izole edilen tüm stafilokoklara antibiyotik duyarlılık testleri uygulanmalıdır. Tedavi bu test sonucuna göre düzenlenmelidir. Stafilokoklar doğada her yerde bulunurlar. İnsanlar derilerinde koagülaz negatif stafilokok taşırlar. Özellikle sıcakta nemli deri kıvrımlarında geçici *S. aureus* yerleşmeleri de görülür. Birçok hastanede antimikrobik kemoterapik maddeler sorumsuzca kullanıldıklarından dirençli stafilokok popülasyonları hakim durumdadır. Faj tiplendirmesi ile hastane stafilokoklarının yayılış epidemolojisini kanıtlamakta yardımcı olur. Böylece eski ve yeni hastalar arasındaki yayılım yolları saptanabilir (Kılıçturgay ve ark., 1994). Stafilokokların rezervuarı insandır. Bakteri insandan insana ya hava yolu ile ya da doğrudan temasla geçer. Korunmanın temelinde hijyen kurallarına uyum prensibi bulunmaktadır (Cengiz, 1999).

### **2.3.2. *Bacillus* Genusu**

*Bacillus* genusuna ait türler, Gram (+) boyanan, sporlu, düz çubuk şeklinde, büyük bakterilerdir. Hareketlidirler. Zorunlu aerob veya fakültatif anaeropturlar. Doğada yaygın olarak bulunan bakterilerdir. Heterojen türdür. 40' tan fazla türü vardır. İnsan için en önemli olanı *Bacillus anthracis*' dir. *B. cereus*' da hastalık etkeni olabilir. Diğerleri kontaminan kabul edilir. Nadiren de olsa fırsatçı patojen olarak ciddi enfeksiyon nedeni olabilirler. Birkaç türü omurgasız ve omurgalılarda patojendir. Termofil cinsi 55 °C' den fazla ısılarda üreme yeteneğine sahiptir. Birçok cinsi alkol, antibiyotik, vitamin, enzim ve bazı çözücülerin sentezinde kullanılır. Bundan dolayı endüstriyel olarak önemlidirler. Spor oluşturmaları önemli özellikleridir. Endosporları oval, bazen yuvarlak ya da silindirik olabilir ve birçok değişik koşula karşı dirençlidir. Sporları hücreden geniş, veya aynı kalınlıkta, terminal, subterminal yerleşimli olabilir. Bundan taksonomide faydalanılır. Çiftler ya da zincir halinde bulunurlar. Kemoorganotroftirler, ya fermantasyon ya da oksijenli solunum metabolizmasına sahiptirler. Genellikle katalaz (+)' tir. Geniş bir habitat aralığı bulunmaktadır (Sneath et al., 1986; Holt et al., 1994; Kılıçturgay ve ark., 1999).

#### **2.3.2.1. *Bacillus cereus***

Morfolojik olarak, çubuk şeklinde olup, zincir halinde bulunma eğilimi de vardır. Zincirlerin stabilitesi koloni oluşumunu etkiler. Farklı suşları bulunabilir. Ekstraselüler ürünleri hemolizin, farede öldürücü olan çözünebilir toksin, bakteri hücreleri için litik

enzimler, proteolitik enzimler ve fosfolipaz C' dir. Yeterince demir içeren nişastalı medyumlarda bazı suşları kırmızı bir pigment olan pulkerimin üretirler. Bazı suşları farklı medyumlarda sarıya kaçan yeşil florasanlı pigment üretirler. Nutrient agarda bazı suşlar medyumunu koyulaştırır ve pembemsi ve kahverengi difüze olabilen pigment üretirler. Bir ya da birkaç tane amino asit ihtiyacı vardır. Vitaminlere ihtiyacı yoktur (Holt et al., 1986). *Bacillus anhracis'* e benzemekle beraber beta hemoliz oluşturması ve hareketli olmasıyla ayrımı sağlanır. *B. cereus* iki farklı klinik formda besin zehirlenmesine sebep olur. Birincisi kısa inkübasyon sürelidir. Enfekte besinlerin yenilmesinden 4 saat sonra şiddetli bulantı, kusma görülür. İkinci formu ise, uzun inkübasyon sürelidir (17-18 saat). Özellikle pirinç ile yapılan yiyeceklerde spor parçalanmadan kalmış ise, uygun ısıda vejetatif hale geçerek enterotoksini salgılar. Ayrıca konak direncinin bozulduğu zamanlarda, protezli olgularda, immunsuprese kişilerde, endokardit, menenjit, bakteriyemi gibi ciddi klinik tablolara neden olabilir. Genellikle beta laktamazlar nedeniyle penisilin ve sefalosparinlere karşı dirençlidirler. Kloramfenikol aminoglikozit, vankomisin ve klindamisin' e duyarlıdır. *B. cereus* sporları pastörizasyona dirençlidir. Bu nedenle sütün bozulmasına yol açan başlıca bakterilerdir (Kılıçturgay ve ark., 1994).

### 2.3.3. *Escherichia* Genusu

Enterik bakterilerin sınıflandırılmasında, biyokimyasal özellikleri, antibiyotik duyarlılıkları, antijenik özellikleri, plasmid, bakteriyofaj analizleri, DNA hibridizasyon çalışmaları esas alınmaktadır. Bergey's Manual of Sistematic Bacteriology (1984) adlı kaynakta *Enterobacteriaceae* ailesinde, 23 tür, 100' e yakın cins bulunduğu bildirilmiştir. Kısa ve düz çubuklar olup, 1.1-1.5 µm ile 2.0-6.0 µm boyutunda, tek ya da çiftler halinde bulunurlar. Birçok suşta kapsül ya da mikrokapsül bulunur. Gram (-)' tir. Hareketli ya da hareketsizdirler. Fakültatif anaeropturlar. Kemoorganotrofikler, hem solunum hem de fermantasyon metabolizmaları vardır. Optimal sıcaklık istekleri 37 °C' dir. D-glikozu ve diğer karbonhidratları katabolize ederek gaz ve asit oluştururlar. Oksidaz (-), katalaz (+), metil kırmızısı (+), Voges-Proskauer (-) ve genellikle sitrat (-)' tir. H<sub>2</sub>S (-), üreyi hidroliz eder ve lipaz üretirler. *Escherichia* türleri nitratı indirger. Hepsi ya da çoğu suşu L-arabinoz, maltoz, D-mannitol, D-mannoz, L-ramnoz, trehaloz ve D-ksilozu fermente ederler. O-Nitrofenil-β-D-galaktopiranozit (+)' tir. Sıcakkanlı hayvanların bağırsaklarının küçük bir bölümünün normal florasını oluştururlar.



Enterotoksin ve/veya invazif kolonizasyon faktörleri de dahil virülans faktörlerini içeren *E. coli* suşları diyare ve benzeri hastalıklara sebep olurlar. *E. coli* üriner sistem enfeksiyonlarının da ana nedenlerindedir (Holt et al., 1984, 1994).

### 2.3.3.1. *Escherichia coli*

*Escherichia coli* mikrobiyoloji laboratuvarlarında en sık izole edilen bakterilerden biridir. İnsan ve sıcak kanlı hayvanlarda doğumu takiben 1-2 saat veya gün içinde su ve gıdalarla alınarak ince bağırsakların son kısmı ve kalın bağırsak mukozasına tutunurlar. Bir *E. coli* yerleştikten sonra aylar veya yıllarca normal florada kalır ve zararlı mikroorganizmaların kolonizasyonuna mani olur. Ancak enterik enfeksiyonlar ve antibiyotik kullanımı ile kolaylıkla ortamdaki kaybolurlar. *E. coli* normal floranın temel elemanı olmakla beraber bazen, bazı suşları ile intestinal patojen olarak karşımıza çıkabilir. Ayrıca ekstraintestinal enfeksiyonların başta gelen nedenleri arasındadır. İntestinal enfeksiyonlarında rol oynayan başlıca faktörler; fimbriyal adhesinleri, enterotoksin yapımı ve kapsül yapısıdır. Ayrıca kolisin ve hemolizinin de rolü vardır. *E. coli* çoğunlukla hareketlidir, glikozdan gaz oluşturur, laktozu fermente eder, indol pozitif, sitrat negatiftir. IMViC reaksiyonu (++--) dir. EMB (Eozin Metilen Blue) besiyerinde; küçük koyu renkli ve metalik renk veren, SS (Salmonella Shigella) besiyerinde ise; pembe renkli koloniler oluşturur. Buyyonda, peptonlu suda bolca ürerler ve homojen bir bulanıklık görülür. Dipte hafif bir çökelti oluşturur ve tüp çalkalanınca kolayca dağılır. Adi agarda 2-3 mm çapında, hafif kabarık, yuvarlak, kenarları düzgün, gri-beyaz koloniler oluşur. Kanlı agarda hafif nemli görümlü, 1-2 mm çapında gri koloniler oluşturur. Mac Conkey agarda kuru, pembe-kırmızı, koloniler oluşturur. *E. coli*; sıklıkla serolojik olarak ya da virülans faktör varlığına bağlı olarak alt bölümlere ayrılır. Serotiplendirmede, somatik (O), kapsüller (K), ve flagella (H) antijen içerirler. *E. coli* tipik olmayarak, laktoz (-), hareketsiz, anaerogeniktir yani karbonhidratları fermente ederken gaz oluşturmazlar. Bunların farklı kombinasyonları ile yüzlerce değişik serotip ortaya çıkabilir. Fakat, bunların sadece sınırlı sayıdaki kısmı klinik öneme sahiptir (Kılıçturgay ve ark., 1994; Holt et al., 1994; Cengiz, 1999).

### 2.3.3.2. Enterik Patojen Olan *E. coli*' ler

Üriner sistem enfeksiyonları ve neonatal menenjitler *E. coli*' lerin başlıca enfeksiyonlarıdır. Enterik patojen olan *E. coli*' ler, klinik ve epidemiyolojik özellikleri

farklı olan 4 grupta toplanabilirler. 5. bir grup olarak Enteroagregatif *E. coli* (EAggEC) den söz edilmektedir. Ancak bütün özellikleri henüz tanımlanmamıştır.

A) Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC): Gelişmekte olan ülkelerde, infant ve turist diyarelerinin başlıca nedenleri arasındadır. Klinik tablo; basit rahatsızlık hissi şeklinde olabileceği gibi, bol sulu, kolera benzeri bir diyare ile de seyredebilir. Bakteri su ve gıdalar ile alınır. Önce kolonize olur, sonra toksinlerini salgılar. Fimbrial adhesinler salgılar. Isı-stabil ve Isı-labil isimli iki toksini vardır. Tedavide temel prensip sıvı dengesini korumaktır.

B) Enteropatojenik *E. coli* (EPEC): Kalkınmakta olan ülkelerde, infant diyarelerin önemli nedenidir. EPEC suşlarının *Shigella* enterotoksinine benzeyen bir toksini vardır. Tedavide, sıvı-elektrolit dengesinin sağlanması gerekir. Bir aşısı yoktur.

C) Enteroinvazif *E. coli* (EIEC): Distal ileum ve kolonda bir patoloji ve klinik tabloya neden olurlar. İnvazyon yeteneği plasmid kontrolündedir.

D) Enterohemorajik *E. coli* (EHEC): En önemli özelliği böbreklere yaptığı toksik etkidir. Bir sitotoksini vardır (Kılıçtırgay ve ark., 1994).

#### 2.3.4. *Salmonella* Genusu

Düz çubuklar halinde olup, 0.7-1.5 ila 2-5 µm boyutlarındadırlar. Gram (-)' tirler. Genellikle çoklu flagella ile hareketlidirler. Fakültatif anaeropturlar. Kemoorganotrofik olup, hem solunum hem de fermentasyon metabolizmaları vardır. En iyi üreme ısısı 37 °C' dir. Fakat 20 °C-42 °C sıcaklık aralığında üreyebilirler. En iyi üreyebildikleri pH: 7.4' tür. D-glikoz ve diğer karbonhidratları asit ve gaz oluşturarak katalizlerler. Oksidaz (-), katalaz (+), Indol ve Voges-Proskauer (-), metil kırmızısı ve Simmons sitrat (-)' tir. Lizin ve ornitin dekarboksilasyon (+), farklı arjinin dihidrolaz reaksiyonu vardır. H<sub>2</sub>S üretirler, üreyi hidroliz edemezler ve malonati farklı kullanırlar. Nitratı indirgerler. Genellikle, L-arabinoz, maltoz, D-mannitol, D-manoz, L-ramnoz, D- sorbitol, trehaloz ve D-ksilozu fermente ederler. İnsanda, sıcakkanlı canlılarda, yiyeceklerde ve çevrede bulunurlar. Tifoid ateş, enterik ateş, gastroenteritidis ve septisemi ajanıdır. İnsanda ve hayvanda hastalık oluşturabilirler. Serolojik ve biyokimyasal özelliklerine göre yapılan Ewing sınıflandırması ile üç tipe ayrılırlar (*Salmonella typhi*, *S. choleraesuis*, *S.*

*enteritidis*' dir. Basit agarda 2-3 mm çapında, yuvarlak, hafif konveks, kenarları düzgün ve nemli görünümlü koloniler oluştururlar. Koloniler genellikle 24 saat içerisinde gelişirler. Mac Conkey agarda renksiz, düzgün koloniler, kanlı agarda ise düzgün, gri, nemli görünümlü, 2-3 mm çapında koloniler oluştururlar. Isıya dayanıksızdırlar. 55 °C' de 1 saatte, 60 °C' de 20 dakikada ölürlür. Fakat soğuğa çok dirençlidirler. Soğuk yiyecek ve içeceklerde uzun süre canlılıklarını koruyabilmeleri, besin maddelerinden kaynaklanan salgınlara yol açabilmeleri açısından önemlidir (Holt et al., 1994; Ustaçelebi, 1994-1995; Cengiz, 1999; Akçelik ve ark., 2000). *Salmonella*' nın enfeksiyonları sırası ile gastroenterit, ekstraintestinal enfeksiyonlar ve tifo hastalığıdır. Sırası ile bu hastalıkların tedavisi için uygulamalar; gastroenteritte sıvı-elektrolit kaybı yerine konulur. Ekstraintestinal enfeksiyonlarda antibiyotik uygulaması tercih edilir. Tifoda ise seçici ilaç kloramfenikoldür. Ayrıca beta-laktamlar, kinolonlar, trimethoprim-sulfometaksazol kullanılabilir (Kılıçturgay ve ark., 1994; Cengiz, 1999). *S. enteritidis* ilk kez 1988' de Gaertner tarafından izole edilmiştir. Bu tür özellikle tavukçuluk sektörünü etkilemektedir (Kılınç ve Aydın, 2006).

### 2.3.5. *Candida* Genusu

Birçok fungus, sağlıklı insanlarda hastalık oluşturmazken; antibiyotik kullanımı sonucu normal florada değişiklik veya hastalık nedeniyle konak immün cevabında yetersizlik sonucu bazı kişilerde hastalık oluşturabilir. Oluşan fungal enfeksiyonun şiddeti, konaktaki bozukluğun derecesi ile paraleldir ve hastalık vücudun birçok organında oluşabilir. Böyle konaklarda fungal enfeksiyonun yanında diğer fırsatçı mikroorganizmalarda (virüs, bakteri, protozon) yerleşerek hastalık oluşturabilirler. Fırsatçı patojen funguslar arasında *Candida* türleri ve *Candida albicans* en sık hastalık nedeni olmaktadır (Kılıçturgay ve ark., 1994). *Candida* cinsi 7-8 µm boyutunda, 2-5 µm enindedir. Bazen 3-4 tanesi bir araya gelerek zincir, 4-5 tanesi bir araya gelerek salkım şekli oluştururlar. Oval hücrelerin uç kısmında tomurcuk (blastokonidiyum veya balastospor) oluşur, büyür ve hücreden ayrılır. Gram (+)' tirlir (Şimşek, 1993). *Candida* türleri Sabouroud Dekstroz agar gibi rutin besiyerlerinde 37 °C ' de 24 saatte üreyip, genellikle kirli beyaz veya kahverengi, yumuşak kıvamlı ve tipik olarak mayamsı kokulu koloniler oluştururlar (Cengiz, 1999).

### 2.3.5.1. *Candida albicans*

*C. albicans* maya benzeri, 2-3 µm eninde, 4-6 µm boyunda, oval, tomurcuklanan, Gram (+) bir fungusdur. Zengin besiyerlerinde ve insan vücudunda tomurcuklar uzayarak hif benzeri oluşumlar yapar. Sabouraud Dekstroz agarda oda sıcaklığında yapılan kültürlerde, yumuşak, krem rengi koloniler yapar. Genç kültürlerde agar yüzeyindeki görünümü bakteri kolonilerine benzer. Eski kültürlerinde ise yüzey, güderi görünümünde pürüzlü olup besiyerinin içine uzanan blastosporlar vejetatif misel görünümü verirler. Yalancı hiflerden kalın, yuvarlak, ara ve uç klamidosporeler oluşur. Bu oluşum en iyi Corn Meal agarda görülür ve *C. albicans*' ı diğer *Candida* türlerinden ayırmada önemli bir özelliktir. Glikoz ve maltozu hem asit hem de gaz oluşturarak fermente ederler. Sukrozdan asit oluştururlar. Fakat laktoza etki etmezler. 24 saatlik kültürlerden alınan örneklerin 2-3 saat süreyle, içinde serum bulunan tüplerde 37 °C ' de bekletilmesiyle oluşan germ tüp, *C. albicans* ve *C. stellatoidea* dışındaki türlerde görülmez. *Candida* türleri arasında medikal anlamda önemli olan *Candida albicans*' ın oluşturduğu hastalık Kandidoz' dur. Patogenez aşamaları sırası ile; flora, kolonizasyon ve enfeksiyon aşamalarıdır. Flora aşamasında; *Candida* türleri vücudun floralı bölgelerine yerleşerek oradaki diğer mikroorganizmalar ile denge halinde bulunurlar. Kolonizasyonda ise uzun süre ve yüksek dozda antibiyotik, kortikosteroid gibi ilaçların kullanımı ve diabet gibi hastalıklar sonucu florada değişiklikler olur ve *Candida* türlerinin oranı florada baskın hale geçer. Enfeksiyon aşamasında ise *Candida*' lar önce floraya sahip olurlar, ya buldukları yerde ya da yayılarak vücudun başka bölgelerinde Kandidoza neden olurlar. Lokal ve diseminat Kandidoz diye iki türü vardır. Laboratuvar tanısı için çeşitli uygulamalar mevcuttur. Yüzeysel lezyonlardan alınan kazıntılar, balgam, eksudalar, idrar ve intravenöz kateterler direkt mikrobiyolojik incelemeye alınır. Örneklerin gram boyalı preparatında yalancı hifler ve tomurcuklanan maya hücreleri görülebilir. Deri ve tırnak kazıntıları KOH ile incelenir. Kültürler Sabouraud Dekstroz agar ve Corn Meal agarda 26 °C ve 37 °C' de yapılarak izolasyon ve identifikasyona gidilir. Gerekirse germ tüp oluşumu araştırılabilir. Tedavi için ise; lokal Kandidoz' da en iyi yöntem nedenin ortadan kaldırılmasıdır. Nemli bölgelerin ortadan kaldırılması ve antibiyotik tedavisinin en kısa sürede sonlandırılması gerekmektedir. Gastrointestinal Kandidoz' da oral nistatin, oral Kandidoz' da nistatin süspansiyon, sodyum bikarbonat, metilin mavisi yerel olarak kullanılır. Diğer Kandidoz türlerinde ise, nistatin, clotrimazole, miconazole pomad, ağızdan tek doz flukonazol, amfoterisin B ve flusitozin kombinasyonu

önerilmektedir. Ama günümüzde flukonazol etkili olarak kullanılan ilaçtır. Kandidozlar insanda insana bulaşmaz. Bulaşma endojen kaynaklıdır. Korunmada kolonizasyonu kolaylaştıran faktörlerin ortadan kaldırılması önemlidir (Kılıçturgay ve ark., 1994). *Candida* türleri deney hayvanları içinde patojen olabilir. Serolojik olarak aglutinasyon, florosan antikor, ELISA ile tanı yapılır (Şimşek, 1993).

### 3. MATERYAL ve METOT

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Materyalin Eldesi

Çalışmamızda, *Juglans regia L.* (ceviz) meyvesinin yeşil kabukları ana materyal olarak seçilmiştir. Bitki materyali üç farklı istasyondan toplanarak elde edilmiştir. Ceviz meyveleri bu istasyonlardan 2005 yılının Haziran ayının sonu – Temmuz ayının başında toplanmıştır.

Ceviz meyvelerinin toplandığı istasyonlar:

1. İstanbul-Pendik-Güzelyalı-Gülizar Zeki Obdan Lisesi Bahçesi
2. Kocaeli-Gebze-Çayırova-GYTE Çayırova Yerleşkesi Bahçesi
3. Giresun-Şebinkarahisar-Bağlar Köyü

Farklı istasyonlardan toplanan bitki materyalleri incelendiğinde, Güzelyalı ve Çayırova istasyonlarından toplanan meyvelerde anatomik benzerlikler çok fazla iken, Şebinkarahisar' dan toplanan bitki materyalinin anatomik yapısı diğerlerinden gözle görülebilecek şekilde farklılık göstermektedir.

Şebin ceviz çeşidi Şebinkarahisar İlçesi Kırkgöz Mahallesi orijinelidir. Çeşidin orijinindeki ortalama meyve ağırlığı 9.40 gr, iç ağırlığı 6.60 gr, iç randımanı % 63 ve yağ içeriği ise % 69.40 olarak belirlenmiştir (Çelebioğlu ve Ağgül, 1981).

Toplanan meyveler GYTE Muallimköy yerleşkesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji laboratuvarına getirilmiş ve deney hazırlıklarına başlanmıştır.

### 3.1.2. Deneylerde Kullanılan Mikroorganizmalar

Çalışmamızda kullanılan mikroorganizmalar GYTE Muallimköy yerleşkesi Biyoloji Bölümünden temin edilmiştir. Bu mikroorganizmalar;

- *Bacillus cereus* 4312
- *Staphylococcus aureus* 29213
- *Salmonella enteritidis* 64
- *Escherichia coli* ATCC 1213
- *Candida albicans* ATCC 8739' dur.

### 3.1.3. Kullanılan Maddeler

Deneyler süresince kullanılan maddeler GYTE Muallimköy yerleşkesi Biyoloji Bölümünden temin edilmiştir. Bu maddeler;

- Nutrient Agar (MERCK, 1000 ml distile su içerisinde 20 gr besiyeri konularak hazırlanır.)
- Hekzan (Riedel-de Haen, 15671, M: 86.18 g/mol)
- Fizyolojik tuzlu su (MERCK, M: 58.44 g/mol, 1000 ml içerisinde 8.5-9 gr tuz konularak hazırlanır.)
- Steril distile su
- Etil Alkol (Teknik dezenfektan olarak)
- Antimikrobiyal ilaçlar (Gentamisin, Ampisilin, Kanamisin, Streptomisin, Siproflaksin ve Oceral)' dır.

### 3.1.4. Kullanılan Araç ve Gereçler

Çalışmamızda kullandığımız araç ve gereçler GYTE Muallimköy yerleşkesi Biyoloji ve Kimya Bölümlerinden temin edilmiştir. Bu araç ve gereçler ise;

- Otoklav (HICLAVE-HVE 50, HIRAYAMA)
- Etüv (Heraeus INSTRUMENTS, D-63450, Tip: B6-50042301, 70 °C IP 20, IN/PE, 50/60 Hz, Klasse 3-1, 230 V, 1.4 A, 0.32 KW)
- Manyetik karıştırıcı (IKA- Labortechnik, 230 V, 50/60 Hz, 415 W, 20-2000 1/dk, IP 21)
- Vorteks (nüve, NM 110, Tip: NM 100, Seri No: 02-1015, Güç: 220 v, Max. Hız: 2400 RPM, Max Sıcaklık: 0 °C, Fuse: 0.5 A)
- Elektronik hassas tartı (sartorius, BL 210S, Max. 210 gr, d: 0.1 mg)
- Dijital fotoğraf makinesi (NIKON)
- Mikro pipet 20-200 µl ve 100-1000 µl (BRAND)
- Pipet ucu (sarı – mavi)
- El Blendır (SINBO, Model No: SHB-3002, 230 V/50Hz/170W)
- Soxhlet apereyi ve kartuşu (Scheicher&Schuell Microscience 6003, Extraction Thimbles, 43×123 mm, 25/pieces, Ref. No: 10350267, Lot EI0618-1)
- Rotary Evaporatör (BÜCHI, Rotavapor R-200, Vacuum Controler V-805)
- Petri kapları, cam tüpler, öze, baget, beher, balon jojeler, lam, lamel, plastik enjeksiyon



- Mc Farland ölçüm cihazı (Crystal Spec <sup>TM</sup>, NEPHEROMETER <sup>TM</sup>, In Vitro Diagnostic, BECTON DICKINSON&Company, Catalog No: 245009, 9 VDC mA, Seri No: 3820002)
- Bıçak, mutfak süzgeci
- Filtre malzemeleri (Schleicher & Schuell Microscience Filter Paper (Ø 125 mm), 13806-Ø 50 AC-0402103) Sartorius-Cellulose-Nitrate-Filter, Chromatil CA-20/25S MN-Macherey- Nagel)
- Diskler (Schleicher & Schuell Microscience, 2668, Antibiotic Assay Disks, Ø 6 mm, Ref. No:10 321 260)

## 3.2. Metot

Çalışmada kullanılan yeşil ceviz kabuklarının özütlenmesi ve antimikrobiyal etkinliğinin belirlenmesi amacı ile uygulanan metot ve işlemler aşağıda anlatılmıştır.

### 3.2.1. Bitkinin Özütlenmesi İçin Yapılan İşlemler

Yeşil ceviz kabuklarının antimikrobiyal etkisinin araştırılması amacı ile yapılan özütleme işlemleri için iki farklı yöntem uygulanmıştır.

Bu yöntemler:

- Direk özütleme
- Soxhlet apereyi ile özütleme' dir.

### 3.2.2. Yeşil Ceviz Kabuklarının Özütleme İşlemleri İçin Hazırlanması

Haziran ve Temmuz aylarında farklı istasyonlardan toplanan ceviz meyveleri laboratuvar ortamına getirildikten sonra, meyvelerin yeşil kabukları bir bıçak yardımı ile soyularak eşit miktarda iki kısma ayrıldı. Bir kısmını doğrudan özütlenmek için

kullanıldı, diğer kısmı ise gölgede, oda sıcaklığında, kurutma kağıtlarında kurutulmaya bırakıldı.

### 3.2.3. Direk Özütleme

Yeşil ceviz kabukları çıkarıldıktan sonra, kabuklar bir el blendırı (SINBO) yardımı ile iyice ezildi. Lapa kıvamına gelen meyve kabukları öncelikle ince gözlü plastik mutfak süzgecinden bir kaşık yardımı ile tekrar iyice ezilerek, kabuklardaki sıvı kısım steril koşullarda bir behere ayrıldı. Bu sıvı tekrar ikiye ayrıldı. Bir kısmı steril olarak antimikrobiyal denemeler için doğrudan kullanıldı. Diğer kısmı ise farklı işlemlerden geçirildikten sonra antimikrobiyal aktivitesine bakıldı. Bu işlemler sırası ile;

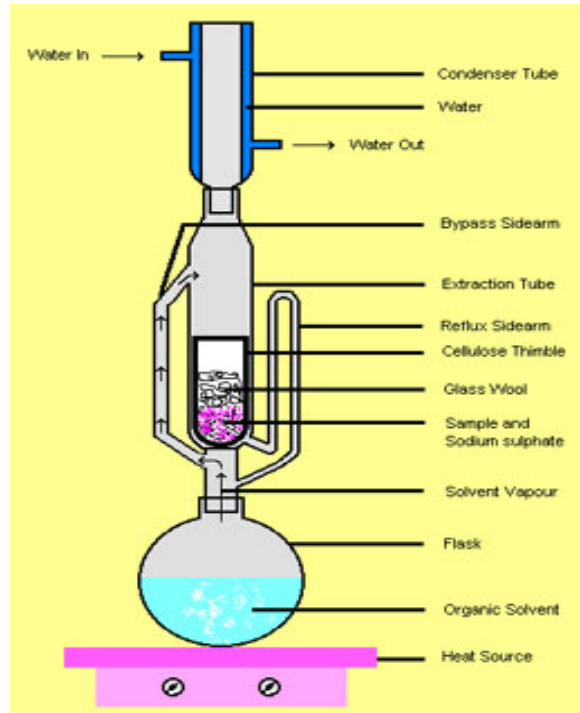
1. Ayrılan kısım ilk olarak kurutma kağıdı kullanılarak bir erlene süzdürüldü.
2. Yeni süzüntü, süzme kağıdından [Schleicher & Schuell Microscience Filter Paper (Ø 125 mm)] tekrar süzdürüldü.
3. Eldeki yeni süzüntü tekrar 0.45 µm' lik [(13806-Ø 50 AC-0402103) Sartorius-Cellulose-Nitrate-Filter] filtreden geçirildi.
4. Son olarak ise başka filtreden [Chromatil CA-20/25S MN-Macherey- Nagel] plastik bir enjeksiyon yardımı ile alevin yanında steril şartlarda, steril bir şişeye süzüldü.

Bu işlemlerin hepsi oda sıcaklığında gerçekleştirildi. Bu işlemler sonucunda biri filtre edilmiş diğeri edilmemiş iki süzüntü elde edildi. Eldeki iki sıvıda kına yeşili renginde idi. Bu işlemler meyve kabukları taze iken gerçekleştirildi.

### 3.2.4. Soxhlet Apeyri İle Özütleme

Toplanan yeşil ceviz kabukları yaklaşık 2-3 hafta boyunca kurutma kağıtlarında kurutuldu. Kuruyan kabuklar bir kavanoz içine konularak, bir el blendırı yardımı ile daha ufak parçalara ayrıldı. Bu ufaltılan kabuk parçaları Soxhlet kartuşuna doldurularak Soxhlet apeyriinin haznesine yerleştirildi. Daha sonra kabuklar Soxhlet apeyriinde bir çözücü (hekzan= $C_6H_{14}$ ) ile özütlendi. Çözücü olarak hekzan (Riedel) kullanıldı. Soxhlet apeyriinde, çözücünün kaynama noktasını (69 °C) geçmeyecek bir ısıda bitki materyali özütlenmiştir.

Soxhlet apereyi, 1879 yılında Franz von Soxhlet tarafından icat edilen bir laboratuvar cihazıdır. Önceleri, katı bir deney numunesinden yağ özütlenmesi için tasarlanmış olmasına rağmen bir bileşiği bir katıdan özütlemenin zor olduğu her şartta kullanılabilir. Genellikle, kuru deney numunesi Soxhlet apereyine yerleştirilen, filtre kağıdından yapılmış yüksük şeklinde bir özütleme tüpüne konur. Apereye, çözücü (genellikle di etil eter ya da petrolyum eter) içeren şilifli bir cam balon ve yoğunlaştırıcı takılır. Çözücü ısıtılır ve böylece buharlaştırılır. Sıcak çözücü buharı yoğunlaştırıcıya ilerler, yoğunlaşarak katı numunenin üzerine düşer. Numuneyi içeren özütleme tüpünün bulunduğu yüksük yoğunlaşan çözücü ile tam dolduğunda, bypass kolunun seviyesine ulaşır ve sifon oluşarak çözücü tekrar cam balona boşalır. Bu yoğunlaşma, yükselme ve sifon döngüsü, 'reflux' olarak adlandırılır ve sürekli tekrar edilir. Her döngü sırasında, katının içerdiği bir miktar yağ çözücüde çözünür. Ama çözücünün ısıtılan cam balonuna ulaştığında orada kalır, döngüye tekrar katılmaz. Bu durum, bu özütleme metodunun en önemli avantajıdır, sadece saf çözücü katıyı özütlemek için buharlaşır ve yoğunlaşır, döngüye katılır. Bu nedenle, bir cam balonda katıyı çözücü içerisinde ısıtarak özütleme yöntemiyle karşılaştırıldığında Soxhlet apereyi ile uygulanan bu yöntemin verimi daha yüksektir. Bir özütlemenin sonunda arta kalan çözücü, özütlenen yağı bırakarak Rotary buharlaştırıcısı ile uzaklaştırılabilir ([www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org)).



Şekil 3.1. Soxhlet Apereyi ([www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org))

### 3.2.5. Çözücünün Uzaklaştırılması

Soxhlet apereyi kullanılarak yapılan özütleme işlemi bittikten sonra çözücünün uzaklaştırılması gerekmektedir. Uzaklaştırma işlemi için ve çözücünün tekrar kazanımı için Rotary evaporatör (BÜCHI) kullanıldı. Çözücü Rotary evaporatör' de 40 °C sabit ısıda uzaklaştırıldı. Çözücü uzaklaştırıldıktan sonra koyu yeşil renkli, yoğun, katı ve yapışkan bir özüt elde edildi. Özütler ufak, plastik beherlerde ağzı kapalı olarak, oda sıcaklığında kullanılmaya bırakıldı.

### 3.2.6. Besiyeri ve Mikroorganizmaların Hazırlanması

Çalışmamızda kullanılan besiyerinin ve mikroorganizmaların deneyler için hazırlanma yöntemleri aşağıda verilmiştir.

#### 3.2.6.1. Besiyerinin Hazırlanması

Çalışma süresince mikroorganizmaların gelişimi için besiyeri olarak Nutrient agar (MERCK) kullanıldı. Nutrient agar besiyeri hazırlamak için öncelikle 1000 ml distile su içersine 20 gram Nutrient agar tartılarak cam bir joje içinde karıştırıldı. Jojenin ağzı aliminyum folyo ile kapatılarak, 121 °C' de, 1-2 atm. basınç altında ve 15 dakika boyunca otoklavda steril edildi. 121 °C' de, 1-2 atm. basınç altında ve 20 dakika boyunca cam petrilere kullanılmadan önce steril edildi. Otoklavdan çıkarılan besiyeri 50 °C' e kadar soğutuldu ve steril koşullarda cam petrilere 4 mm (~20 ml) kalınlığında döküldü. Daha sonra besiyerinin katılaşması beklendi. Katılaştıran besiyerleri kullanılabilece kadar + 4 °C' de buzdolabında bekletildi.

#### 3.2.6.2. Mikroorganizmaların Ekimler İçin Hazırlanmaları

Mikroorganizmalar GYTE-Muallimköy yerleşkesinde bulunan Biyoloji Bölümünden temin edilen saf suşlardan alınarak, ekimlerde kullanıldı. Stoklardan alınan saf suşlar, çalışma öncesinde mevcut oda sıcaklığına getirildi. Steril koşullarda öze yardımı ile alınan mikroorganizmalar, daha önceden hazırlanan besiyeri içeren petrilere, çizgi yöntemi ile ekildi. Ekimi yapılan mikroorganizmalar 37 °C' de 24 saat boyunca

etüvde bekletildi. Taze kültürler bu yöntemle hazırlandı. Ekimlerde dikkat edilmesi gereken en önemli nokta dekontaminasyonun olmamasıdır (Tunç, 2000).

### 3.2.7. Mikroorganizmalar ve Mc Farland Yoğunluk Standardının Ayarlanması

Antibakteriyal çalışmalarda ve duyarlılık testlerinde kullanılan bakteri süspansiyonları hazırlanırken Mc Farland yoğunluk standartlarından faydalanılmaktadır. Baryum klorür ile sülfürik asit karıştırılınca meydana gelen baryum sülfat, ortamda opak renkli bir bulanıklık oluşturmaktadır. Baryum klorür ile sülfürik asit oranlarının değiştirilmesiyle farklı bulanıklıkta çözeltiler oluşmakta, bunlara karşılık gelen bakteri sayısı da, bulanıklığın artması ile doğru orantılı olarak artmaktadır (bkz. Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Mc Farland Standardı hazırlanmasında BaCl<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltilerine karşılık gelen bakteri (hücre) sayısı

Tüp no	%1 BaCl <sub>2</sub> (ml)	%1 H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (ml)	Bulanıklığa karşılık gelen bakteri sayısı (X 10 <sup>6</sup> / ml)
1	0,1	9,9	300
2	0,2	9,8	600
3	0,3	9,7	900
4	0,4	9,6	1.200
5	0,5	9,5	1.500
6	0,6	9,4	1.800
7	0,7	9,3	2.100
8	0,8	9,2	2.400
9	0,9	9,1	2.700
10	1,0	9,0	3.000

Temiz bir tüp içine, Tablo 3.1' de verilen oranlarda % 1' lik  $H_2SO_4$  ve % 1' lik  $BaCl_2$ ' ün suda hazırlanmış çözeltilerinden katılıp iyice karıştırılır ve buharlaşmayı önlemek amacıyla tüplerin ağzı sıkı bir şekilde kapatılır. Birbirini takip eden iki tüp arasında  $300 \times 10^5$  adet bakterinin oluşturacağı kadar bir bulanıklık farkı vardır. Eğer elde edilmek istenen sayı bundan daha hassas sınırlar arasında ise, o zaman baryum klorür ve sülfürik asidin % 0,1' lik çözeltileri tabloda verilen oranlar ile karıştırılır. Ya da %1' lik baryum klorürden tabloda olduğu gibi daha hassas ilaveler yapılır. Bu durumda tüplerdeki %1' lik sülfürik asit hacmi=10 ml baryum klorür hacmi ile hesaplanmalıdır. Örneğin, kültür süspansiyonunda bulunan sayı 4 ve 5 numaralı tüp arasında bir bulanıklık gösteriyorsa, o zaman baryum klorür miktarının 0,4-0,5 ml arasında değiştiği 10 tüplük bir seri daha hazırlanır. Bu taktirde elde edilen seriye ait bakteri sayısı da tabloda gibi değişecektir. Bulanıklığı veren Mc Farland çözeltileri ile bakteri yoğunluğunun kıyaslanmasında besiyerinden gelecek etkiyi kaldırmak amacı ile bakteri süspansiyonu santrifüj edilip 1-3 sefer steril filtreden geçirilmiş fizyolojik tuzlu su ile yıkanır ve orijinal bakteri süspansiyonu hacmine getirilerek spektrofotometrede (545 nm veya 650 nm dalga boyunda) ya da çıplak göz ile kıyaslaması yapılır (www.mikrobiyoloji.org).

Antimikrobiyal aktivite tayininde kullanılan mikroorganizmalar öncelikle Nutrient agara stoklardan çizgi yöntemi ile kültüre alındı. Bunun amacı taze kültürler hazırlamaktı. Ekimi yapılan petriyerler 24 saat boyunca  $37^\circ C$ ' de etüvde bekletildi. Ertesi gün taze kültürlerden öze yardımı ile steril tüplere hazırlanmış olan fizyolojik tuz çözeltisi içine mikroorganizmalar konularak Mc Farland yoğunluk ayarları yapıldı. Fizyolojik tuz çözeltisi 1000 ml distile su içine 8.5 veya 9 gr NaCl (serum fizyolojik) karıştırılarak hazırlandı. Hazırlanan tuz çözeltisi  $120^\circ C$ ' de, 1-2 atm. basınç altında 20 dakika boyunca otoklavda steril edildi.

### **3.2.8. Elde Edilen Özütlerin Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler**

Farklı yöntemlerle elde edilen özütlerin, antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler aşağıda verilmiştir.

### 3.2.8.1. Disk-Difüzyon Yöntemi

Antibiyotik emdirilmiş kağıt diskler kullanılarak, mikroorganizmaların üremelerinin inhibisyonları (önlenmesi) belirlenir. Petri kutusuna dökülen özel agarlı besiyeri üzerine antibiyotik duyarlılık durumu saptanacak bakterinin standart sulandırımı yayılır. Üzerine belirli aralıklarla antibiyotik diskler yerleştirilir. Her bir diskte bilinen dozda ( $\mu\text{gr/ml}$ ) antibiyotik bulunur. Değerlendirme, disk etrafında oluşan ürememe alanının çapının mm olarak ölçülmesiyle yapılır. Her antibiyotik için sözü edilen çapın (zon) milimetrik değerine göre "dirençli", "orta duyarlı" veya "duyarlı" olarak belirtilir ([www.adu.edu.tr/kitap/EHSM/1213/unite05](http://www.adu.edu.tr/kitap/EHSM/1213/unite05)).

### 3.2.8.2. Disk-Difüzyon Yönteminde Disklerin Hazırlanması

Deneylerde 6 mm çapında, 121 °C' de 1-2 atm. basınç altında, 20 dakika boyunca otoklavda steril edilmiş olan standart boş diskler kullanılmıştır. Direk özütleme ve Soxhlet apereyi yardımı ile elde edilen özütlerin disklere emdirilebilmesi için ancak çözücü bir ortama ihtiyaç vardır. Direk özütlenerek elde edilen sıvı kolayca disklere emdirilebilmiştir. Fakat Soxhlet apereyi kullanılarak elde edilen özüt katı ve kıvamlı bir madde olduğu için, bir çözücü yardımı ile çözdürüldükten sonra disklere emdirilmiştir. Çözücü olarak ise hekzan kullanılmıştır.

### 3.2.8.3. Disk-Difüzyon Yöntemi İle Bitki Materyalinin Antimikrobiyal Etkinliğinin Araştırılması

Çalışmada kullanılan tüm mikroorganizmalar, antimikrobiyal çalışmalarda kullanılmadan önce 0.5 Mc Farland (bakteriler için  $10^8$  CFU/ml, mayalar için  $10^6$  CFU/ml) yoğunluk standardına göre süspansiyon edildi. 0.5 Mc Farland yoğunluk standardının ayarlanması ise aşağıdaki yöntemle yapılmıştır.

Bir gün önceden hazırlanmış olan taze kültürlerden alevin yanında, öze kullanılarak alınan mikroorganizmalar fizyolojik tuz çözeltisine konuldu. Vortekslendikten sonra mikroorganizmaların miktarı 0.5 Mc Farland yoğunluk ayarına göre standardize edildi. Daha sonra yine steril şartlarda mikroorganizma süspansiyonlarından pipet yardımı ile 0.1 ml alınarak, besiyeri içeren steril petrilere konuldu. Ardından steril koşullarda

mikroorganizma süspansiyonları, bir baget yardımı ile homojen bir şekilde besiyerlerine yayılarak ekimleri yapıldı. Mikroorganizmalar üzerinde hem materyalin etkisini gözlemlemek, hem de kontrol grubunu gözlemleyebilmek için aynı petriyer kullanıldı. Yayma yöntemi ile ekimler yapıldıktan sonra, bir pens yardımı ile steril standart boş diskler hafifçe besiyeri üzerine bastırılarak eşit mesafede yerleştirildi. Daha sonra pipet yardımı ile disklere 20 µl özüt emdirildi. Aynı petriye dört tane boş disk yerleştirildi. Birincisine çözücü ve ceviz özütü, ikincisine yalnız çözücü (hekzan), üçüncüsüne antibakteriyel veya antifungal ilaç emdirilmiş olup, dördüncüsüne ise hiç bir işlem yapılmayarak boş bırakılmıştır. Diskler yerleştirildikten sonra bir süre oda sıcaklığında bekletilen petriyer 37 °C' de 24 saat boyunca etüvde bekletildi. Bu çalışma her bir organizma için ikişer paralelli olarak ayrı ayrı denendi. 24 saat sonunda etüvden çıkarılan petriyer zon tayini için ölçüme alındı.

### **3.2.9. Zon Çaplarının Ölçülmesi**

24 saat boyunca 37 °C' de etüvde bekleyen mikroorganizmaların üzerinde, bitki materyalinin antimikrobiyal aktivitesinin olup olmadığının belirlenmesi için disklerin etrafında oluşan zonların ölçümü yapıldı. Petriyerde oluşan zonların belirlenmesinde cetvel kullanıldı. Zon çapları cm cinsinde ölçülüp, mm' ye çevrildi. İki paralelli yapılan deneylerde zon çaplarının ortalaması alınarak sonuçlar kaydedildi. Diskler etrafında oluşan zon çaplarına bakılarak bitki materyalinin çalışmada kullanılan mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal aktivitesinin olup olmadığına karar verildi.



## 4. BULGULAR

### 4.1. Disk-Difüzyon Yönteminin Sonuçları

#### 4.1.1. Soxhlet Apereyi İle Güzelyalı Cevizinden Elde Edilen Özütün

##### *Bacillus cereus* 4312 Üzerine Etkisi

Petrilere, yayma yöntemi ile 0.5 Mc Farland yoğunluk standardına göre ayarlanmış olan *Bacillus cereus* 4312 süspansiyonundan 0.1 ml ekim yapıldı. Soxhlet apereyi kullanılarak elde edilen özütten steril boş diske 20 µl emdirildi. Diğer disklere sırası ile hekzan, gentamisin adlı antibiyotik emdirildi. Bir tane de steril boş disk konuldu. 37 °C’ de 24 saat boyunca etüvde bekletilen petride mikroorganizmanın özüte ve kontrol grubu olarak denenen antibiyotiğe karşı oluşturduğu zon çapları ölçüldü. Uygulama sonucunun görüntüsü Resim 4.1’ de ve ölçülen inhibisyon zon çapları ise Tablo 4.1’ de gösterilmiştir.

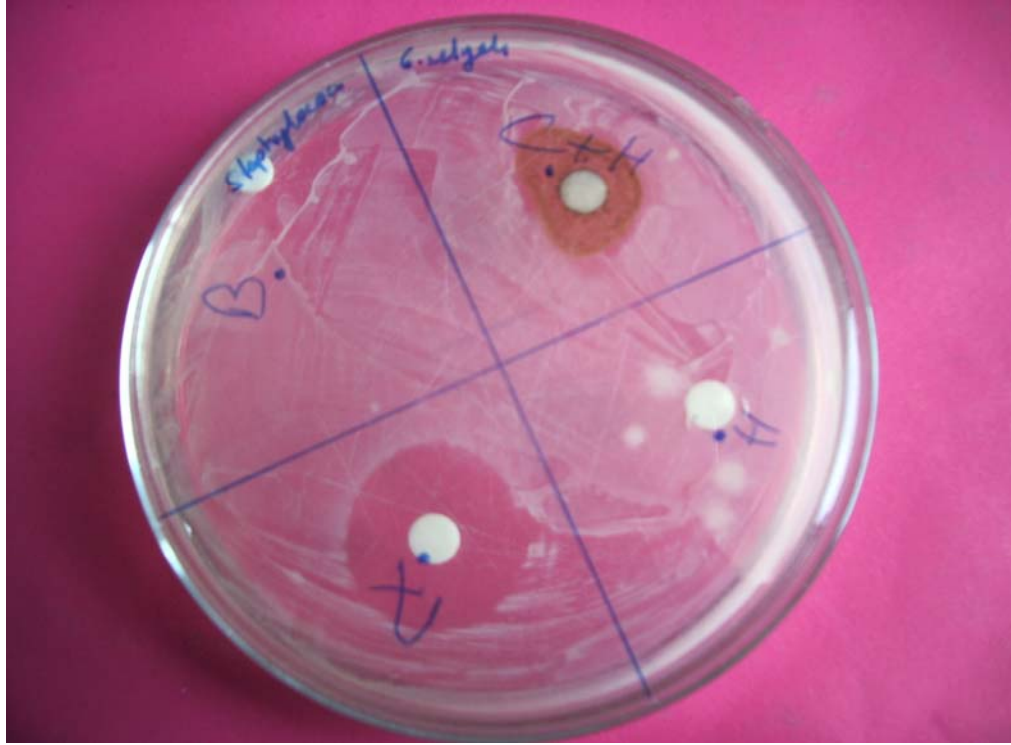


Resim 4.1. Güzelyalı istasyonundan toplanan cevizden Soxhlet apereyi ile elde edilen özütün *Bacillus cereus* 4312 suşunun üzerine uygulanması sonucu görülen zonlar (A: Gentamisin, H: Hekzan, C+H: Güzelyalı cevizi+Hekzan, B: Steril Boş Disk)

#### 4.1.2. Soxhlet Apeyi İle Güzelyalı Cevizinden Elde Edilen Özütün

##### *Staphylococcus auerus* 29213 Üzerine Etkisi

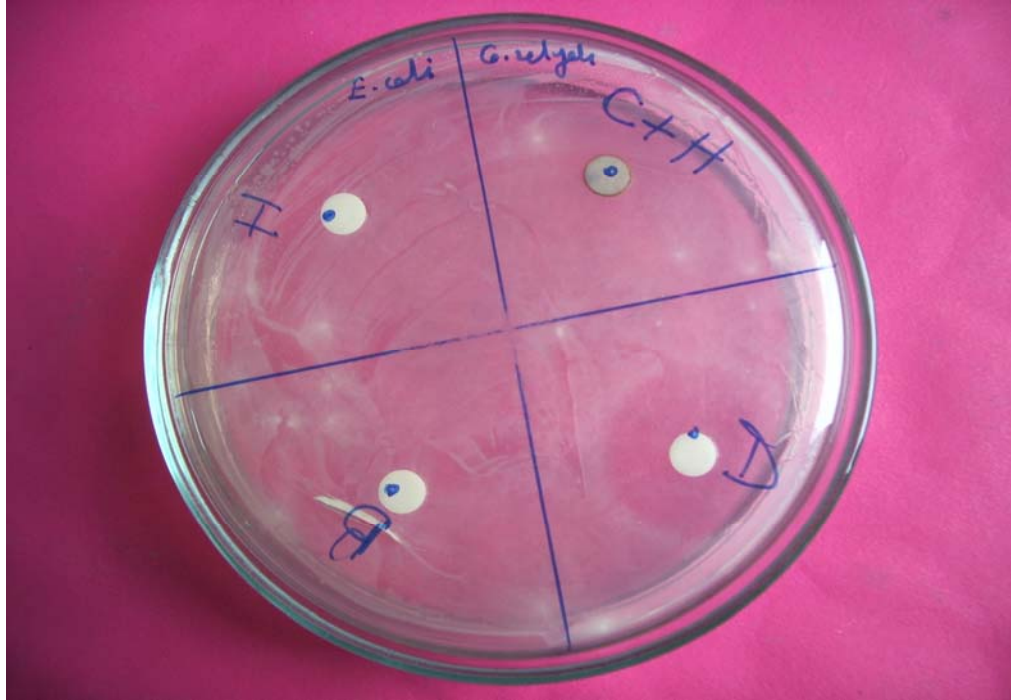
Petrilere, yayma yöntemi ile 0.5 Mc Farland yoğunluk standardına göre ayarlanmış olan *Staphylococcus auerus* 29213 süspansiyonundan 0.1 ml ekim yapıldı. Soxhlet apareyi kullanılarak elde edilen özütten steril boş diske 20 µl emdirildi. Diğer diskler sırası ile hekzan, gentamisin adlı antibiyotik emdirildi. Bir tane de steril boş disk konuldu. 37 °C' de 24 saat boyunca etüvde bekletilen petride mikroorganizmanın özüte ve kontrol grubu olarak denenen antibiyotiğe karşı oluşturduğu zon çapları ölçüldü. Uygulama sonucunun görüntüsü Resim 4.2' de ve ölçülen inhibisyon zon çaplarının sonuçları Tablo 4.1' de gösterilmiştir.



Resim 4.2. Güzelyalı istasyonundan toplanan cevizden Soxhlet apareyi ile elde edilen özütün *Staphylococcus auerus* 29213 suşunun üzerine uygulanması sonucu görülen zonlar (A: Gentamisin, H: Hekzan, C+H: Güzelyalı cevizi+Hekzan, B: Steril Boş Disk)

### 4.1.3. Soxhlet Apereyi İle Güzelyalı Cevizinden Elde Edilen Özütün *Escherichia coli* ATCC 1213 Üzerine Etkisi

Petrilere, yayma yöntemi ile 0.5 Mc Farland yoğunluk standardına göre ayarlanmış olan *E. coli* ATCC 1213 süspansiyonundan 0.1 ml ekim yapıldı. Soxhlet apareyi kullanılarak elde edilen özütten steril boş diske 20 µl emdirildi. Diğer disklere sırası ile hekzan, gentamisin adlı antibiyotik emdirildi. Bir tane de steril boş disk konuldu. 37 °C' de 24 saat boyunca etüvde bekletilen petride mikroorganizmanın özüte ve kontrol grubu olarak denenen antibiyotiğe karşı oluşturduğu zon çapları ölçüldü. Uygulama sonucunun görüntüsü Resim 4.3' de ve oluşan inhibisyon zon çapları Tablo 4.1' de gösterilmiştir.

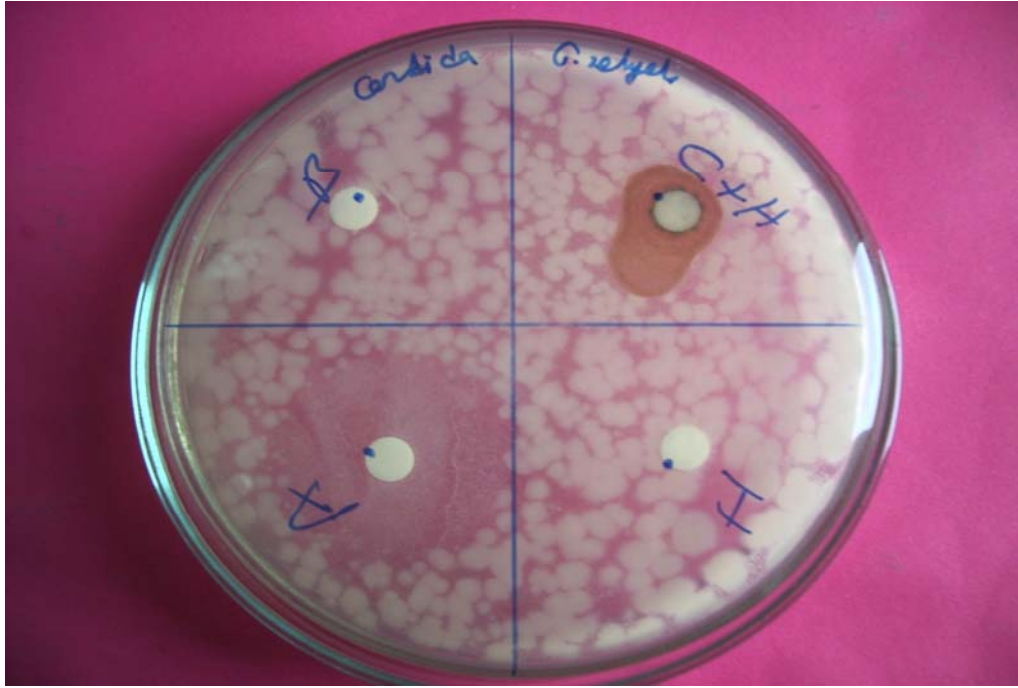


Resim 4.3. Güzelyalı istasyonundan toplanan cevizden Soxhlet apareyi ile elde edilen özütün *E. coli* ATCC 1213 suşunun üzerine uygulanması sonucu görülen zonlar (A: Gentamisin, H: Hekzan, C+H: Güzelyalı cevizi+Hekzan, B: Steril Boş Disk)

#### 4.1.4. Soxhlet Apereyi İle Güzelyalı Cevizinden Elde Edilen Özütün

##### *Candida albicans* 8739 Üzerine Etkisi

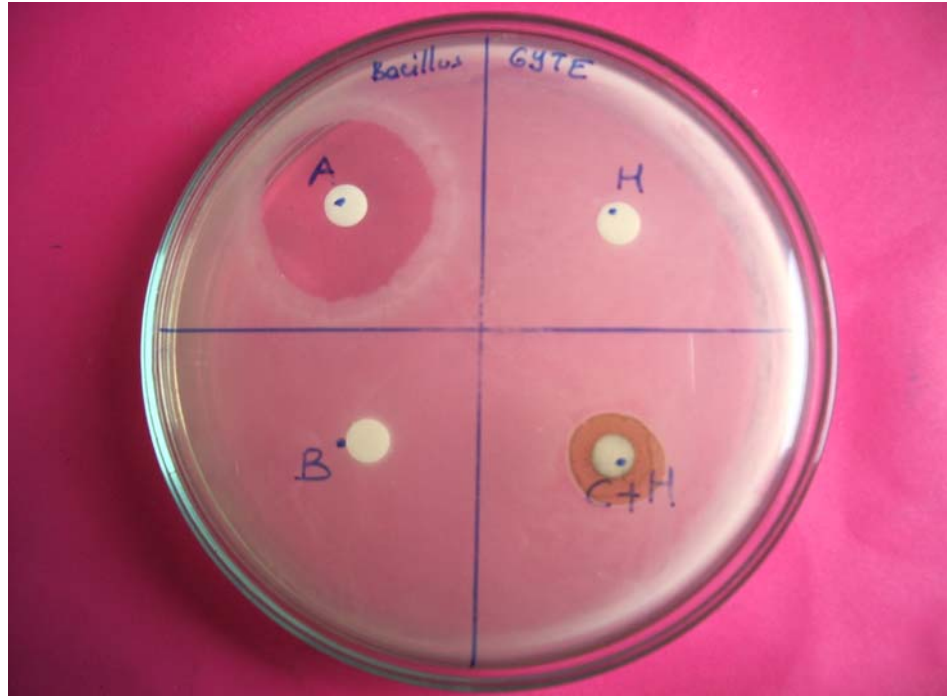
Petrilere, yayma yöntemi ile 0.5 Mc Farland yoğunluk standardına göre ayarlanmış olan *Candida albicans* 8739 süspansiyonundan 0.1 ml ekim yapıldı. Soxhlet apereyi kullanılarak elde edilen özütten steril boş diske 20 µl emdirildi. Diğer disklere sırası ile hekzan, gentamisin adlı antibiyotik emdirildi. Bir tane de steril boş disk konuldu. 37 °C' de 24 saat boyunca etüvde bekletilen petride mikroorganizmanın özüte ve kontrol grubu olarak denenen antibiyotiğe karşı oluşturduğu zon çapları ölçüldü. Uygulama sonucunun görüntüsü Resim 4.4' de ve ölçülen inhibisyon zon çaplarının sonuçları Tablo 4.1' de gösterilmiştir.



Resim 4.4. Güzelyalı istasyonundan toplanan cevizden Soxhlet apereyi ile elde edilen özütün *Candida albicans* 8739 suşu üzerine uygulanması sonucu görülen zonlar (A: Gentamisin, H: Hekzan, C+H: Güzelyalı cevizi+Hekzan, B: Steril Boş Disk)

#### 4.1.5. Soxhlet Apereyi İle GYTE Cevzinden Elde Edilen Özütün *Bacillus cereus* 4312 Üzerine Etkisi

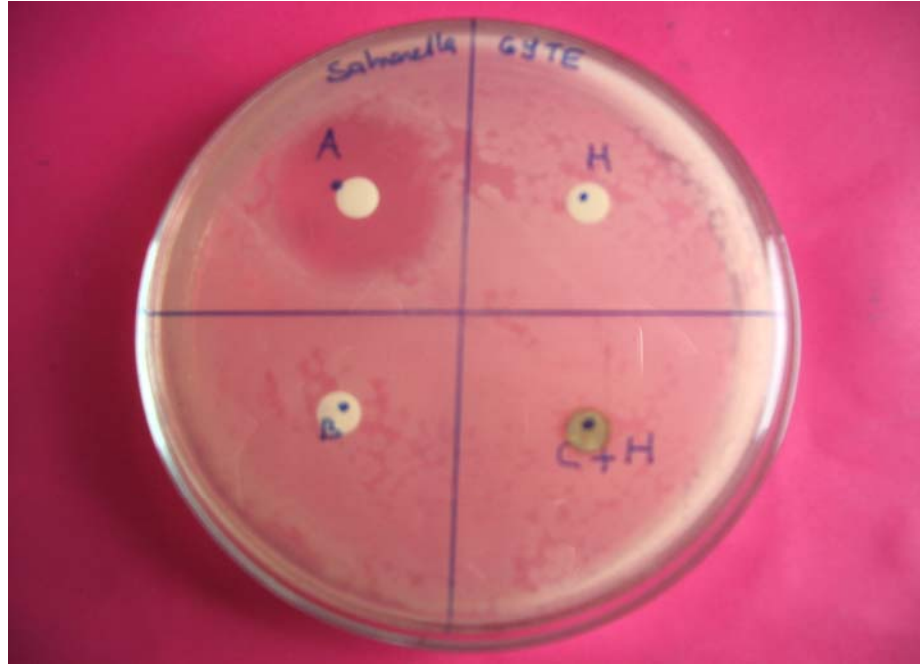
Petrilere, yayma yöntemi ile 0.5 Mc Farland yoğunluk standardına göre ayarlanmış olan *Bacillus cereus* 4312 süspansiyonundan 0.1 ml ekim yapıldı. Soxhlet apereyi kullanılarak elde edilen özütten steril boş diske 20 µl emdirildi. Diğer disklere sırası ile hekzan, gentamisin adlı antibiyotik emdirildi. Bir tane de steril boş disk konuldu. 37 °C' de 24 saat boyunca etüvde bekletilen petride mikroorganizmanın özüte ve kontrol grubu olarak denenen antibiyotiğe karşı oluşturduğu zon çapları ölçüldü. Uygulama sonucunun görüntüsü Resim 4.5' de ve ölçülen zon çaplarının sonuçları Tablo 4.2' de gösterilmiştir.



Resim 4.5. GYTE istasyonundan toplanan cevizden Soxhlet apereyi ile elde edilen özütün *Bacillus cereus* 4312 suşu üzerine uygulanması sonucu görülen zonlar (A: Gentamisin, H: Hekzan, C+H: GYTE cevizi+Hekzan, B: Steril Boş Disk)

#### 4.1.6. Soxhlet Apereyi İle GYTE Cevizinden Elde Edilen Özütün *Salmonella enteritidis* 64 Üzerine Etkisi

Petrilere, yayma yöntemi ile 0.5 Mc Farland yoğunluk standardına göre ayarlanmış olan *Salmonella enteritidis* 64 süspansiyonundan 0.1 ml ekim yapıldı. Soxhlet apereyi kullanılarak elde edilen özütten steril boş diske 20 µl emdirildi. Diğer disklere sırası ile hekzan, gentamisin adlı antibiyotik emdirildi. Bir tane de steril boş disk konuldu. 37 °C' de 24 saat boyunca etüvde bekletilen petride mikroorganizmanın özüte ve kontrol grubu olarak denenen antibiyotiğe karşı oluşturduğu zon çapları ölçüldü. Uygulama sonucunun görüntüsü Resim 4.6' da ve ölçülen zon çaplarının sonuçları Tablo 4.2' de gösterilmiştir.



Resim 4.6. GYTE istasyonundan toplanan cevizden Soxhlet apereyi ile elde edilen özütün *Salmonella enteritidis* 64 suşu üzerine uygulanması sonucu görülen zonlar (A: Gentamisin, H: Hekzan, C+H: GYTE cevizi+Hekzan, B: Steril Boş Disk)

#### 4.1.7. Soxhlet Apereyi İle GYTE Cevizinden Elde Edilen Özütün *Escherichia coli* ATCC 1213 Üzerine Etkisi

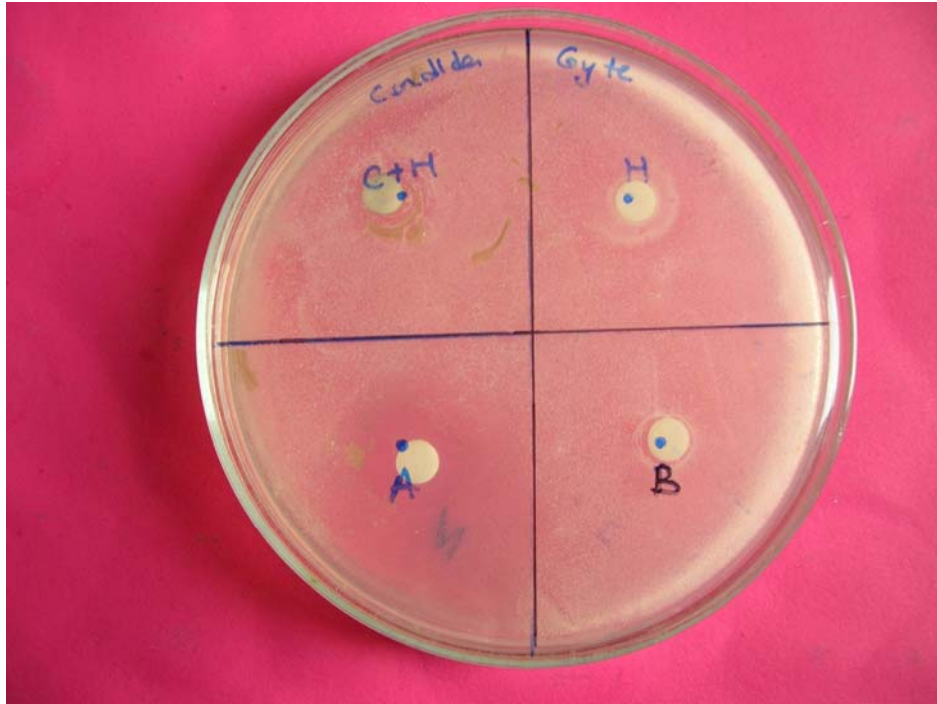
Petrilere, yayma yöntemi ile 0.5 Mc Farland yoğunluk standardına göre ayarlanmış olan *E. coli* ATCC 1213 süspansiyonundan 0.1 ml ekim yapıldı. Soxhlet apereyi kullanılarak elde edilen özütten steril boş diske 20 µl emdirildi. Diğer disklerle sırası ile hekzan, gentamisin adlı antibiyotik emdirildi. Bir tane de steril boş disk konuldu. 37 °C' de 24 saat boyunca etüvde bekletilen petride mikroorganizmanın özüte ve kontrol grubu olarak denenen antibiyotiğe karşı oluşturduğu zon çapları ölçüldü. Uygulama sonucunun görüntüsü Resim 4.7' de ve ölçülen inhibisyon zon çaplarının sonuçları Tablo 4.2' de gösterilmiştir.



Resim 4.7. GYTE istasyonundan toplanan cevizden Soxhlet apereyi ile elde edilen özütün *E. coli* ATCC 1213 suşu üzerine uygulanması sonucu görülen zonlar (A: Gentamisin, H: Hekzan, C+H: GYTE cevizi+Hekzan, B: Steril Boş Disk)

#### 4.1.8. Soxhlet Apereyi İle GYTE Cevizinden Elde Edilen Özütün *Candida albicans* ATCC 8739 Üzerine Etkisi

Petrilere, yayma yöntemi ile 0.5 Mc Farland yoğunluk standardına göre ayarlanmış olan *Candida albicans* ATCC 8739 süspansiyonundan 0.1 ml ekim yapıldı. Soxhlet apereyi kullanılarak elde edilen özütten steril boş diske 20 µl emdirildi. Diğer disklere sırası ile hekzan, gentamisin adlı antibiyotik emdirildi. Bir tane de steril boş disk konuldu. 37 °C’ de 24 saat boyunca etüvde bekletilen petride mikroorganizmanın özüte ve kontrol grubu olarak denenen antibiyotiğe karşı oluşturduğu zon çapları ölçüldü. Uygulama sonucunun görüntüsü Resim 4.8’ de ve ölçülen inhibisyon zon çaplarının sonuçları Tablo 4.2’ de gösterilmiştir.

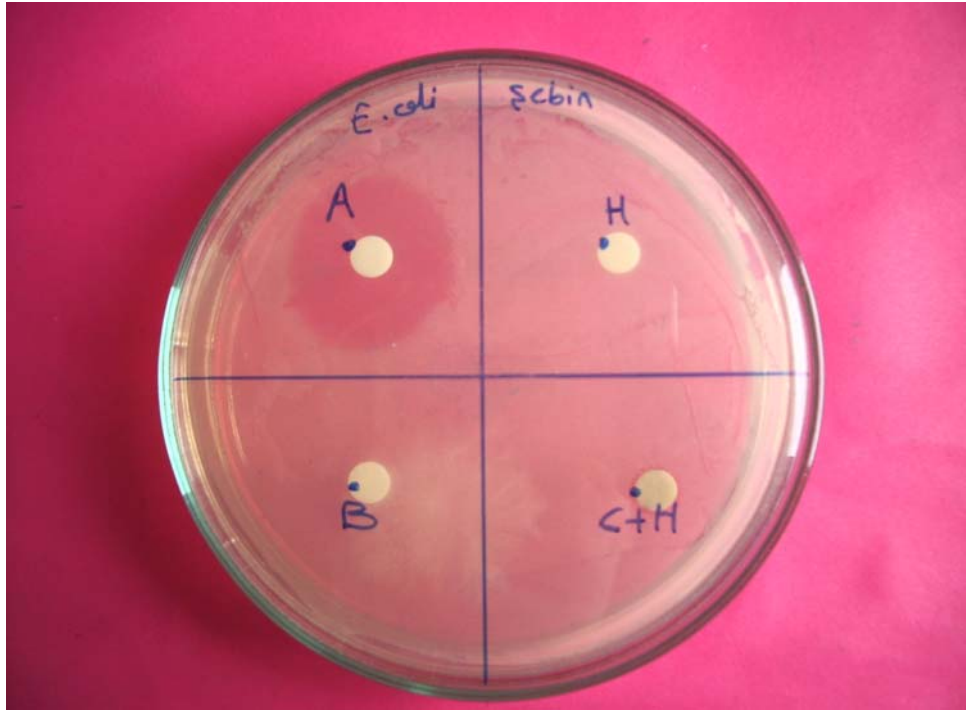


Resim 4.8. GYTE istasyonundan toplanan cevizden Soxhlet apereyi ile elde edilen özütün *Candida albicans* ATCC 8739 suşu üzerine uygulanması sonucu görülen zonlar (A: Gentamisin, H: Hekzan, C+H: GYTE cevizi+Hekzan, B: Steril Boş Disk)



#### 4.1.9. Soxhlet Apereyi İle Şebın Cevizinden Elde Edilen Özütün *Escherichia coli* ATCC 1213 Üzerine Etkisi

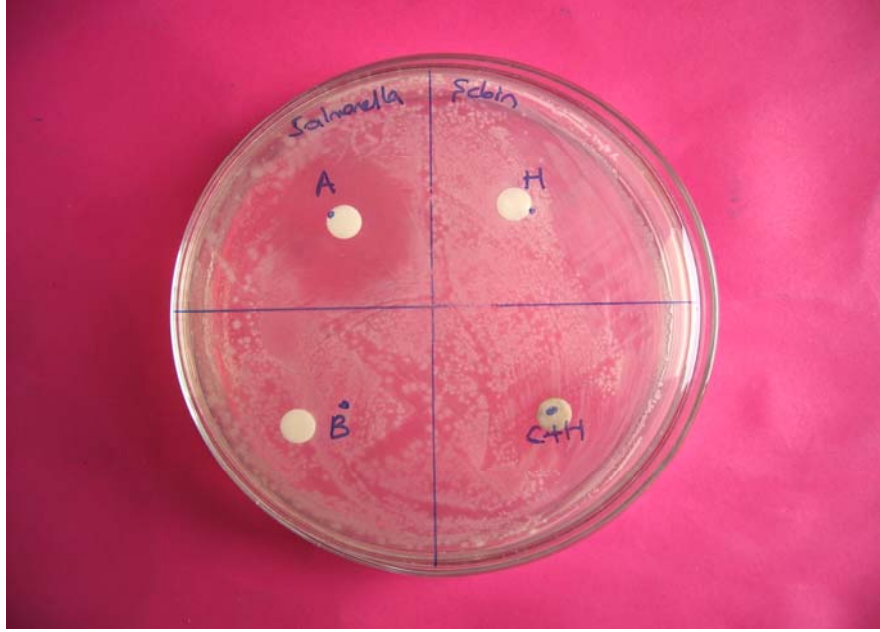
Petrilere, yayma yöntemi ile 0.5 Mc Farland yoğunluk standardına göre ayarlanmış olan *E. coli* ATCC 1213 süspansiyonundan 0.1 ml ekim yapıldı. Soxhlet apereyi kullanılarak elde edilen özütten steril boş diske 20 µl emdirildi. Diğer disklere sırası ile hekzan, gentamisin adlı antibiyotik emdirildi. Bir tane de steril boş disk konuldu. 37 °C' de 24 saat boyunca etüvde bekletilen petride mikroorganizmanın özüte ve kontrol grubu olarak denenen antibiyotiğe karşı oluşturduğu zon çapları ölçüldü. Uygulama sonucunun görüntüsü Resim 4.9' da ve ölçülen inhibisyon zon çaplarının sonuçları Tablo 4.3' de gösterilmiştir.



Resim 4.9. Şebinkarahisar istasyonundan toplanan cevizden Soxhlet apereyi ile elde edilen özütün *E. coli* ATCC 1213 suşu üzerine uygulanması sonucu görülen zonlar (A: Gentamisin, H: Hekzan, C+H: Şebın cevizi+Hekzan, B: Steril Boş Disk)

#### 4.1.10. Soxhlet Apereyi İle Şebin Cevizinden Elde Edilen Özütün *Salmonella enteritidis* 64 Üzerine Etkisi

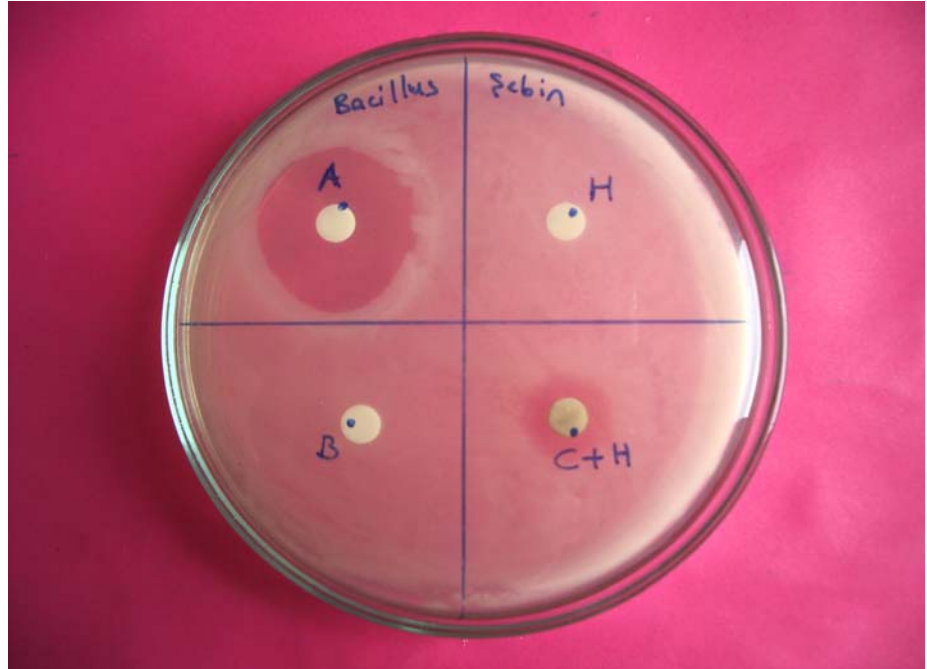
Petrilere, yayma yöntemi ile 0.5 Mc Farland yoğunluk standardına göre ayarlanmış olan *Salmonella enteritidis* 64 süspansiyonundan 0.1 ml ekim yapıldı. Soxhlet apereyi kullanılarak elde edilen özütten steril boş diske 20 µl emdirildi. Diğer diskler sırası ile hekzan, gentamisin adlı antibiyotik emdirildi. Bir tane de steril boş disk konuldu. 37 °C' de 24 saat boyunca etüvde bekletilen petride mikroorganizmanın özüte ve kontrol grubu olarak denenen antibiyotiğe karşı oluşturduğu zon çapları ölçüldü. Uygulama sonucunun görüntüsü Resim 4.10' da ve ölçülen inhibisyon zon çaplarının sonuçları Tablo 4.3' de gösterilmiştir.



Resim 4.10. Şebinkarahisar istasyonundan toplanan cevizden Soxhlet apereyi ile elde edilen özütün *Salmonella enteritidis* 64 suşu üzerine uygulanması sonucu görülen zonlar (A: Gentamisin, H: Hekzan, C+H: Şebin cevizi+Hekzan, B: Steril Boş Disk)

#### 4.1.11. Soxhlet Apereyi İle Şebın Cevizinden Elde Edilen Özütün *Bacillus cereus* 4312 Üzerine Etkisi

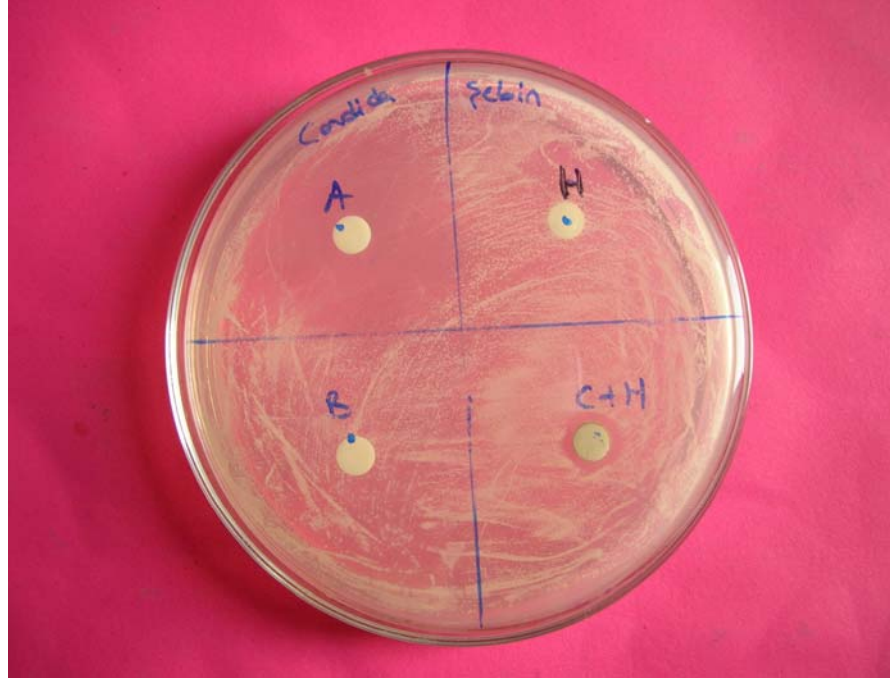
Petrilere, yayma yöntemi ile 0.5 Mc Farland yoğunluk standardına göre ayarlanmış olan *Bacillus cereus* 1213 süspansiyonundan 0.1 ml ekim yapıldı. Soxhlet apereyi kullanılarak elde edilen özütten steril boş diske 20 µl emdirildi. Diğer diskler sırası ile hekzan, gentamisin adlı antibiyotik emdirildi. Bir tane de steril boş disk konuldu. 37 °C' de 24 saat boyunca etüvde bekletilen petride mikroorganizmanın özüte ve kontrol grubu olarak denenen antibiyotiğe karşı oluşturduğu zon çapları ölçüldü. Uygulama sonucunun görüntüsü Resim 4.11' de ve ölçülen inhibisyon zon çaplarının sonuçları Tablo 4.3' de gösterilmiştir.



Resim 4.11. Şebinkarahisar istasyonundan toplanan cevızden Soxhlet apereyi ile elde edilen özütün *Bacillus cereus* 1213 suşu üzerine uygulanması sonucu görülen zonlar (A: Gentamisin, H: Hekzan, C+H: Şebın cevizi+Hekzan, B: Steril Boş Disk)

#### 4.1.12. Soxhlet Apereyi İle Şebin Cevizinden Elde Edilen Özütün *Candida albicans* ATCC 8739 Üzerine Etkisi

Petrilere, yayma yöntemi ile 0.5 Mc Farland yoğunluk standardına göre ayarlanmış olan *Candida albicans* ATCC 8739 süspansiyonundan 0.1 ml ekim yapıldı. Soxhlet apareyi kullanılarak elde edilen özütten steril boş diske 20 µl emdirildi. Diğer disklerle sırası ile hekzan, gentamisin adlı antibiyotik emdirildi. Bir tane de steril boş disk konuldu. 37 °C’ de 24 saat boyunca etüvde bekletilen petride mikroorganizmanın özüte ve kontrol grubu olarak denenen antibiyotiğe karşı oluşturduğu zon çapları ölçüldü. Uygulama sonucunun görüntüsü Resim 4.12’ de ve oluşan inhibisyon zon çaplarının sonuçları Tablo 4.3’ de gösterilmiştir.



Resim 4.12. Şebinkarahisar istasyonundan toplanan cevizden Soxhlet apereyi ile elde edilen özütün *Candida albicans* ATCC 8739 suşu üzerine uygulanması sonucu görülen zonlar (A: Gentamisin, H: Hekzan, C+H: Şebin cevizi+Hekzan, B: Steril Boş Disk)

## 4.2. Mikroorganizmalar İle Yapılan Antibiyogram Sonuçları

Antibiyogram, farklı antibiyotiklere karşı bakteriyel bir suşun duyarlılığını belirlemek için yapılan bir laboratuvar testidir. Antibiyotik emdirilmiş standart disklerin, mikroorganizma ekimi yapılmış petrilere konularak, petride mikroorganizma üzerinde oluşan inhibisyon zon çaplarının ölçülmesi ile mikroorganizmaların denenen antibiyotiklere karşı duyarlılığı tespit edilir (www.wikipedia.com).

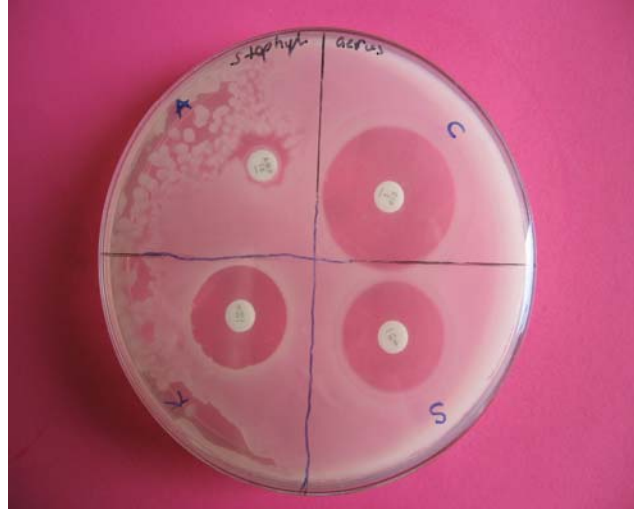
Çalışmada, deney mikroorganizmaları üzerinde denediğimiz dört farklı antibiyotik için bir antibiyogram testi yaptık. Bir gün öncesinden hazırlanmış olan taze kültürlerden 0.5 Mc Farland yoğunluk standardına göre ayarlanmış olan mikroorganizma süspansiyonları hazırlandı. Bu süspansiyonlardan steril şartlarda, 0.1 ml alınarak petrilere yayma yöntemi ile ekimler yapıldı. Hazır antibiyotik diskler yine steril koşullarda petrilere bir cımbız yardımı ile hafifçe bastırılarak yerleştirildi. Daha sonra petriler 37 °C’ de 24 saat boyunca etüvde bekletildi. Ertesi gün petrilerde oluşan inhibisyon zon çapları ölçülerek deney mikroorganizmalarının seçilen antibiyotiklere (A: Ampisilin, S: Streptomisin, K: Kanamisin, C: Siproflaksin) karşı duyarlılıkları belirlendi. Antibiyogramda oluşan inhibisyon zon çaplarının görüntüleri Resim 4.13-4.17’ de, ölçülen inhibisyon zon çaplarının sonuçları ise Tablo 4.1-4.3’ de verilmiştir.



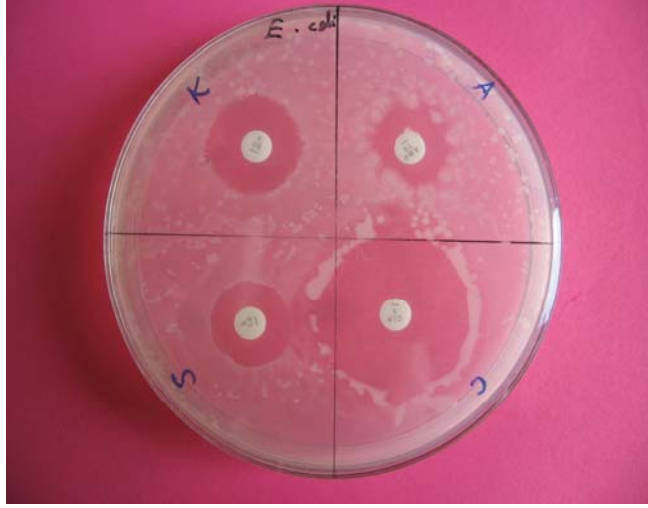
Resim 4.13. *Salmonella enteritidis* 64 suşu ve antibiyogramda oluşan zonlar  
(A: Ampisilin, K: Kanamisin, C: Siproflaksin, S: Streptomisin)



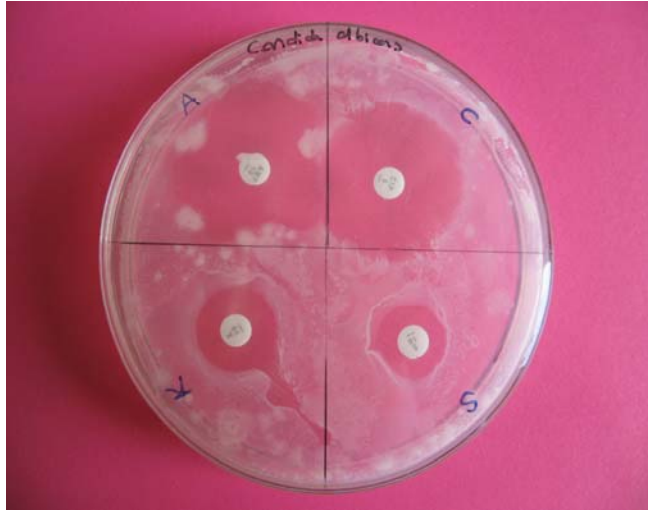
Resim 4.14. *Bacillus cereus* 4312 suşu ve antibiyogramda oluşan zonlar  
(A:Ampisilin, K:Kanamisin, C:Siproflaksin, S:Streptomisin)



Resim 4.15. *Staphylococcus aureus* 29213 suşu ve antibiyogramda oluşan zonlar  
(A: Ampisilin, K: Kanamisin, C: Siproflaksin, S:Streptomisin)



Resim 4.16. *Escherichia coli* ATCC 1213 suşu ve antibiyogramda oluşan zonlar  
(A: Ampisilin, K: Kanamisin, C: Siproflaksin, S:Streptomisin)



Resim 4.17. *Candida albicans* ATCC 8739 suşu ve antibiyogramda oluşan zonlar  
(A: Ampisilin, K: Kanamisin, C: Siproflaksin, S:Streptomisin)

### 4.3. Direk Özütleme Yöntemi İle Elde Edilen Özütlerin Deneysel Mikroorganizmaları Üzerine Etkileri

Çalışmamızda direk özütleme yöntemi ile elde edilen özütlerin antimikrobiyal aktivitesinin tayini için bazı işlemler yapıldı. Birgün öncesinden hazırlanmış olan taze kültürlerden 0.5 Mc Farland yoğunluk standardına göre ayarlanmış olan mikroorganizma süspansiyonları hazırlandı. Bu süspansiyonlardan steril şartlarda 0.1 ml alınarak petrilere yayma yöntemi ile ekimler yapıldı. Özütler, bir pipet yardımı ile petrilere konulan steril boş disklere 20 µl emdirildi. Petrilere ikiye ayrıldı. Bunun nedeni direk elde edilen özütün bir kısmı farklı filtre işlemlerinden geçirilmiş, diğer kısmına ise hiçbir filtre işlemi uygulanmadan elde edilmişti. Bu iki özüt (filtre edilmiş-edilmemiş) deney mikroorganizmaları üzerinde uygulanarak, iki işlem arasında varolabilecek antimikrobiyal farkın gözlemlenmesi amaçlanmıştır. Fakat oluşan inhibisyon zon çapları ölçüldüğünde bu işlemler sonucunda anlamlı bir farkın olmadığı belirlenmiştir. Bu özütlerin deney mikroorganizmaları üzerine uygulanması sonucunda oluşan inhibisyon zon çaplarının görüntüsü Resim 4.18-4.23’ te, oluşan inhibisyon zon çaplarının sonuçları ise Tablo 4.1-4.3’ de ölçülerek verilmiştir.

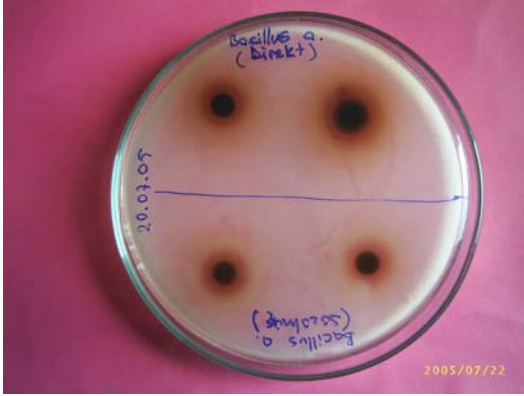


Resim 4.18. Direk özütleme ile elde edilen özütlerin *S. aureus* 29213 suşu üzerine etkisi

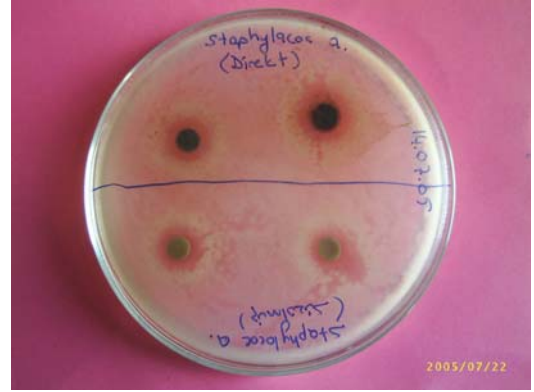


Resim 4.19. Direk özütleme ile elde edilen özütlerin *C. albicans* ATCC 8739 suşu üzerine etkisi

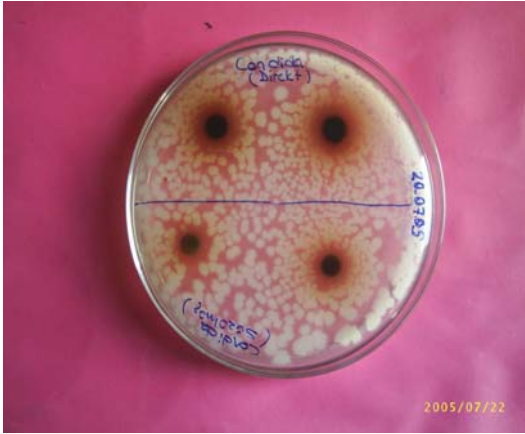




Resim 4.20. Direk özütlemeye ile elde edilen özütün  
*B. cereus* 4312 suşu üzerine etkisi



Resim 4.21. Direk özütlemeye yöntemi ile elde edilen  
*S. aureus* 29213 suşu üzerine etkisi



Resim 4.22. Direk özütlemeye yöntemi ile elde edilen özütün  
*C. albicans* ATCC 8739 suşu üzerine etkisi



Resim 4.23. Direk özütlemeye yöntemi ile elde edilen özütün  
*S. aureus* 29213 suşu üzerine etkisi

Tablo 4.1. Güzelyalı cevzinden iki farklı yöntemle elde edilmiş olan özütlerin, farklı mikroorganizmalar üzerine uygulanması sonucu görülen ve kontrol grubu olarak kullanılan antibiyotikler ile antifungal ilaç sonrasında oluşan zon çapları

Uygulama	Güzelyalı Cevzisi			Gentamisin	Oceral	Ampisilin	Siproflaksin	Kanamisin	Streptomisin
	Direk Özütleme (Fitre Edilmemiş)	Direk Özütleme (Fitre Edilmiş)	Soxhlet Apereyi İle Özütleme						
<i>S. aureus</i> 29213	9.5 mm	8.0 mm	-	22.0 mm	-	12.0 mm	28.0 mm	20.0 mm	21.0 mm
<i>S. enteritidis</i> 64	9.0 mm	7.0 mm	-	22.0 mm	-	26.0 mm	40.0 mm	19.0 mm	17.0 mm
<i>E. coli</i> ATCC 1213	10.5 mm	8.0 mm	-	21.5 mm	-	16.0 mm	30.0 mm	20.0 mm	17.0 mm
<i>C. albicans</i> ATCC 8739	15.0 mm	17.0 mm	-	-	22.0 mm	20.0 mm	32.0 mm	16.0 mm	19.0 mm
<i>B. cereus</i> 4312	-	-	-	24.5 mm	-	10.0 mm	25.0 mm	19.0 mm	19.0 mm

Tablo 4.2. GYTE cevizinden iki farklı yöntemle elde edilmiş olan özütlerin, farklı mikroorganizmalar üzerinde uygulanması sonucu görülen ve kontrol grubu olarak kullanılan antibiyotikler ile antifungal ilaç sonrasında oluşan zon çapları

Uygulama	GYTE Cevizi			Gentamisin	Oceral	Ampisilin	Siproflaksin	Kanamisin	Streptomisin
	Direk Özütleme (Filtre Edilmemiş)	Direk Özütleme (Filtre Edilmiş)	Soxhlet Apereyi İle Özütleme						
<i>S. aureus</i> 29213	11.5 mm	9.5 mm	-	24.0 mm	-	12.0 mm	28.0 mm	20.0 mm	21.0 mm
<i>S. enteritidis</i> 64	-	10.5 mm	-	22.5 mm	-	26.0 mm	40.0 mm	19.0 mm	17.0 mm
<i>E. coli</i> ATCC 1213	-	8.5 mm	-	23.0 mm	-	16.0 mm	30.0 mm	20.0 mm	17.0 mm
<i>C. albicans</i> ATCC 8739	11.5 mm	-	-	-	18.0 mm	20.0 mm	32.0 mm	16.0 mm	19.0 mm
<i>B. cereus</i> 4312	14.0 mm	14.0 mm	-	24.5 mm	-	10.0 mm	25.0 mm	19.0 mm	19.0 mm

Tablo 4.3. Şebın cevızından iki farklı yöntemle elde edilmiş olan özütlerin, farklı mikroorganizmalar üzerinde uygulanması sonucu görülen ve kontrol grubu olarak kullanılan antibiyotikler ile antifungal ilaç sonrasında oluşan zon çapları

Uygulama	Şebın Cevızı			Gentamisin	Oceral	Ampisilin	Siproflaksin	Kanamisin	Streptomisin
	Direk Özütleme (Filtre Edilmemiş)	Direk Özütleme (Filtre Edilmiş)	Soxhlet Apereyi İle Özütleme						
<i>S. aureus</i> 29213	16 mm	11 mm	-	23.0 mm	-	12.0 mm	28.0 mm	20.0 mm	21.0 mm
<i>S. enteritidis</i> 64	-	12 mm	-	23.5 mm	-	26.0 mm	40.0 mm	19.0 mm	17.0 mm
<i>E. coli</i> ATCC 1213	-	8.5 mm	-	22.5 mm	-	16.0 mm	30.0 mm	20.0 mm	17.0 mm
<i>C. albicans</i> ATCC 8739	-	-	10 mm	-	22.0 mm	20.0 mm	32.0 mm	16.0 mm	19.0 mm
<i>B. cereus</i> 4312	15.5 mm	14.5 mm	15.5 mm	24 mm	-	10.0 mm	25.0 mm	19.0 mm	19.0 mm

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Tıbbi bitkiler, çok uzun zamanlardan beri dünyada varolan tüm kültürlerin hemen hepsinde ilaçların kaynağı olarak kullanılmaktadır (Tadeg et al., 2005). Bitkilerin antimikrobiyal aktivitesinin tayini ile ilgili araştırmaların sayısı giderek artmaktadır. Son yıllarda ülkemizde, farklı bitki özütlerinin birçok mikroorganizmanın gelişimini etkileyen antimikrobiyal aktivite özellikleri ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır (Dülger ve Gönüz, 2004). Özellikle bu tür çalışmalarda yerel çeşitler, endemik bitkiler ya da halk arasında tedavi amaçlı kullanılan bitkiler tayin edilerek araştırılmakta ve sonuçların bilimsel temellere oturtulması amaçlanmaktadır. Bu amaçla insan sağlığı açısından önemli olan mikroorganizmaları inhibe eden bitkilerin özellikleri 1926' dan beri laboratuvarlarda araştırılmaktadır (Ateş ve Erdoğan, 2003). Çalışmamızda *Juglans regia L.* (ceviz)' nin yeşil meyve kabukları ana materyal olarak seçilmiştir. Cevizin gen merkezleri ve anavatanları arasında yer alan Türkiye, ceviz varlığı ile dünyada önemli bir ülkedir konumundadır ([www.ceviz.gen.tr](http://www.ceviz.gen.tr)). *Juglans regia L.*' nin bu çalışmada seçilmesindeki en büyük etkenlerden biri Türkiye' de geniş yayılım göstermesi ve meyve olgunlaşınca atılan yeşil ceviz kabuklarından ilaç sanayinde yararlanılabilecek ve insana patojen olan mikroorganizmalar üzerinde kullanılıp kullanılmayacağını araştırmaktır. Üç farklı istasyondan 2005 yılının Haziran-Temmuz aylarında toplanan bitki materyalleri iki farklı yöntemle özütlenerek antimikrobiyal aktivitesine bakılmıştır. Yapılan literatür taramaları sonucunda *Juglans regia L.*' nin araştırıldığı antimikrobiyal çalışmalar bulunmakla birlikte (Zibaenezhad et al., 2005; Colaric et al., 2005; Qadan et al., 2005; Amaral et al., 2005; Nariman et al. 2004; Mahoney and Molyneux, 2004; Mahoney and Molyneux, 2000), bu çalışmalarda bitkinin farklı kısımları araştırılmış fakat yeşil ceviz kabuklarının antimikrobiyal aktivitesi ile ilgili deneysel bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Ceviz bitkisinin genellikle meyvesi ile çalışıldığından diğer bitki kısımlarına ait daha az bilgi bulunmaktadır (Miliauskas et al., 2003). Bundan dolayı *Juglans regia L.* bitkisinin yeşil meyve kabuklarından elde edilen özütlerin *in vitro* koşullarda patojen mikroorganizmalar üzerinde deneyerek, antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır.

Çalışmamızda, GYTE-Biyoloji Bölümüne ait saf suşlar kullanılmıştır. Böylelikle deneylerde elde edilen sonuçların güvenilirliği artırılmıştır. Bitki materyalleri üç farklı istasyondan toplanmıştır. Böylece bu istasyonlar arasındaki yöresel farklılıkların antimikrobiyal aktiviteye etkisi *in vitro* koşullarda gözlemlenmiş ve değerlendirilmiştir. Sonuçlara bakıldığında direk özütlenme yöntemi sonucunda üç stasyondan alınan cevizler arasında anlamlı bir fark bulunmazken, sadece Şebin cevizinden Soxhlet apereyi ile elde edilen özütün diğer cevizlere (Güzelyalı ve GYTE) göre daha etkin olduğu belirlenmiştir. Türkiye’ de ceviz yetiştiriciliğinin temelini Yalova orijinli ceviz çeşitleri oluşturmaktadır. Ancak Şebinkarahisar Kırkgöz orijinli Şebin ceviz çeşidi ülkemizde meyve özellikleri, diğer çeşitlere göre geç yapraklanması, soğuğa dayanımı ve verim yönünden diğer çeşitlerden daha iyidir (Akça, 2006).

Antimikrobiyal aktivite, test mikroorganizmalarının oluşturduğu inhibisyon zon çaplarının ölçülmesi ile belirlenir (Karaman ve ark., 2002). Çalışmamızda *Juglans regia L.*’ den elde edilen özütlerin antimikrobiyal aktivitesinin olup olmadığına karar verebilmek için petri üzerinde oluşan inhibisyon zon çapları ölçülerek sonuçlar değerlendirilmiştir.

Buna göre, deneyler sonucunda Güzelyalı cevizi sonuçlarına bakıldığında (bkz. Tablo 4.1); direk özütlenerek Güzelyalı cevizinden elde edilen özütün *Staphylococcus aureus* 29213, *Salmonella enteritidis* 64, *Escherichia coli* ATCC 1213 ve *Candida albicans* ATCC 8739 üzerinde denendiğinde, 8.0-17.0 mm aralığında zon çapları ölçülmüştür. Bu bitki özütüne karşı en duyarlı türün *Candida albicans* ATCC 8739 suşu olduğu gözlemlenirken, özütün *Bacillus cereus* 4312 üzerine herhangi bir aktivitesi olmadığı belirlenmiştir. Güzelyalı cevizinden elde edilen özüte karşı en dayanıklı suşun *Bacillus cereus* 4312 olduğu gözlemlenmiştir. GYTE cevizinin sonuçlarına bakıldığında (bkz. Tablo 2); direk özütlenerek GYTE cevizinden elde edilen özütün *Staphylococcus aureus* 29213, *Salmonella enteritidis* 64, *Escherichia coli* ATCC 1213, *Bacillus cereus* 4312 ve *Candida albicans* ATCC 8739 üzerinde denendiğinde, 8.5-14.0 mm aralığında zon çapları ölçülmüştür. Sonuçlara bakıldığında GYTE cevizinden elde edilen özüte karşı tüm deney mikroorganizmalarının duyarlı olduğu, bu mikroorganizmalar içerisinde en dayanıklı suşun ise *Bacillus cereus* 4312 olduğu gözlemlenmiştir.

Şebin cevizi sonuçlarına bakıldığında ise (bkz. Tablo 4.3); direk özütlenerek Şebin cevizinden elde edilen özütün *Staphylococcus aureus* 29213, *Salmonella enteritidis* 64, *Escherichia coli* ATCC 1213 ve *Bacillus cereus* 4312 üzerinde denendiğinde, 8.5-16 mm aralığında zon çapları ölçülmüştür. Bu bitki özütüne karşı en duyarlı türlerin *Staphylococcus aureus* 29213, *Salmonella enteritidis* 64 ve *Bacillus cereus* 4312 suşları olduğu gözlemlenirken, özütün *Candida albicans* ATCC 8739 üzerine herhangi bir aktivitesi olmadığı belirlenmiştir. Böylelikle Şebin cevizinden elde edilen özüte karşı en dayanıklı suşun ise *Candida albicans* ATCC 8739 olduğu belirlenmiştir. 2005 yılında yapılan bir çalışmada *Psidium guajava* ve *Juglans regia* bitkilerinin yapraklarının özütleri, *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis* üzerine uygulandığında sırası ile oluşan inhibisyon zon çapları 15.8-17.6 mm, 11.3-15.7 mm ve 12.9-15.5 mm olarak ölçülmüştür. Bu bitki özütlerinin akne tedavisinde kullanılabileceği belirtilmiştir (Qadan et al., 2005). Bu sonuçlar ile deneylerimizden elde ettiğimiz sonuçlar karşılaştırıldığında, topladığımız cevizlerin direk özütlenmesi sonucu *S. aureus* 29213 suşu üzerinde 8.0-16 mm inhibisyon zon çapının ölçülmesi bu özütlerinde akne tedavisinde kullanılabileceğini göstermiştir.

Soxhlet apereyi ile elde edilen özütler denendiğinde, Güzelyalı ve GYTE cevizi sonuçlarına bakıldığında (bkz. Tablo 4.1 ve 4.2); tüm deney mikroorganizmaları üzerinde herhangi bir inhibisyon zonu gözlemlenmemiştir. Dolayısı ile bu özütlere karşı tüm deney mikroorganizmaların direnç gösterdiği belirlenmiştir. Böylece Güzelyalı ve GYTE cevizinin sonuçları paralellik göstermektedir. Şebin cevizi sonuçlarına bakıldığında (bkz. Tablo 4.3); Soxhlet apereyi ile elde edilen özüt denendiğinde *Staphylococcus aureus* 29213, *Salmonella enteritidis* 64, *Escherichia coli* ATCC 1213 suşları üzerinde herhangi bir zon gözlemlenmiştir. Fakat *Bacillus cereus* 4312 ve *Candida albicans* ATCC 8739 suşlarında sırası ile 10 mm, 15.5 mm zon çapı ölçülmüştür. Bu sonuçlara göre Soxhlet apereyi ile elde edilen özüte karşı en duyarlı suşların *Candida albicans* ATCC 8739 ve *Bacillus cereus* 4312 olduğu belirlenmiştir. 2005 yılında yapılan bir çalışmada *Pimpinella anisetum* ve *Pimpinella flabellifolia* bitkilerinin özütleri, içerisinde *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* ve *Candida albicans*'ında bulunduğu sekiz mikroorganizma üzerine denendiğinde sırası ile oluşan inhibisyon zon çapları 10 mm, 9.0 mm, 14.0 mm olduğu gözlemlenmiş ve bu

özütlerin antimikrobiyal aktivitesinin olduğu belirtilmiştir (Tepe ve ark., 2005). Literatürlerdeki sonuçlar ile yukarıda verilen çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz sonuçlar karşılaştırıldığında *Juglans regia L.* bitkisinin yeşil kabuklarından elde edilen özütlerin antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu belirlenmiştir.

Deneilerimizde elde edilen özütlerin olası antimikrobiyal aktivitesinin araştırılmasında Disk-Difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Bu tür standart Disk-Difüzyon testlerinde disk etrafında 18 mm veya daha büyük bir inhibisyon zonu veren her organizma, etkisi araştırılan maddeye karşı duyarlı kabul edilir. *Viscum album* özütünün antimikrobiyal aktivitesini belirlemek için yapılan bir çalışma sonucunda özellikle *S. auerus* üzerinde 20 mm zon çapının gözlenmesi bu özütün oldukça etkili olduğunu göstermiştir (Beyhan, 1999). Oluşan inhibisyon bölgesi 18 mm’ den küçükse “mikroorganizma antibiyotiğin yüksek konsantrasyonlarına duyarlıdır” yorumu yapılır (Tunç, 2000). Direk özütleme yöntemi ile elde edilen özütler denendiğinde en büyük inhibisyon çapının *Candida albicans* ATCC 8739 üzerinde (17.0 mm), Soxhlet apereyi ile elde edilen özütler denendiğinde ise en büyük inhibisyon çapının *Bacillus cereus* 4312 üzerinde (15.5 mm) olduğu gözlemlenmiştir. Dolayısı ile çalışmamızda kullanılan mikroorganizmaların cevizden elde edilen özütlerin daha yüksek konsantrasyonuna duyarlı olduğu kabul edilmiştir.

2004 yılına yapılan bir çalışmada 16 bitki etanol kullanılarak Soxhlet apereyiinde özütlenmiş ve bu özütler içlerinde *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Candida albicans* ve *S. auerus*’ un da bulunduğu 12 mikroorganizma türü üzerinde denenerek antimikrobiyal aktivitelere bakılmıştır. Sonuçlara bakıldığında yukarıda adı verilen mikroorganizmalar üzerinde sırası ile 10-12 mm, 12-22mm, 10-20 mm ve 12-24 mm inhibisyon zon çapları ölçülmüştür. Bu literatüre göre 8-13 mm olan zon çaplarının, bitki özütünün antimikrobiyal açıdan oldukça aktif olduğunu, 14 mm’ den büyük zon çaplarının ise yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu ifade edilmiştir (Dülger ve Gönüz, 2004). Bizim çalışmamızda ise *S. auerus* 29213 suşu üzerinde 8-16 mm, *S. enteritidis* 64 suşu üzerinde 7-12 mm, *E. coli* ATCC 1213 suşu üzerinde 8-10.5 mm, *C. albicans* ATCC 8739 suşu üzerinde 10-17 mm ve *B. cereus* suşu üzerinde 14-15.5 mm inhibisyon zon çapı oluştuğunu gözlemlenmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar ile



literatür sonuçları karşılaştırıldığında *Juglans regia L.* bitkisinin yeşil meyve kabuklarından elde ettiğimiz özütlerin antimikrobiyal aktivitesinin olduğunu belirlenmiştir. Türkiye’ de 2006 yılında yapılan başka bir çalışmada *Parmelia saxatilis*, *Plasmatica glauca*, *Ramalina pollinaria*, *Ramalina polymorpha* ve *Umbilicaria nylanderiana* adlı beş liken türü özütlenerek 35 bakteri ve 18 maya türü üzerinde gösterdiği antimikrobiyal ve antioksidant aktivitesine Disk-Difüzyon yöntemi ile bakılmıştır. Literatür sonucuna göre *E. coli* A-1 suşu *Parmelia saxatilis* özütüne karşı 8 mm, *Ramalina pollinaria* özütüne karşı 10 mm, *Ramalina polymorpha* özütüne karşı 10 mm, *Umbilicaria nylanderiana* özütüne karşı 6 mm inhibisyon zon çapı oluşturduğu, *C. albicans* suşunun ise *Ramalina pollinaria* ve *Umbilicaria nylanderiana* özütlerine karşı sırası ile 7 mm ve 10 mm inhibisyon zon çapı oluşturduğu, bu bulgulara dayanarak bu bitki özütlerinin inhibe edici özelliğinin bulunduğu ifade edilmiştir (Güllüce ve ark., 2006). Çalışmamızda bu iki mikroorganizma türü üzerinde yeşil ceviz kabuklarından elde edilen özütünün bu literatür sonuçları ile paralellik gösterdiği belirlenmiş ve ceviz özütünün inhibe edici etkin bileşiklere sahip olduğu belirlenmiştir.

2003 yılında yapılan bir çalışmada elde edilen *Coriandrum sativum L.*, *Glycyrrhiza glabra L.*, *Cinnamomum cassia B.* ve *Juniperus oxycedrus L.* bitkilerinin özütleri alkol, etil asetat, aseton ve kloroform ile çözdürülüp deney mikroorganizmaları üzerine denendiğinde herhangi bir inhibe edici etkiye sahip olmadığı ifade edilmiştir (Ateş ve Erdoğan, 2003). Çalışmamızda elde ettiğimiz özütler hekzanda çözdürülerek deney mikroorganizmaları üzerinde denenmiş ve hekzanın deney mikroorganizmalarımızın üzerinde herhangi bir inhibe edici özelliğinin bulunmadığı belirlenmiştir.

Genellikle direk özütleme sonucu elde edilen özütlere karşı deney aşamasında çalışılan birkaç mikroorganizma hariç (bkz. Tablo 4.1-4.3) diğerlerinin zon oluşturduğu gözlemlenmiştir. Bunun nedeninin taze kabuklarda bulunan etkin organik bileşiklerin olabileceği düşünülmektedir. Fakat kabuklar kurutulunca, etkin olan bu bileşiklerin yıkıma uğramış olabileceğinden, bitki materyalinin kurutulmasından sonra yapılan Soxhlet apereyi ile elde edilen özütün iki türün dışında (*C. albicans* ATCC 8739 ve *B. cereus* 4312) diğer mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite göstermemesinin nedeninin bu olabileceği

düşünülmektedir. Bitki özütleri önemli derecede mikroorganizmalara karşı farklı aktivite göstermektedir. Bu farklılığın nedeni Gram (+) ve Gram (-) mikroorganizmaların sahip olduğu hücre duvarının yapısal farklılığından kaynaklanıyor olabilir. Hatta mayaların hücre duvarı daha komplekstir (Dülger ve Gönüz, 2004). Soxhlet apereyi ile elde ettiğimiz özütün diğer deney mikroorganizmalara karşı değilde yalnızca *Bacillus cereus* 4312 ve *Candida albicans* ATCC 8739 suşları üzerinde etkili olmasını bu sebepten dolayı olabileceğini düşünmekteyiz. Fakat bu mikroorganizmaların Güzelyalı ve GYTE cevizlerinden Soxhlet apereyi yardımı ile elde edilen özüte karşı hiçbir inhibisyon zonu göstermemesini ise Şebin cevizinin diğer cevizlerden daha farklı oranda ya da daha farklı fitokimyasal bileşiklere sahip olabileceği ve bu yüzden sadece Şebin cevizinde aktivite görülmüş olabileceğini düşünmekteyiz.

Bilindiği gibi maddenin antibakteriyal özelliği, bakteri türlerine ve maddenin mikroorganizma üzerinde uygulandığı ortama bağlı olarak değişmektedir (Tunç., 2000). Bitkilerle yapılan çalışmalarda sezonsal farklılıklar, hava şartları, nem, toprak özellikleri, pH gibi faktörler bitkilerde sentezlenen antimikrobiyal aktiviteye sahip bileşik/bileşiklerin sentezlenme oranını etkilemektedir. Dolayısı ile Şebin cevizinden Soxhlet apereyi ile elde edilen özütün diğer ceviz çeşitlerine oranla daha etkili olmasının bundan kaynaklandığını düşünmekteyiz. Sonuçlara bakıldığında toplanan materyallerden biri Şebin cevizi olup yöresel bir çeşittir. Bitki özütleme yöntemleri literatürlerde farklılıklar göstermesine rağmen genellikle yapılan Soxhlet apereyi ile özütleme yönteminin (Karaman ve ark., 2003; Ateş ve Erdoğan, 2003; Dülger ve Gönüz, 2004) sonuçlarına göre bu yerel çeşidin daha fazla araştırılabileceğini düşünmekteyiz. Özellikle Şebin cevizinin yeşil ceviz kabuklarındaki bileşiklerin tanımlanarak, etkin olabilecek maddelerin antimikrobiyal aktivitesine ileriki çalışmalarda bakılabileceğini düşünmekteyiz.

Kontrol gurubu olarak altı farklı antimikrobiyal ilacın (Gentamisin, Ampisilin, Siproflaksin, Kanamisin, Streptomisin ve Oceral) deney mikroorganizmalarımızın üzerindeki inhibisyon zonlarını araştırmak amacı ile antibiyogram yapılmıştır. Bu ilaçların mikroorganizmalar üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları cevizden elde ettiğimiz özütlerle karşı oluşturulan inhibisyon zon çapları ile karşılaştırıldığında, sadece ampisilin ile paralel

olduğunu gözlemlenmiştir. Diğer ilaçların oluşturduğu inhibisyon zon çaplarının özütlere göre daha aktif olduğu belirlenmiştir (bkz. Tablo 4.1-4.3). Bu bulgulara göre cevizden elde edilen özütlerin ticari olarak kullanılan bir antibiyotik (Ampisilin) kadar aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Deneyle *in vitro* koşullarda gerçekleştirilmiştir. Fakat *in vivo* koşullarda denenmemiştir. Bunun nedeni çalışma süresi ile ilgili olup, *in vivo* çalışmalarda kapsamlı laboratuvarların bulunmaması ve birçok parametrenin ölçümünün zaman alması *in vivo* koşullarda bu çalışmayı gerçekleştirilmemesinin nedenidir. Özellikle yeşil ceviz kabuklarından elde edilen özütlerin insanda yaşayan patojenler üzerinde *in vivo* koşullarda çalışmalar yapılarak denenirse, insan üzerinde yeşil ceviz kabuk özütünün ilaç sanayinde kullanılıp kullanılmayacağına dair kesin yargılara varılabilir.

Bu tez çalışmasında *Juglans regia L.* türünün yeşil meyve kabuklarının kimyasal kompozisyon içeriği tanımlanmamıştır. Fakat deney sonuçlarına göre yeşil ceviz kabuklarında antimikrobiyal aktivite özelliğine sahip bileşik/bileşiklerin olduğu düşünülmektedir. Sonraki çalışmalarda yeşil ceviz kabuklarında bulunan kimyasallar analiz edilerek, etkin olan bileşiklerin tanımlanabileceği, antimikrobiyal aktivitesine bakılabileceğini ve daha sonraki çalışmalarda bu bileşik/bileşiklerin insan ve hayvanlarda görülen enfeksiyonlarda tedavi edici ajan olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

## KAYNAKLAR

1. ALİ-SHTAVEH, M. S., and ABU GHDEIB, S. I., 1999. Antifungal activity of plant extracts against dermatophytes. *Mycoses*. 42, 665-72
2. ALKHAWAJAH, A. M., 1997. Studies on the antimicrobial activity of *Juglans regia*. *Am J Chin Med*. 25, 175-80
3. AKÇA, Y., 2006. Ülkemiz ceviz yetiştiriciliğinde Şebin ceviz çeşidinin önemi ve yeri ([www.sebinkarahisar.com](http://www.sebinkarahisar.com))
4. AKÇELİK, M., AYHAN, K., ÇAKIR, İ., DOĞAN, H.B., GÜRGÜN, V., HALKMAN, A.K., KALELİ, D., KULEAŞAN, H., ÖZKAYA, D., TUNAİL, N., TÜKEL, Ç., 2000. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, 2. Basım, Sim Matbaacılık, Ankara.
5. AMARAL, J. S., SEABRA, R. M., ANDRADE, P. M., VALENTAO, P., PEREIRA, J. A., FERRERES, F., 2004. Phenolic profile in the quality control of walnut (*Juglans regia L.*) leaves. *Food Chemistry*. 88, 373-379
6. AMARAL, J. S., ALVES, M. R., SEABRA, R. M., OLIVEIRA, B. P., 2005. Vitamin E composition of walnuts (*Juglans regia L.*): a 3- year comparative study of different cultivars. *J Agric Chem*. 53, 5467-72
7. ARDA, M., 2000. Temel Mikrobiyoloji, 2. Basım, Medisan Yayınevi, İstanbul, s: 1-12
8. ATEŞ, D. A. ve ERDOĞRUL, Ö. T., 2003. Antimicrobial Activities of Various Medical and Commercial Plant Extracts. *Turk J. Biol* 27. 157-162
9. BABULA, P., MÍKELOVA, R., ADAM, V., KÍZEK, R., HAVEL, L., SLADKY, Z., 2006. Using of liquid chromatography coupled with diode array detector for determination of naphthoquinones in plants and for investigation of influence of pH of cultivation medium on content of plumbagin in *Dionaea muscipula*. *Journal of Chromatography B*. V: 842, 28-35

10. BAYTOP, T. 1984. Türkiye’ de Bitkiler İle Tedavi. İstanbul Üniversitesi Yayınları. No: 3235-Eczacılık Fakültesi. No:40, İstanbul.
11. BEYHAN, E. D., 1999. *Viscum album* Ekstraktı’ nın antibakteriyel etkilerinin araştırılması, GYTE Yüksek Lisans Tez Çalışması.
12. BINDER, R. G., BENSON, M. E., FLATH, R.A., 1989. Eight 1,4-naphthoquinones from *Juglans*. Phytochemistry, V: 28, s: 2799-2801
13. CENGİZ TEVFİK, A., 1999. Bakteriyoloji, Mikoloji, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Öncü Basımevi, Ankara. Bölüm 3, s: 399-1087
14. COLARIC, M., VEBERIC, R., SOLAR, A., HUDINA, M., STAMPAR, F., 2005. Phenolic acids, syringaldehyde, and juglone in fruits of different cultivars of *Juglans regia* L. J Agric Food Chem 53, 6390-6
15. ÇAĞLARIRMAK, N., 2003. Biochemical and physical properties of some walnut genotypes (*Juglans regia* L.) Nahrung 47, 28-32
16. ÇELEBİOĞLU, G., AĞGÜL, Y., 1981. Ceviz. Atatürk Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü, s: 64 (www.sebinkarahisar.com)
17. DAVIS, P. H., 1965. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburg at the University Press. United Kingdom, V: 1, s: 1-30
18. DAVIS, P. H., 1982. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburg University Pres. United Kingdom, V: 7, s: 652-654
19. DÜLGER, B. ve GÖNÜZ, A., 2004. Antimicrobial Activity of Certain Plants used in Turkish Traditional Medicine. Asian Journal of Plant Sciences 3, 104-107
20. ENEZ, N., 1987. Doğal Boyamacılık. Marmara Üniversitesi. Yayın No: 449. İstanbul

21. ERDEMOĞLU, N., KÜPELİ, E., YEŞİLADA, E., 2003. Anti-inflammatory and antinociceptive activity assesment of plants used as remedy in Turkish folk medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, V: 89, s: 265-270
22. FUKUDA, T., ITO, H., YOSHIDA, T., 2003. Antioxidative polyphenols from walnuts (*Juglans regia L.*). *Phytochemistry* 63, 795-801
23. GROBE, W., 1982. Function of serotonin in seed of walnuts. *Phytochemistry*, V: 21, s: 819-822
24. GÜLLÜCE, M., ASLAN, A., SÖKMEN, M., ŞAHİN, F., ADIGÜZEL, A., AĞAR, G., SÖKMEN, A., 2006. Screening the antioxidant and antimicrobial properties of the lichens *Parmelia saxatilis*, *Platimatia glauca*, *Ramalia pollinaria*, *Ramalina polymorpha* and *Umbilicaria nylanderiana*. *Phytomedicine*, V:13, 515-521
25. GÜRHAN, G., EZER, N., 2004. Halk Arasında Hemoroite Karşı Kullanılan Bitkiler-1. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, Cilt: 24, Sayı: 1, s: 37-55
26. HAQUE, R., BİN-HAFEZ, B., PARVEZ, S., SAVEED, I., ALİ, M., RAİSUDDİN S., 2003. Aqueous extract of walnut (*Juglans regia L.*) protect mice against cyclo phosphamide-induced biochemical toxicity. *Hum Exp Toxicol.* 22, 473-80
27. HARMANCIOĞLU, M., 1955. Türkiye’ de Bulunan Önemli Bitki Boyalarından Elde Olunan Renklerin Çeşitli Müessirlere Karşı Yün Üzerinde Haslık Dereceleri. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Doktora Tezi.
28. HOLT, J. G., KRIEG, N. R., 1984. *Bergey’ s Manual of Systematic Bacteriology*. William&Wilkins, USA. V:1, s: 1131
29. HOLT, J. G., KRIEG, N.R., SNEATH, P. H. A., STALEY, J. T., WILLIAMS, S. T., 1994. *Bergey’ s Manual of Determinative Bacteriology*. William&Wilkins, USA, s: 179-532

30. INBARAJ, J. J. and CHIGNELL, C. F., 2004. Cytotoxic action of juglone and plumbagin: a mechanistic study using HaCaT keratinocytes. *Chem Res Toxicol.* 17, 55-62
31. KARAMAN, İ., ŞAHİN, F., GÜLLÜCE, M., ÖĞÜTÇÜ, H., ŞENGÜL, M., ADIGÜZEL, A., 2002. Antimicrobial Activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus L.* *Journal of Ethnopharmacology* 85, 231-235
32. KILIÇTURGAY, K., GÖKIRMAK, F., TÜRE, O., GEDİKOĞLU, S., GÖRAL, G., BALCI, S., 1994. *Klinik Mikrobiyoloji*
33. KILINÇ Ü., AYDIN F., 2006, Kayseri Yöresindeki Tavukçuluk İşletmelerinden Toplanan Tavuklardan İzole edilen *Salmonella* Türlerinin Antibiyotiklere Duyarlılıkları. *Journal of Health Science* 15, 35-40
34. MAHONEY, N., MOLYNEUX, R. G., CAMPBELL, B. C., 2000. Regulation of naphthoquinones of walnut (*Juglans regia*). *J Agric Food Chem.* 48, 4418-21
35. MAHONEY, N. and MOLYNEUX, R. J., 2004. Phytochemical inhibition of aflatoxigenicity in *Aspergillus flavus* by constituents of walnuts (*Juglans regia*). *J Agric Food Chem.* 52, 1882-9
36. MILIASKUS, G., VENSKUTONIS, P. R., BEEK, T. A., 2003. Screening of radical scavenging activity of some medical and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, V: 85, 231-237.
37. NARIMAN, F., EFTEKHAR, F., HABIBI, Z., FALSAFI, T., 2004. Anti-*Helicobacter pylori* activities six Iranian plants. *Helicobacter* 9, 146-51
38. ONKEN, M., 1998. Looking for any medical research that involves any part of a walnut tree ([www. .madsci.org/posts/archivies/may98/89397100.me.r.html](http://www.madsci.org/posts/archivies/may98/89397100.me.r.html))
39. PRASAD, R. B. N., GÜLZ, P. G., 1990. Surface waxes from leaves and fruits of walnut. *Phytochemistry*, V: 29, s: 2097-2099

40. QADAN, F., THEWAINI, A. J., ALI, D. A., AFIFI, R., ELKHAWAD, A., MATAKA, K. Z., 2005. The antimicrobial activities of *Psidium guajava* and *Juglans regia* leaf extract to acne-developing organisms. *Am J Chin Med.* 33, 197-204
41. REITER, R. J., MANCHESTER, L. C., TAN, D. X., 2005. Melatonin in walnuts: influence on levels of melatonin and total antioxidant capacity of blood. *Nutrition* 21, 920-4
42. SAVAGE, G. P., 2001. Chemical composition of walnuts (*Juglans regia L.*) grown in New Zealand. *Plant Food Hum. Nutr.* 56(1): 75-82
43. SEÇMEN, Ö., GEMİCİ, Y., GÖRK, G., BEKAT, L., LEBLEBİCİ, E., 1995. Tohumlu Bitkiler Sistematığı. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi No: 116, İzmir. S: 182
44. SNEATH, P. H. A., NICHOLAS, S. M., MAIR, N. S., SHARPER, M. E., HOLT, J. G., 1986. Bergey' s Manual of Systematic Bacteriology. William&Wilkins, USA, V: 2, Section 13
45. STAMPAR, F., SOLAR, A., HUDINA, M., VEBERIC, R., COLARIC, M., 2005. Traditional walnut liqueur-cocktail of phenolics. *Food Chemistry* 95, 627-631
46. SOLAR, A., COLARIC, M., USENIK, V., STAMPAR, F., 2005. Seasonal variations of selected flavonoids, phenolic acids and quinones in annual shoots of common walnut (*Juglans regia L.*). *Plant Science*, V: 170, s: 456-461
47. ŞİMŞEK, E., 1993. Klinik Mikoloji, Mikrobiyoloji İmmünoloji. Metay Medikal Yayıncılık, İzmir, s: 198-262
48. TADEG, H., MOHAMMED, E., ASRES, K., GEBRE-MARIAM, T., 2005. Antimicrobial activities of some selected traditional Ethiopian medical plants used in the treatment of skin disorders. *Journal of Ethnopharmacology*, V:100, s: 168-175



49. TEPE, B., AKPULAT, H. A., SÖKMEN, M., DAFERERA, D., YUMRUTAŞ, Ö., AYDIN, E., POLİSSİOU, M., SÖKMEN, A., 2005. Screening of the antioxidative and antimicrobial properties of the essential oils of *Pimpinella anisetum* and *Pimpinella flabellifolia* from Turkey. Food Chemistry, V: 97, 719-724
50. TSAMOURIS, G., HATZİONTONİOU, S., DEMETSOZ, C., 2002. Lipid Analysis of Greek Walnut Oil (*Juglans regia L.*) Z. Naturforsch. 57c, 51-56
51. TUNÇ, M., 2000. Çöven (*Gypsophila arrostii* var. *nebulosa*) Bitkisinden Elde Edilen Ekstrakt'ın Antibakteriyel Özelliğinin Araştırılması. GYTE Yüksek Lisans Tez Çalışması.
52. UĞUR, G., 1988. Türk Halılarında Doğal Renkler ve Boyalar. Ajans Türk Matbacılık A.Ş., Türkiye İş Bankası Yayınları No: 289, Ankara.
53. USTAÇELEBİ, Ş., 1994-1995. Genel ve Özel Bakteriyoloji, Mikoloji ve Temel ve Klinik Mikrobiyoloji Ders Notları, Feryal Matbaası, s: 56-59, 212-214.
54. ZEYBEK, N., ZEYBEK, U., 1994. Farmasötik Botanik, Kapalı Tohumlu Bitkiler Sistematığı ve Önemli Maddeleri. , Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No: 2, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, s: 177-178
55. ZIBAEENEZHAD, M. J., SHAMSNIA, S. J., KHORASANI, M., 2005. Walnut consumption in hyperlipidemic patients. Angiology 56, 581-3
56. [www.adu.edu.tr/kitap/EHSM/1213/unite05](http://www.adu.edu.tr/kitap/EHSM/1213/unite05)
57. [www.ceviz.gen.tr](http://www.ceviz.gen.tr)
58. [www.fao.org](http://www.fao.org)
59. [www.bitkievi.com](http://www.bitkievi.com)
60. [www.bitkiterapi.tripod.com](http://www.bitkiterapi.tripod.com)
61. [www.henriettesherbal.com](http://www.henriettesherbal.com)
62. [www.mikrobiyoloji.org](http://www.mikrobiyoloji.org)
63. [www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org)
64. [www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org)

## ÖZGEÇMİŞ

13.11.1979 İstanbul Kartal' da doğdu. 1990 yılında Ayazma İlkokulundan, 1993 yılında Gülüzar Zeki Obdan Ortaokulundan, 1996 yılında ise aynı okulun lise kısmından mezun oldu. 1997 yılında Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde lisans eğitimine başladı ve aynı fakülteden 2002 yılında mezun oldu. 2004 yılında GYTE Biyoloji Bölümünde yüksek lisans eğitimine başladı.