

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

***ORİGANUM VULGARE* SUBSP. *HIRTUM* IETSWAART' UN DOĞAL VE
KÜLTÜR FORMLARINDAN ELDE EDİLEN UÇUCU YAĞLARININ
KİMYASAL BİLEŞİMLERİ VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE
ÖZELLİKLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gülden ESEN

Balıkesir, Haziran-2005

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ORİGANUM VULGARE SUBSP. HIRTUM IETSWAART' UN DOĞAL VE
KÜLTÜR FORMLARINDAN ELDE EDİLEN UÇUCU YAĞLARININ
KİMYASAL BİLEŞİMLERİ VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE
ÖZELLİKLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gülden ESEN

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ayşe Dilek AZAZ

Sınav Tarihi: 04.07.2005

Jüri Üyeleri:

Doç. Dr. Ayşe Dilek AZAZ (Danışman) BAÜ FEF

Prof. Dr. Gülendir TÜMEN BAÜ FEF

Yrd. Doç. Dr. Osman YILDIRIM BAÜ NEF

Balıkesir, Haziran-2005

ÖZET

ORIGANUM VULGARE SUBSP. HIRTUM IETSWAART' UN DOĞAL VE KÜLTÜR FORMLARINDAN ELDE EDİLEN UÇUCU YAĞLARININ KİMYASAL BİLEŞİMLERİ VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE ÖZELLİKLERİ

Gülden ESEN

Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,
Biyoloji Anabilim Dalı

(Yüksek Lisans Tezi / Tez Danışmanı Doç. Dr. Ayşe Dilek AZAZ)

Balıkesir, 2005

Lamiaceae familyası Türkiye’de 45 cins, 546 tür (730 takson) ile temsil edilmektedir. *Origanum* cinsi ise Türkiye’de 24 tür ile temsil edilmekte olup endemizm oranı % 63 ’tür. *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* Ietswaart alttürüne ait örnekler Marmara bölgesinde farklı lokalitelerden toplanmış ve Yalova Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü’ nde kültüre alınmıştır. Örneklerin uçucu yağları hidrodistilasyonla elde edilerek GC ve GC/MS ile kimyasal bileşimleri belirlenmiştir. GC/MS analiz sonuçlarına göre doğal ve kültür örneklerinin uçucu yağlarının ana bileşenleri karvakrol (% 7.5 - % 82.9 ve % 5.3 – 85,4) ve timol (% 0.3 - % 60.1 ve % 0.3 -68.0) olarak belirlenmiştir. Uçucu yağların test bakterileri, *Candida albicans* ve mikrofunguslar üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiği, ancak test edilen ipliksi funguslardan bazıları üzerinde antifungal etki hiç görülmezken, bazı mikrofunguslar üzerindeki etkinin oldukça düşük olduğu gözlenmiştir.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*/ Lamiaceae/
Uçucu Yağ/ GC/MS/ Antibakteriyal Aktivite/ Antifungal Aktivite/ Karvakrol/ Timol

ABSTRACT

CHEMICAL COMPOSITION AND *IN VITRO* ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS OF WILD AND CULTIVATED *ORIGANUM VULGARE* SUBSP. *HIRTUM* IETSWAART

Gülden ESEN
Balıkesir University, Institute of Science,
Department of Biology

(M. Sc. Thesis / Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ayşe Dilek AZAZ)

Balıkesir, 2005

The family Lamiaceae is represented by 45 genera, 546 species and 730 taxa in Turkey. The genus *Origanum* is represented in Turkey by 24 species, the ratio of endemism in the genus is 63 %. *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* Ietswaart collected from different localities in Marmara region and their cultivated forms provided from Atatürk Central Horticultural Research Institute Yalova / Turkey were subjected to hydrodistillation to yield essential oils which were subsequently analysed by GC and GC/MS. The main constituents of the oils were identified and antimicrobial bioassays were applied. The analyses showed that wild and cultivated *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* oils included carvacrol obtained from wild plants and from cultivars (82.9 -7.5 % and 85.4 - 5.3 % respectively), and included thymol from wild and from cultivars (60.1-0.3 % and 68.0 - 0.3 % respectively) as main components. The essential oils showed strong antimicrobial activity against all microorganisms tested except some microfungi.

KEY WORDS: *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* / Lamiaceae / Essential oil/
GC/MS analysis / Antibacterial activity / Antifungal activity / Carvacrol / Thymol.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET, ANAHTAR SÖZCÜKLER	ii
ABSTRACT, KEY WORDS	iii
İÇİNDEKİLER	iv
KISALTMALAR	vi
ŞEKİL LİSTESİ	vii
ÇİZELGE LİSTESİ	ix
ÖNSÖZ	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Bitkisel Materyalin Hazırlanması	13
1.1.1 Toplama	13
1.1.2 Kurutma	13
1.1.2.1 Gölgede Kurutma	14
1.2 Uçucu Yağların Tanımı ve Özellikleri	14
1.3 Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri	17
1.3.1 Distilasyon	17
1.3.1.1 Su Distilasyonu	17
1.3.1.2 Buhar Distilasyonu	18
1.3.1.3 Su-Buhar Distilasyonu	18
1.3.1.4 Kuru Distilasyon	18
1.3.1.5 Hidrofüzyon	19
1.3.2 Ekstraksiyon	19
1.3.2.1 Organik Çözücü İle Ekstraksiyon	20
1.3.2.2 Sabit Yağ İle Ekstraksiyon	20
1.3.2.3 Sıvılaştırılmış Gazlarla Ekstraksiyon (Süper Kritik Gaz Ekstraksiyonu)	20
1.3.3 Sıkma	21
1.4 Uçucu Yağdaki Bileşiklerin Belirlenmesi	21
1.5 Uçucu Yağların Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesinde Kullanılan Teknikler	22
1.5.1 Disk Difüzyon (Kirby-Bauer) Yöntemi	22
1.5.2 Tüp Dilüsyon Yöntemi	23
1.6 Lamiaceae(Labiatae) Familyasının Genel Özellikleri	23
1.7 <i>Origanum</i> L. Cinsinin Morfolojik Özellikleri	24
1.8 Türkiye’de Yetişen <i>Origanum</i> Türleri ve Yayılış Alanları	25
1.9 Türkiye Florasında kayıtlı <i>Origanum</i> L. Türlerinin Teşhis Anahtarı	27
1.10. <i>Origanum vulgare</i> L. subsp. <i>hirtum</i> (Link) Ietswaart’ un Genel Özellikleri	31

2. MATERYAL VE METOT	33
2.1 Materyal	33
2.1.1 Bitki Materyali ve Yağların İzolasyonu	33
2.1.2 Antimikrobiyal Aktivite Testlerinde Kullanılan Mikroorganizmalar ve Özellikleri	36
2.1.3 Antimikrobiyal Aktivite Testlerinde Kullanılan Besiyerleri ve Standartlar	39
2.2 Metot	41
2.2.1 Uçucu Yağ Bileşenlerinin Belirlenmesi	41
2.2.1.1 Gaz Kromatografisi (GC)	41
2.2.1.2 Gaz Kromatografisi / Kütle Spektrometresi (GC/MS)	42
2.2.2 Uçucu Yağların Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler	42
2.2.2.1 Agar Disk Difüzyon Metodu	43
2.2.2.2 Mikrobrot Dilüsyon Metodu	43
2.2.2.3 Antifungal Aktivite	44
3. BULGULAR	46
3.1 Uçucu Yağların GC/MS Analizi Sonuçları	46
3.2 Uçucu Yağların Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları	56
4. SONUÇ VE TARTIŞMA	63
5. KAYNAKLAR	68

KISALTMALAR

<u>Kısaltma</u>	<u>Açıklama</u>
ATCC	American Type Culture Collection, U.S.A.
DPPH	Difenilpikrilhidrazil
FID	Fire Ionization Dedector
IC ₅₀	İnhibe Edici Konsantrasyonun % 50' si
m/z	Kütle/yük
ml	Mililitre (10 ⁻³ litre)
NCDO	National Collection of Dairy Organisms
NCIB	National Collecton of Industrial and Marine Bacteria Ltd., U. K.
NCTC	National Collection of Type Cultures, Central Public Health Laboratory, U.K.
NRRL	Nothern Regional Research Laboratory, U.S.A.
ppm	10 ⁻³ mililitre
Rt	Retention Time
UC	Upjohn Company, U.S.A
µg	Mikrogram (10 ⁻⁶ gram)
µl	Mikrolitre (10 ⁻⁶ litre)
µm	Mikrometre (10 ⁻⁶ metre)

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil Numarası	Adı	Sayfa
Şekil 1.1.a	Karvakrol Molekül Yapısı	4
Şekil 1.1.b	Timol Molekül Yapısı	4
Şekil 1.2	Türkiye Origanum İhracatının Yıllara Göre Değer Grafiği	10
Şekil 1.3	<i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> (Link) Ietswaart (kültür formu)	32
Şekil 3.1	E 801 A Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Doğal)	46
Şekil 3.2	E 801 R Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Doğal)	46
Şekil 3.3	E 801 S Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Doğal)	47
Şekil 3.4	E 801 U Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Doğal)	47
Şekil 3.5	E 840 C Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Doğal)	47
Şekil 3.6	E 801 X Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Doğal)	47
Şekil 3.7	E 840 A Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Doğal)	48
Şekil 3.8	E 840 C Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Doğal)	48
Şekil 3.9	E 840 G Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Doğal)	48
Şekil 3.10	E 840 H Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Doğal)	48
Şekil 3.11	E 840 N Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Doğal)	49
Şekil 3.12	E 840 R Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Doğal)	49
Şekil 3.13	E 840 T Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Doğal)	49
Şekil 3.14	E 840 V Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Doğal)	49
Şekil 3.15	E 840 Z Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Doğal)	50

Şekil 3.16	E 840 W Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Doğal)	50
Şekil 3.17	E 841 D Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Doğal)	50
Şekil 3.18	E 841 E Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Doğal)	50
Şekil 3.19	E 841 K Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Doğal)	51
Şekil 3.20	E 841 M Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Doğal)	51
Şekil 3.21	E 857 A Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Kültür)	51
Şekil 3.22	E 857 P Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Kültür)	51
Şekil 3.23	E 857 R Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Kültür)	52
Şekil 3.24	E 857 T Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Kültür)	52
Şekil 3.25	E 857 U Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Kültür)	52
Şekil 3.26	E 857 Z Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Kültür)	52
Şekil 3.27	E 857 X Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Kültür)	53
Şekil 3.28	E 858 B Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Kültür)	53
Şekil 3.29	E 858 F Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Kültür)	53
Şekil 3.30	E 858 G Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Kültür)	53
Şekil 3.31	E 858 N Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Kültür)	54
Şekil 3.32	E 858 S Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Kültür)	54
Şekil 3.33	E 858 U Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Kültür)	54
Şekil 3.34	E 858 W Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Kültür)	54
Şekil 3.35	E 858 Z Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Kültür)	55
Şekil 3.36	E 858 X Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Kültür)	55
Şekil 3.37	E 859 F Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Kültür)	55
Şekil 3.38	E 859 G Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Kültür)	55
Şekil 3.39	E 859 N Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Kültür)	56
Şekil 3.40	E 859 R Nolu Uçucu Yağın Bileşenleri (Kültür)	56

ÇİZELGE LİSTESİ

Cizelge Numarası	Adı	Sayfa
Tablo 2.1	Doğal <i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> Ietswaart Örneklerinin Toplanma Yerleri, Uçucu Yağ Verimleri ve Ana Bileşenleri	34
Tablo 2.2	Kültüre Alınan <i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> Ietswaart. Örneklerinin Toplanma Yerleri, Uçucu Yağ Verimleri ve Ana Bileşenleri	35
Tablo 3.1	Doğal <i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> Ietswaart Uçucu Yağlarının Disk Difüzyon Metoduna Göre Antimikrobiyal Aktivitesi (mm)	57
Tablo 3.2	Kültüre Alınan <i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> Ietswaart Uçucu Yağlarının Disk Difüzyon Metoduna Göre Antimikrobiyal Aktivitesi (mm)	58
Tablo 3.3	Doğal <i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> Ietswaart Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri (MİK) µg/ml	59
Tablo 3.4	Kültüre Alınan <i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> Ietswaart Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri (MİK) µg/ml	60
Tablo 3.5	Doğal <i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> Ietswaart Uçucu Yağlarının Antifungal Aktiviteleri (% inhibisyon)	61
Tablo 3.6	Kültüre Alınan <i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> Ietswaart Uçucu Yağlarının Antifungal Aktiviteleri (% inhibisyon)	62

ÖNSÖZ

Origanum vulgare subsp. *hirtum* Ietswaart (İstanbul kekiği), uzun yıllardan beri tedavi edici özellikleri bilinen ve halk arasında birçok hastalığın tedavisinde tercih edilen bir türdür. Bizde bu özelliklerine bilimsel bir ışık tutmak amacıyla, Marmara Bölgesi'nde yetişen *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* uçucu yağlarının antimikrobiyal özelliklerini araştırdık. Bunun yanında, aynı örneklerin kültür formlarını da çalışma materyalimize ekleyerek bu özelliklerini karşılaştırdık.

Çalışmamın her kademesinde destek ve yardımlarını esirgemeyen, değerli eleştiri ve fikirleriyle tezimin son halini almasında büyük emeği geçen değerli danışman hocam Doç. Dr. A. Dilek AZAZ' a sonsuz teşekkür borçluyum.

Araştırmam süresince bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan hocam Sayın Prof. Dr. Gülendam TÜMEN'e, GC ve GC/MS analizlerinin yapılması ve yorumlanmasında büyük emeği geçen Sayın Prof. Dr. K. Hüsnü Can Başer' e ve Sayın Yard. Doç. Dr. Mine Kürkçüoğlu' na, bitkisel materyalin teminini sağlayan Sayın Yüksek Ziraat Mühendisi Ahmet Tınmaz' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Beni yetiştirip bugünlere getiren, çalışmam boyunca destek ve teşviklerini esirgemeyen değerli aileme de teşekkürü bir borç bilirim.

Balıkesir, 2005

Gülden ESEN

1. GİRİŞ

Bitkiler, insanoglunun temel besin gereksinmelerini karşılayabilmesi için gereken primer metabolitlerin (karbonhidrat, protein ve yağların) ana kaynağıdır. Bu önemli bileşiklerin dışında odun, selüloz, zank, lastik gibi bazı yararlı maddeler de bitkilerden sağlanmaktadır. Besin ve enerji sağlama gibi yaşamsal değerler taşımakla birlikte, başta ilaç sanayi olmak üzere kimya, besin, kozmetik ve zirai mücadele sektörlerinde bitkisel doğal türünlerden yararlanılmaktadır [1].

Bitkilerden elde edilen doğal ürünlerin tedavi amacıyla kullanılması, bilim adamları için uzun zamandan beri ilgi çekici bir çalışma alanı olmuştur. Bu maddeler, önceleri bitkiler tarafından oluşturulan ve hiçbir işlevi bulunmayan atık maddeler olarak kabul edilmekteydi. Ancak son zamanlarda bu metabolitlerin bazı ekolojik işlevlerin gerçekteşmesinde önemli rol oynadıkları anlaşılmıştır [2, 3].

Bitkilerin hastalık tedavi edici özellikleri binlerce yıl öncesinde insanların ilgisini çekmiştir. Eski Mısır, Mezopotamya, Çin ve Hint gibi pek çok uygarlık hastalıklara karşı bitkilerden hazırladıkları ilaçları kullanmışlardır. 1800' lü yıllarda bitkilerden etkili bileşiklerin elde edilmesi, ardından özellikle 20.yy' nin son çeyreğinde analiz yöntemlerinin gelişmesiyle içeriklerin saptanması ve etkilerinin araştırılması büyük hız kazanmış ve 90'lı yıllarda A.B.D ve Avrupa Birliği'nde ilgili yasalar yürürlüğe girmiştir [4].

Günümüzde tıbbi bitkiler, geleneksel tedavi yöntemlerinin en aktif unsurları olarak bilinmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verileri gelişmekte olan ülkelerde insanların % 80'inin bu tedavi yöntemlerini kullandığını ve 3.3 milyar insanın da tıbbi bitkilerden terapi aracı olarak yararlandığını ortaya koymuştur [5, 6].

WHO tanımlamasına göre "bitkisel ilaç", aktif içerik olarak bitkilerin toprakaltı veya topraküstü kısımlarını (kök, kabuk, çiçek, meyve, tohum, yaprak gibi)

ya da başka bitkisel materyali veya bunların kombinasyonunu ham halde veya bitkisel preparatlar halinde taşıyan, günümüz ilaç endüstrisi teknolojisinin tüm gerek ve kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve etiketlenmiş tıbbi ürünlerdir. Bitkisel materyal, usare, zambak, sabit veya uçucu yağlar ve bu yapıda diğer maddeleri kapsar. Kimyasal olarak tanımlanmış, etken maddelerle kombine edilmiş bitkisel materyal taşıyan ve bitkiden saf olarak izole edilmiş kimyasal madde içeren ürünler bitkisel ilaç olarak kabul edilmemektedir [7].

Gelişmiş ülkelerde HIV başta olmak üzere birçok virüs, bakteri ve diğer hastalık yapıcı etkenlere karşı antiviral ve antimikrobiyal etkili yeni kimyasalların saptanması için doğal kaynaklara başvurulmakta ve bu kaynakların başında da bitkiler gelmektedir. Örneğin; A.B.D.' de Ulusal Kanser Enstitüsü bünyesinde bitkilerin antibakteriyel ve antiviral özelliklerini araştırmak amacı ile Kuzey ve Güney Amerika'da bitki örtüsü incelenmekte ve bu amaçla yılda 4500 bitki örneğini inceleyecek bir program dahilinde araştırmalar yapılmaktadır [8].

Bitkisel ilaca ilginin yeniden canlanmasının ana nedeni, modern ilaçların her hastalığı tedavi etme yeteneğine sahip olmaması, birçok yan etkilerinin bulunması ve çok pahalı oluşlarıdır. Bu durum, bitkisel ilaçların daha etkili, daha toksik ve daha pahalı olan sentetik ilaçlarla bir arada kullanımlarında tamamlayıcı olarak rol oynamalarına olanak sağlamakta, ayrıca tek başlarına ise alternatif terapi aracı olarak deri ve mukoza lezyonları ile diğer sistem enfeksiyonlarında iyileştirici ve antiseptik amaçlı olarak kullanımlarını gündeme getirmektedir [9, 10, 11].

Antibakteriyel aktiviteye sahip bitkilerin, bakteriyel orijinli insan, hayvan ve bitki hastalıklarının kontrolünde etkili olabileceği ve hatta yiyecek depolarındaki bakteriyel kontaminasyonu önlemek gibi spesifik bir işleve sahip olabileceği bildirilmektedir [12, 13, 14]. Ayrıca baharat özelliğindeki bazı bitkilerin içerdikleri uçucu yağlar ile gıdaların organoleptik özelliğinde kayba neden olmaksızın bakteriyel bozulmayı geciktirdikleri ve buna bağlı olarak koruyucu amaçla kullanıldıkları da saptanmıştır. Antibakteriyel etkiye sahip bitkiler, yaygın kullanılan antibiyotiklere direnç geliştiren bakteri tür veya suşlarını kontrol altına alabilme yeteneğine de sahiptirler. Bu durumda bitkiler, tedavi edici etkilerinin yanı sıra yeni

antibakteriyel ilaçların geliştirilmesi için yapılan araştırmalarda da model olarak kullanılabilirler [6].

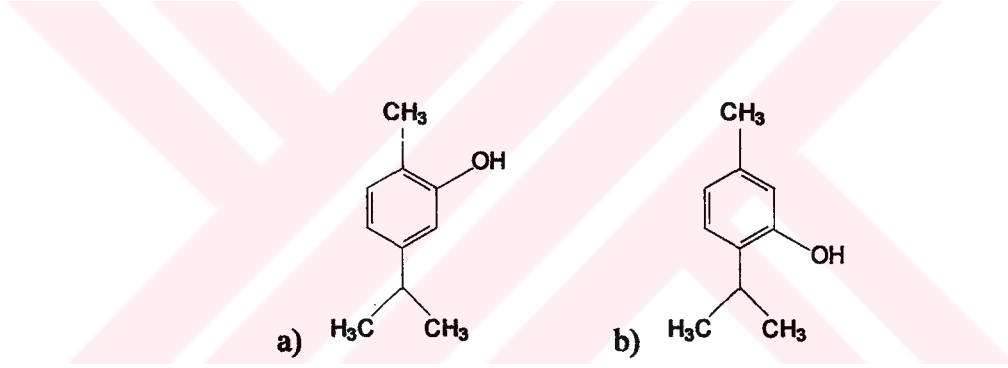
Ticari antimikrobiyal ilaçların veya kimyasalların enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde rastgele kullanılması, hem insan vücudundaki hem de bitkilerdeki patojen mikroorganizmaların bunlara direnç kazanmalarına sebep olmaktadır. Bunun yanında gıda kaynaklı mikroorganizmaların neden olduğu hastalıklar en gelişmiş ülkelerde dahil olmak üzere hala dünyanın önemli sorunlarından biridir. Gıdaların açık olarak satışa sunulması, uygun olmayan yerlerde saklanması, bunlarda kontaminasyona sebep olmaktadır. Bu yüzden bazı kimyasal maddelerin kullanılması, yiyecekleri bozulmalara sebep olan mikroorganizmalardan korumak için şart olmuştur. Fakat kimyasal madde içeren gıdaların insan sağlığı açısından ciddi sonuçlarından dolayı, bunların yerine antimikrobiyal etkisi kontrol edilen aromatik bitkilerden elde edilen ekstraktlar veya uçucu yağlar tercih edilmeye başlanmıştır [15, 16, 17, 18].

Bitkilerin uçucu yağları, onların sekonder metabolizma ürünleridir ve halk arasında yemeklere tat ve koku vermek, yiyecekleri korumak ve tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Bitki materyalleri içindeki yeni bileşenler tanımlandıkça, bunların antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri kanıtlanmış ve “geleneksel yiyecek koruma” yöntemlerinin yerini almaya başlamışlardır. Bazı uçucu yağ içeriğindeki maddelerin antimikrobiyal özelliği, özellikle mikotoksin üreten funguslar gibi yiyeceklerin bozulmasına sebep olan mikroorganizmalara karşı test edilmiş, ayrıca yiyeceklerde doğal antioksidan olarak kullanılmıştır [19, 20, 21].

Ülkemizi de içine alan Akdeniz Bölgesi uçucu yağ taşıyan bitkiler açısından en zengin bölgelerden birisidir. Uçucu yağ içeren bitkilere pek çok familyada rastlanmaktadır. Özellikle Pinaceae, Lamiaceae, Apiaceae (Umbelliferae), Myrtaceae, Asteraceae (Compositae), Rosaceae, Rutaceae, Iridaceae, Laureceae, Zingiberaceae, Piperaceae, Brassicaceae en önemlileridir. *Origanum* cinsini de kapsayan Lamiaceae familyasına ait 17 cinsin değişik türleri halk ilacı olarak kullanılmaktadır. Bunlardan *Salvia* ve *Origanum* cinsinin ise tüm türleri halk ilaçları arasında yerlerini almış durumdadır. Asteraceae familyasına ait 7 cins ve bunlardan

Achillea'nın 7, *Artemis*'in 6 türü, Cupressaceae familyasında ise 2 cins, bu cinslerden *Juniperus*'un 6 türü, Pinaceae familyasının 3 cinsi ve bunlardan *Pinus*'un 3 türü halk ilaçları arasında yer almaktadır [22, 23, 24].

Birçok aromatik bitki türünün yiyeceklerde aroma ve tat verici olarak kullanılarının yanı sıra, özellikle *Thymus* ve *Origanum* gibi türlerin antimikrobiyal özellikleri de bilinmektedir. Bu özellikleri onların uçucu yağ kompozisyonlarıyla yakından ilişkilidir. Timol ve karvakrol, monoterpen grubuna ait bileşikler olup, özellikle Lamiaceae familyası üyelerinin uçucu yağlarının önemli ana bileşenlerinden ikisidir. Bu iki bileşik birbirinin izomeridir ve aralarındaki fark hidroksil grubunun pozisyonudur [25, 26, 27, 28]. Molekül yapıları Şekil 1.1.'de verilmiştir [29].



Şekil 1.1 a) Karvakrol b) Timol Molekül Yapıları

Lamiaceae familyası başta Akdeniz havzası olmak üzere yeryüzünün bütün bölgelerine yayılmış, yaklaşık 170 – 250 cins ve 3000 – 3500 tür ile temsil edilmektedir. Türkiye’de ise 45 cins ve 550 kadar türü bulunan önemli familyalardan birisi olup en aromatik bitkilerin ait olduğu familyadır. Bu familyanın endemizm oranı % 44.2’dir. Birçok Lamiaceae üyesi Türkiye’nin Akdeniz bölgesinde dağlık alanlarda yayılış göstermektedir [30, 31, 32, 33, 34]. Aromatik bitkilerinden biri de *Origanum*’dur. *Origanum*’un kelime anlamı “Dağların Süsü (Ornament of the Mountains)’dır [35, 36, 37]. *Origanum* türlerinin uçucu yağlarının analizi ve antimikrobiyal aktivitesine ilişkin birçok çalışma yapılmıştır.

Garcia ve arkadaşları tarafından (2001), *Origanum vulgare* subsp. *virens* türünün uçucu yağı GC/MS ile analiz edilmiş ve linalol yapraktan elde edilen uçucu yağın içeriğinde % 26.29, çiçekten elde edilen uçucu yağın içeriğinde % 38.20 oranında bulunarak ana bileşen olarak kabul edilmiştir [38].

Şahin ve arkadaşları (2003), *Origanum vulgare* subsp. *vulgare* uçucu yağının antioksidan ve antimikrobiyal etkilerini incelemişlerdir. Türün uçucu yağının GC/MS analizinde, karyofillen ve spatulenol ana bileşen olarak tespit edilmiştir. Antioksidan aktivitesinin belirlenmesinde, bitkinin metanol ekstraktının ve uçucu yağının; DPPH serbest radikalini dönüştürmesi ve linoleik asit oksidasyonunu inhibe etmesi özellikleri test edilmiştir. Alınan sonuçlarda; serbest radikal dönüştürülmesinde metanol ekstraktının (9.9 µg/ml'de IC50) uçucu yağa oranla (8.9 µg/ml'de IC50) daha etkili olduğu gözlenmiştir. Linoleik asit inhibisyonunda ise metanol ekstraktı 2mg/ml konsantrasyonda % 32 inhibisyon sağlarken, uçucu yağ 2.2 mg/ml konsantrasyonda % 50 inhibisyon sağlamıştır. Antimikrobiyal testlerde ise, *O. vulgare* subsp. *vulgare* türünün uçucu yağı disklerle 10 µl emdirilmiş ve oluşan zonlara göre 10 bakteri ve 15 fungus üzerine inhibe edici etki gösterdiği, metanol ekstraktının ise antimikrobiyal etkisinin olmadığı rapor edilmiştir [39].

M.Z Basíllico ve J.C Basíllico (1996), *Origanum vulgare* L. uçucu yağının *Aspergillus ochraceus* NRRL 3174 fungusunun üremesi ve okratoksin üretimi üzerine inhibisyon etkisini araştırmışlardır. Alınan sonuçlarda; uçucu yağın 1000 ppm. konsantrasyonda fungus gelişimini ve okratoksin üretimini 21 güne kadar inhibe ettiği belirlenmiştir [40].

Sung-Sook Chun ve arkadaşları (2004), *Origanum vulgare* L. uçucu yağının insanda gastrit ve ülser etkeni olan *Helicobacter pylori*'nin üremesi üzerine etkilerini agar difüzyon yöntemini kullanarak araştırmışlardır. Sonuçta doğal bitki örneklerinin uçucu yağının bakteriler üzerinde 50 µg/ml, kültür örneklerinin ise 100 µg/ml oranında minimum inhibe edici özelliğe sahip olduklarını belirlemişlerdir. [41].

Nostro ve arkadaşları (2003), *Origanum vulgare* L. uçucu yağının *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P ve *S. epidermidis* ATCC 12228 bakterileri üzerine inhibe edici etkisini agar dilüsyon yöntemini kullanarak belirlemişlerdir. Aynı çalışmayı uçucu yağın ana bileşenlerinden timol (% 24.7) ve karvakrol (% 14.0) ile de deneyip sonuçları karşılaştırmışlardır. Sonuçta, MİK (minimal inhibiyon konsantrasyonu) değerlerini karvakrol (% 0.015–0.03, v/v), timol (% 0.03–0.06, v/v) ve uçucu yağ (% 0.06–0.125, v/v) için kaydetmişlerdir. Uçucu yağın diğer bileşenleri olan *p*-simen ve γ -terpinen için, aynı bakteriler üzerine inhibe edici etki saptayamamışlardır. Bunun nedenini, bu iki bileşiğin fenolik hidroksil gruplarında yoksun olması sonucuna bağlamışlardır [42].

Marino ve arkadaşları (2000), *Origanum vulgare* L. uçucu yağının, içlerinde *Escherichia.coli*, *E. coli* O157: H7, *Proteus vulgaris*, *P. mirabilis*, *S. aureus* gibi patojen bakteriler de bulunan 15 mikroorganizma üzerine inhibe edici etkisini araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre; uçucu yağ; 800 ppm konsantrasyonda % 100 etkili olmakta, 400 ppm konsantrasyonda % 70–100 etki sağlamakta, 200 ppm.'de ise *E.coli* O157:H7 suşunun gelişimini hala inhibe edebilmektedir. Ayrıca İtalya'da kültüre alınmış bu bitki örneklerinin GC/MS sonuçlarına göre, içeriğinde ana bileşen olarak timol (% 46.84), γ -terpinen (% 12.88) ve *p*-simen (% 6.64) tespit edilmiştir [27].

Alma ve arkadaşları (2003), Türkiye'de yetişen *Origanum syriacum* L. türünün uçucu yağ içeriğini, uçucu yağının antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerini çalışmışlardır. Alınan sonuçlara göre ana bileşenler; γ -terpinen (% 27.79), karvakrol (% 26.97), *p*-simen (% 15.69), β -karyofillen (% 12.59) olarak bulunmuştur. Antioksidan etkisinin ise; antioksidan olarak bilinen askorbik asit ve BHT (2,6-di-*tert*-bütıl–4-metil fenol)' den çok az düşük olduğu tespit edilmiştir. Yine bitkinin uçucu yağı, içlerinde *Mycobacterium smegmatis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus brevis* türlerinin de bulunduğu 12 mikroorganizma üzerinde etkili bulunmuştur. Fakat *Corynebacterium xerosis* türü bakteri ve *Kluyveromyces fragilis*, *Rhodotorula rubra* fungusları üzerine inhibe edici etkisinin olmadığı saptanmıştır [20].

Baydar ve arkadaşları (2003), Türkiye'den topladıkları *Origanum minutiflorum* ve *Origanum onites* türü bitki örneklerinin uçucu yağlarının içerikleri ve antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlardır. Alınan GC/MS sonuçlarına göre; iki türün de uçucu yağının ana bileşeni karvakrol (*O.minutiflorum*; % 84.6, *O.onites*; % 86.9) olarak tespit edilmiştir. *O. minutiflorum* uçucu yağı 1/50 konsantrasyonda, içlerinde *Bacillus brevis*, *Escherichia.coli*, *Proteus vulgaris* türlerinin de bulunduğu 15 mikroorganizma üzerine etkili bulunmuştur. 1/100 konsantrasyonda, *Aeromonas hydrophila* ATCC 7965, *Bacillus amyloliquefaciens* ATCC 3842, *Corynebacterium xerosis* UC 9165, *Enterococcus faecalis* ATCC 15753, *Micrococcus luteus* LA 2971 ve *P. vulgaris* üzerine etkili, 1/200 konsantrasyonda *B. amyloliquefaciens* ATCC 3842 ve *C. xerosis* UC 9165, 1/300 konsantrasyonda ise sadece *B. amyloliquefaciens* ATCC 3842 üzerine etkili olduğu sonucuna varılmıştır. *O. onites* uçucu yağının da, 1/50 konsantrasyonda tüm mikroorganizmalar üzerine etkiliyken, 1/100 konsantrasyonda *A. hydrophila* ATCC 7965, *B. cereus* ve *E. coli* üzerine etkili olduğu, 1/200 konsantrasyonda *B. amyloliquefaciens* ATCC 3842 ve *P. vulgaris* üzerine etkili olduğu, 1/300 konsantrasyonda ise hiçbir mikroorganizma üzerine etkili olmadığı görülmüştür [26].

Boucha ve arkadaşları (2003), *Origanum compactum* uçucu yağını GC/MS yöntemiyle analiz etmişler ve karvakrol' ü (% 58.5) ana bileşen olarak belirlemişlerdir. Ayrıca uçucu yağın, *Botrytis cinerea* üzerine inhibe edici etkisini çalışmışlar ve uçucu yağın 100 ppm. konsantrasyonda iken fungus üzerinde % 100 inhibisyon sağladığını gözlemlemişlerdir [43].

Vera ve Chane-Ming (1997), *Origanum majorana* uçucu yağının ana bileşenlerini terpinen-4-ol (% 38.4), *cis*-sabinen hidrat (% 15), *p*-simen (% 7) ve γ -terpinen (% 6.9) olarak belirlemişlerdir [44].

Tümen ve arkadaşları (1992), *Origanum sipyleum* uçucu yağını GC ve GC/MS yöntemleriyle analiz etmişler ve uçucu yağın ana bileşenlerini γ -terpinen (% 10.8–26.6), *p*-simen (% 3.76–36.6), timol metil eter (eser-% 19.9), karvakrol metil eter (% 0.41–10.2), timol (% 0.23–7.3) ve karvakrol (% 0.82–12.2) olarak belirlemişlerdir [45].

Başer ve arkadaşları (1994), *Origanum hypericifolium* uçucu yağının içeriğini GC ve GC/MS yöntemleriyle belirlemişler ve ana bileşenlerinin, karvakrol (% 64.33) ve *p*-simen (% 36.10–47.75) olduğunu rapor etmişlerdir [46].

Başer ve Tümen (1993), *Origanum syriacum* var. *bevanii* uçucu yağının içeriğini araştırmışlar, karvakrol (% 42.46), timol (% 24.8), γ -terpinen (% 13) ve *p*-simen (% 6.03)' i, uçucu yağın içeriğinde en çok bulunan bileşikler olarak tespit etmişlerdir [47].

Başer ve arkadaşları (1995), *Origanum rotundifolium* uçucu yağını GC ve GC/MS yöntemleriyle analiz etmişler ve *cis*-sabinen hidrat'ın (% 21.53) ana bileşen olduğunu belirlemişlerdir [48].

Başer ve arkadaşları (1996), *Origanum micranthum* uçucu yağını GC ve GC/MS yöntemleriyle analiz etmişler ve ana bileşenlerinin linalil asetat (% 12.34), *cis*-sabinen hidrat (% 10.81), α -terpineol (% 9.67), linalol (% 8.89) ve terpinen-4-ol (% 8.73) olduğunu rapor etmişlerdir [49].

Başer ve arkadaşları (1996), *Origanum bilgeri* uçucu yağının içeriğini belirlemişler ve karvakrol'ün (% 65.88) ana bileşen olduğunu saptamışlardır [50].

Tümen ve arkadaşları (1991), *Origanum minutiflorum* uçucu yağının ana bileşeninin karvakrol (% 75.4–82) olduğunu belirlemişlerdir [51].

Başer ve arkadaşları (1994), *Origanum laevigatum* uçucu yağını GC ve GC/MS yöntemleriyle analiz ettiklerinde, türün uçucu yağının ana bileşenlerini, bisiklogermasiren (% 37.92), germasiren D (% 21.72) ve β -karyofillen (% 4.5) olarak belirlemişlerdir [52].

Tucker ve Maciarello (1991), *Origanum laevigatum* uçucu yağının ana bileşenlerinin bisiklogermasiren (% 24.58), germasiren D (% 20.46), β -karyofillen (% 16.82) ve mirsen (% 11.64) olduğunu rapor etmişlerdir [53].

Tümen ve arkadaşları (1995), *Origanum saccatum* uçucu yağında ana bileşen olarak *p*-simen (% 83.75)' in bulunduğunu belirlemişlerdir [54].

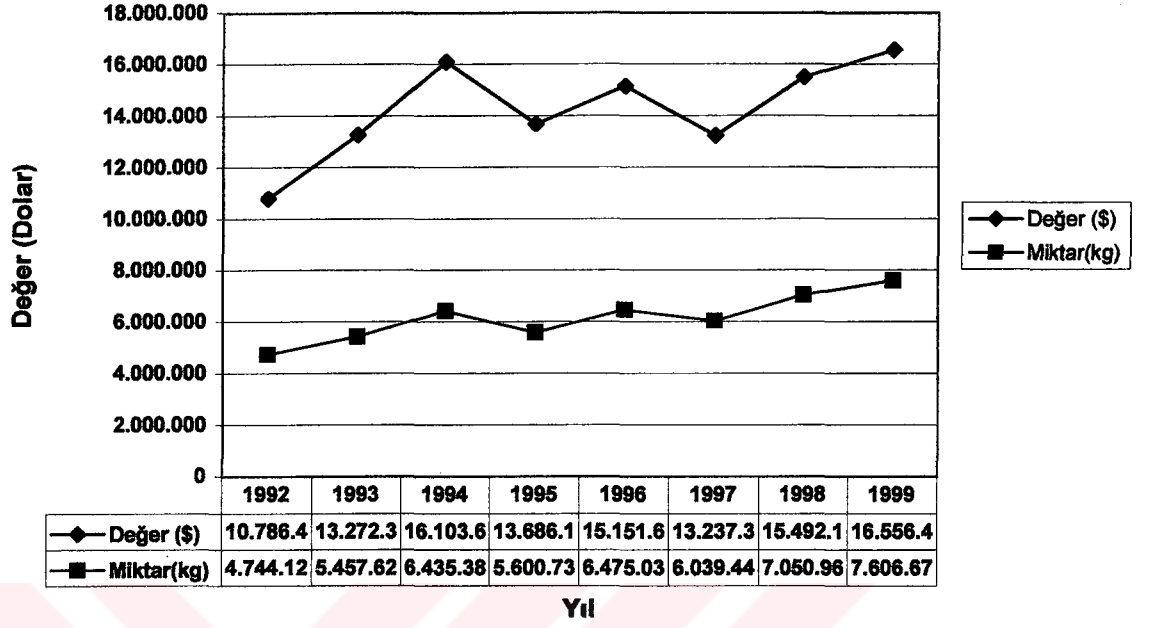
Pino ve arkadaşları (1997), *Origanum majorana* uçucu yağını GC/MS yöntemiyle analiz etmişler ve ana bileşenlerinin terpinen-4-ol (% 17.67), linalol (% 16.41) ve timol (% 11.55) olduğunu rapor etmişlerdir [55].

Dain ve arkadaşları (1997), *Origanum ramonense* uçucu yağında, α -terpineol (% 41.53), terpinen-4-ol (% 16.80), cis-sabinen hidrat (% 13.17), eugenol (% 3.61) ve terpinen (% 3.4)' nin ana bileşen olarak bulunduğunu belirtmişlerdir [56].

Origanum türlerinin % 75'i Akdeniz Bölgesi'nde, özellikle Doğu Akdeniz alt bölgesinde bulunur. *Origanum* cinsine dahil dünyada 41 tür bulunmaktadır. Buna karşılık cins kendi içinde geniş bir varyasyon gösterdiğinden 10 seksiyona ayrılarak incelenmekte ve bu seksiyonlardan 8 tanesi Anadolu'da bulunmaktadır. *Origanum* cinsinin Türkiye'de 22 türü (32 taksa) doğal olarak yetişmektedir. Bu türlerden 21 tanesi ülkemiz için endemiktir ve endemizm oranı % 63'dir [57, 36]. Bu cins ülkemizde "İstanbul kekiği, İzmir kekiği, Bilyalı kekik" adları ile bilinmektedir. Çalimsı veya otsu, çok yıllık, pembe veya beyaz çiçekli ve kuvvetli kokulu bitkilerdir. Uçucu yağları timol veya karvakrol ya da her ikisini birden taşır.

Türkiye son yıllarda, *Origanum* türleri için önemli ana kaynak haline gelmiştir. *Origanum onites* (İzmir kekiği, bilyalı kekik) Türkiye *Origanum* ticaretinde listenin başındadır. *O. majorana* (beyaz kekik), *O. vulgare* subsp. *hirtum* (İstanbul kekiği, kara kekik), *O. minutiflorum* (yayla kekiği, toka kekiği, sütçüler kekiği), *O. syriacum* var. *bevanii* diğer önemli ihracat kaynağı türlerdir. *O. acutidens* ve diğer endemik türler de ülkemiz marketlerindeki yerlerini almıştır. Şekil 1.2' de bu türlerin yıllara göre ihracat ve kazanç grafiği verilmiştir [57].

Türkiye *Origanum* İhracatı



Şekil 1.2 Türkiye *Origanum* İhracatının Yıllara Göre Değer Grafiği

Origanum cinsine ait türler ülkemizde halk arasında daha çok yemeklere aroma kazandırmak için kullanılmaktadırlar. Bununla birlikte solunum sistemi uyarıcısı, yara ve gastrit ülser tedavisi, karın ağrısı, soğuk algınlığı, antiromatizmal etki, baş ağrısı, kanser ve tümör tedavisi gibi tıbbi özellikleri de bilinmektedir. Besinsel ürünlerin tatlandırılmasında ve alkollü içkilerin yapımında geniş ölçüde kullanıldıkları bilinmektedir. *Origanum* türleri, hem uçucu yağ bileşenleri, hem de kompozisyonu açısından kimyasal farklılıklar içermesi ile karakteristiktir [58]. Bu bitkilerin uçucu yağlarının toplam fenol içeriği (kristalize olabilen veya olamayan) aynı tür bitkiler arasında dahi farklılıklar göstermektedir. *Origanum vulgare* türüne ait olan alt türler arasında yapılan araştırmalarda bunların kemotiplerine rastlanmıştır [59]. Yapılan çalışmalarda *Origanum vulgare* subsp. *vulgare* alt türünün 4 kemotipi tanımlanmıştır [60]. Yine aynı türe ait *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*' un timol ve karvakrol kemotipleri [61, 62, 63, 64, 28], *Origanum vulgare* subsp. *glandulosum*' un karvakrol [61], *Origanum vulgare* subsp. *greacile*' nin timol, sabinen, germasiren kemotipleri [61, 65], *Origanum vulgare* subsp. *virens*' in ise germasiren D, sabinen ya da γ -terpinen, linalol, linalol- α , terpineol, linalol-terpinen-4-ol, terpineol-linalol, karvakrol kemotipleri belirlenmiştir [60, 61]. *Origanum* uçucu yağlarının kimyasal

kompozisyonundaki varyasyonlar muhtemelen bu yağların antimikrobiyal özelliklerinin seviyesini de belirlemektedir [66, 67, 68, 69].

Uçucu yağların kimyasal kompozisyonları ve biyolojik aktiviteleri, iklim, mevsim, coğrafik şartlar, toplanma zamanı, distilasyon teknikleri gibi şartlara bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir [33, 39, 70].

Son zamanlarda bitkilerin uçucu yağlarının antimikrobiyal özelliklerinin araştırılması hız kazanmasına rağmen, bu ekstraktların mikroorganizmaların gelişimi nasıl inhibe ettiğine dair detaylı bilgiler elde edilememiştir. Yapılan çalışmaların ışığında, bazı uçucu yağların antimikrobiyal özellik göstermesinin sebebinin, bazı yapı bileşiklerinin sentezlenmesinden sorumlu olan ve enerji üretiminde görev yapan enzim sistemlerini değişikliğe uğratarak, bozmasından ileri geldiği düşünülmektedir [66]. Bunun yanında, bu ekstraktların hücre zarını etkileyerek, permeabilitesini değiştirdiği de gözlenmiştir [71].

Origanum vulgare subsp. *hirtum* türünün uçucu yağı birçok araştırmacı tarafından analiz edilmiştir [32, 72, 73].

Scheffer ve arkadaşları (1986), yaptıkları çalışmada ülkemizin Marmara ve Trakya bölgelerinden topladıkları *O. vulgare* subsp *hirtum* türüne ait örneklerden % 2.3 oranında yağ verimi elde etmişlerdir. Uçucu yağın ana bileşenini de GC ve GC/MS analizinden sonra karvakrol (% 60.7) olarak belirlemişlerdir [74].

Akgül ve arkadaşları (1987), aynı türün uçucu yağı üzerinde çalışmışlar ve % 5.5 oranında yağ verimi elde etmişlerdir. Uçucu yağın ana bileşenini de karvakrol (% 58.7) olarak belirlemişlerdir [75].

Başer ve arkadaşları (1994), Ege Bölgesi' nin farklı lokalitelerinden topladıkları *O. vulgare* subsp *hirtum* türüne ait 23 örneğin uçucu yağını GC ve GC/MS ile analiz etmişler ve uçucu yağın içeriğinde 48 bileşik saptamışlardır. Karvakrol'ün örneklerin uçucu yağ bileşenlerinde % 23.43–78.73 oranları arasında

değiştiğini gözlemlemişlerdir. Timol oranı ise en fazla % 39.81 olarak bulunmuştur [76].

Dorman ve Deans (2000), yaptıkları çalışmada; *Origanum vulgare* subsp *hirtum* uçucu yağının, 25 bakteri üzerinde antimikrobiyal etkisini, agar disk difüzyon yöntemini kullanarak incelemişlerdir. Sonuçta, çalışılan bakteriler üzerinde inhibe edici etkisinin olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca ana bileşenler olan karvakrol ve timol'ün, ayrı ayrı bakteriler üzerine inhibe edici etkisi çalışılmış ve sonuç olarak; timol'ün *Clostridium sporogenes* NCIB 10696 ve *Leuconostoc cremoris* NCDO 543 üzerine etkisinin olmadığı bulunmuş, karvakrol'ün ise sadece *Leuconostoc cremoris* üzerine etkisiz olduğu tespit edilmiştir. Çalıştıkları bakteriler, içlerinde *Enterobacter aerogenes* NCTC 10006, *Escherichia coli* NCIB 8879, *Proteus vulgaris* NCIB 4175, *Pseudomonas aeruginosa* NCIB 950, *Staphylococcus aureus* NCIB 6571 suşlarının de bulunduğu bitki, insan ve hayvan patojeni olan Gram (+) ve Gram (+) mikroorganizmalardır [19].

Kokkini ve arkadaşları (1996), sonbaharda Yunanistan'ın 6 farklı lokalitesinden elde ettikleri *O. vulgare* subsp *hirtum* türüne ait örneklerin uçucu yağını GC ve GC/MS ile analiz etmişler ve dört ana bileşen belirlemişlerdir. Bunlar karvakrol (% 1.7–69.6), timol (% 0.2–42.8), *p*-simen (% 17.3–51.3), γ -terpinen (% 0.6–3.6)'dir. Yunanistanın kuzeyinden toplanan örneklerin uçucu yağının timol (% 30.3–42.8), güneyinden toplanan örneklerin uçucu yağının ise karvakrol (% 57.4–69.6) bakımından zengin olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca yaz mevsiminde elde edilen uçucu yağ içeriğiyle ilgili veriler, sonbaharda elde edilen verilerle de farklılık göstermiştir [28].

Yapılan araştırma sonuçlarına göre en yüksek yağ verimine bitkinin çiçek açma mevsiminde ulaşılmaktadır ve bu da yaklaşık % 1.97'dir [76] Yalnız bu alttürün hem uçucu yağının kimyasal içeriği bakımından hem de morfolojik olarak değişkenlik gösterdiği saptanmıştır. Ne timol ne de karvakrol için, daima uçucu yağının ana bileşenidir denilebilmektedir. Ayrıca, γ -terpinen ve *p*-simen, timol ve karvakrolden az olmakla birlikte bu alttürün uçucu yağının kimyasal içeriğinde daima tespit edilmiştir [28, 58, 77].

Bu çalışmamızda, Lamiaceae familyasına ait *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* türünün, Marmara Bölgesi'nin farklı lokalitelerinden toplanan örnekleri ile aynı örneklerin kültür formlarının uçucu yağ kompozisyonları ve antimikrobiyal aktivite özellikleri araştırılmış ve bu özellikler karşılaştırılmıştır.

1.1. Bitkisel Materyalin Hazırlanması

Bilimsel amaçlarla kullanılacak bitkisel materyallerin deneylerden önce kullanım şekillerine uygun yöntemlerle hazırlanmaları gerekmektedir.

Tıbbi bitkilerin drog olarak kullanılan yaprak, çiçek, tohum, kök gibi kısımlarda bulunan etkili bileşikler nedeniyle hastalıklara iyi geldiği belirtilmektedir. Bu etkili bileşikler bitkilerde belirli hayat devrelerinde yapılmakta ve miktarı da belirli zamanlarda en yüksek düzeye erişmektedir. Drogun etkili bileşikler bakımından mümkün olduğu kadar zengin olması istendiği için, bitkisel materyaller, drog etkili maddelerinin en yüksek olduğu dönemlerde toplanmalıdır [78].

1.1.1 Toplama

Genellikle elle ya da küçük aletler (makas) kullanılarak yapılmaktadır. Ayrıca elle toplama sırasında bitkinin ertesi yıl tekrar ürün vermesi için kökleme yapılmamalıdır. Uçucu yağlar sıcak havada ve güneşte buharlaşarak kaybolabileceğinden dolayı bu bitkileri genellikle erken saatlerde toplanmalıdır [78].

1.1.2 Kurutma

Toplanan bitkisel materyal, nadiren taze halde kullanılır. Bitkisel materyallerin içerdikleri etkin maddelerin değişime uğraması, bozulması veya yok olmasını önlemek ve her an kullanılır bir durumda muhafaza etmek için

kurutulmaları gerekmektedir. Bu şekilde mantar ve bakterilerin de üremeleri engellenmiş olur. Kurutulmuş olan droglar, tedavi özelliklerini genellikle bir yıl muhafaza edebilmektedirler. Bu süre sonunda drogdaki etkili bileşikler bozulmaya başlamaktadır. Drogların etkilerinin en üst düzeyde olduğu bu dönemde özel şartlarda saklanmaları gerekmektedir [78].

Kurutma işlemi sırasında materyal ağırlığının ortalama % 75' lik kısmını kaybettiği için kurutma, materyalin taşınması ve depolanması yönünden de yararlıdır. Seçilecek yol kurutulacak materyalin cinsine ve taşıdığı etkili maddelerin durumuna göre yapılmalıdır. Yalnız enzimlerin en etkili olduğu sıcaklığın 35–50 °C arasında bulunduğu düşünülerek kurutma sırasında materyalin bu ısıda çok az bir süre kalmasına özellikle dikkat edilmelidir [78].

1.1.2.1 Gölgede Kurutma

Materyallerin üzeri kapalı ve yanları açık çardak, sundurma veya hangarlar içinde kurutulması yöntemidir. Burada materyal doğrudan doğruya güneşe maruz bırakılmadan, açık havada kurutulmuş olur. Materyal demetler halinde asılır veya ince bir tabaka halinde yere veya kurutma raflarına serilir. Küflenmeyi önlemek ve kurumayı çabuklaştırmak için materyal sık sık alt üst edilmelidir. Yaprak ve çiçek gibi suyunu kolaylıkla kaybeden materyaller bu yolla iyi bir şekilde kurutulabilir [78].

1.2 Uçucu Yağların Tanımı ve Özellikleri

Uçucu yağlar, bitkilerden ya da bitkisel droglardan elde edilen, oda sıcaklığında sıvı halde olan, su buharı ile sürüklenebilen, uçucu özellikte kokulu ve yağimsı karışımlardır. Açıkta bırakılınca oda ısısında bile buharlaşabildiklerinden dolayı “uçucu yağ” veya “esans” gibi isimlerle anılırlar [79, 80].

Uçucu yağlar su ile karışmayan maddeler oldukları halde, kokularının suya geçmesine yetecek oranda suda çözünürler. Etanol, eter, benzen ve petrol eteri gibi

organik çözücülerde çözünürler. Uçucu yağlar sudan hafiftirler, az bir kısmı sudan ağırdır. Optikçe aktifirler, polarize ışığı belli bir derecede sağa ve sola çevirirler ve kırılma indisleri yüksektir [81, 35].

Uçucu yağlar bitkinin herhangi bir organında bulunabildiği gibi, bazen bitkinin bütün dokularında, bazen de bulunduğu familyaya göre bir organda, salgı kanallarında, salgı ceplerinde veya hücrelerinde toplanmaktadır. Bazen Piperaceae familyasında olduğu gibi değişikliğe uğramış parankima hücrelerinde, bazen de gül' de olduğu gibi epiderma ya da parankima hücrelerinde dağılmış olarak bulunurlar. Uçucu yağın bitkide ya doğrudan doğruya protoplazmada ya da hücre çeperinin özel bir tabakasında olduğu ileri sürülmekle birlikte glikozitlerin hidrolizi yoluyla da meydana gelebildiği belirlenmiştir. Kendilerine has renk, koku, tat ve görünüme sahip uçucu yağlarda terpenik hidrokarbonlar ve bunların oksijenli türevleri yanında organik asitler (asetik asit, benzoik asit, sinamik asit), alkoller (benzil alkol, sinamik alkol, sitronellol), fenoller (karvakrol, kavitol, timol), ketonlar (kafur, karvon, pulegon), aldehitler (benzaldehit, sinamik aldehit, sitral), esterler (benzil benzoat, bornil asetat, granil asetat), fenol esterleri (anetol, öjenol,safrol) ve diğer bileşikler (indol, kumarin) bulunmaktadır. Uçucu yağların istenen koku ve tadı oksijenli bileşiklerden ileri gelmektedir. Oksijenli türevler ise terpenlerin oksitlenmesiyle meydana gelir [79, 81].

Bugüne kadar uçucu yağlarda 2000'den fazla kimyasal bileşiğin bulunduğu gösterilmiş olup, bunların büyük bir çoğunluğunu (% 90 civarı) terpenik maddeler oluşturmaktadır. Pek azı aromatik benzen türevlerinin terpenlerle karışımı halindedir [79].

Uçucu yağların bitkilerde neden olduğu bilinmemektedir. Bitkinin yaralanması esnasında oluşan reçinelerin çözünmesinin sağladığı, böceklere karşı koruyucu ve cezbedici özellik gösterdiği ve buna bağlı olarak tozlaşmaya yardımcı oldukları ve uçucu yağ taşıyan bitkilerin genellikle hayvanlar tarafından yenmediği de düşünülürse, bitkiyi koruduğu ve neslini sürdürmesine yardım edici özellikler taşıdığı söylenebilir [79].

Uçucu yağ içeren bitkiler genellikle tropik ve subtropik iklimlerde bulunur. Soğuk iklimlerde daha az sayıda aromatik bitki türü bulunmaktadır. Ayrıca uçucu yağ taşıyan bitkilerin genellikle Akdeniz ve step iklimleri gibi sıcak iklimlerde fazla yetişmesi nedeniyle uçucu yağın bitkinin üzerindeki havayı bağlayarak fazla su kaybını önlediği düşünülmektedir [79, 82].

Uçucu yağlar taze iken genellikle renksiz veya açık sarı renklidir. Ancak karanfil yağı gibi sarıdan kahverengiye veya papatya yağı gibi yeşilden maviye kadar değişik renkte olanları da vardır. Fakat uzun süre bekletilirse oksitlenebildikleri ve reçineleştikleri için renkleri koyulaşır. Bu durumda genellikle bir koku değişimi ve yağın kalitesinin azalışı söz konusu olur. Bu nedenle serin bir yerde ve koyu renkli şişelerde saklanmalıdır

Uçucu yağların kalitesini saptarken her zaman uçucu yağı oluşturan esas maddeyi analiz etmek mümkün olmaz. Zira genellikle uçucu yağdaki tek maddenin değil, toplu halde maddelerin bir fizyolojik etkisi olmaktadır. Uçucu yağların terapideki kullanım alanlarının genişlemesi ve tüketim miktarının her gün artması fiyatlarının dünya pazarında yıldan yıla artmasına neden olmaktadır. Bu artış bazılarında çok yüksek düzeydedir. Bu güne kadar araştırılan 300 bitki familyasından % 30'dan fazlasının uçucu yağ içerdikleri anlaşılmıştır. Aromatik bitkilerde uçucu yağ oranı % 0.01 ile % 20 arasında değişkenlik gösterir.

Uçucu yağları tanımak için, kesitlerde ve drog tozlarında Sudan III boyası kullanılır. Bu boya sabit ve uçucu yağlara turuncu bir renk vermektedir. Kesitler bir süre ısıtıldığında ya da sulu etanol ile yıkandığında yağ damlacıkları kayboluyorsa uçucu yağ, kaybolmuyorsa sabit yağ olarak tanımlanabilir [79].

Gaz kromatografisi son yıllarda hızla gelişen ayırma yöntemlerinden birisidir. Hareketli fazın gaz, hareketsiz fazın sıvı olduğu ve dolayısıyla partiyon mekanizmasının rol oynadığı bu yöntem, uçucu yağların yapısındaki bileşiklerin ayrılmasında başarı ile kullanılmaktadır. Gaz kromatografisinde ayırım gerçekleştikten sonra kütle spektrometresinde dedekte edilmelidir. Her bileşiğin standart şarlarda bir kütle spektrumu olduğundan, bunların tanınmaları kolaylıkla mümkün olmaktadır [34].

1.3 Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri

Uçucu yağlar bitkilerden, miktarına, ısıya dayanıklılıklarına ve bileşiklerin özelliklerine bağlı olarak değişik şekillerde elde edilir. Uçucu yağ, yağı taşıyan bitki kısımlarından, çoğunlukla distilasyon yolu ile elde edilirler. Uygulanan yöntem, bitkinin ısıya dayanıklılığı, yağın uçucu olması, suda çözünüp çözünmemesi ve distilasyon koşullarıyla bağlantılıdır [79, 83, 84].

Uçucu yağ elde edilmesinde uygulanan yöntemler başlıca üç grupta toplanabilir. Bunlar; Distilasyon, Ekstraksiyon ve Sıkma'dır.

1.3.1 Distilasyon

Distilasyon, bir karışımdaki maddeleri buharlaştırma ve yoğunlaştırma yoluyla ayırma yöntemidir. Uçucu yağlar su buharı ile sürüklenebildiklerinden elde edilmelerinde distilasyon en çok tercih edilen yöntem olmuştur.

Uçucu yağ elde edilmesinde kullanılan distilasyon teknikleri şunlardır:

- Su Distilasyonu
- Buhar Distilasyonu
- Su-Buhar Distilasyonu
- Kuru Distilasyon
- Hidrofüzyon

1.3.1.1 Su Distilasyonu

Drog su ile kaynatılır. Oluşan buhar ile sürüklenen uçucu yağ soğutucuda kondanse olur ve florentin kabına gelir. Burada yağ ve su, yoğunluk farkı esasına göre ayrılır. Uçucu yağ alındıktan sonra kalan su, ihmal edilebilir miktarda uçucu

yağ içerebilir. Su distilasyonu boyunca ester yapıdaki bazı maddeler ısı etkisiyle hidroliz olabilir. Bunu bir miktarda olsa engellemek için distilasyonu kısa sürede tamamlamak gerekir [81].

1.3.1.2 Buhar Distilasyonu

Drog delikli tava veya sepetlere yerleştirilir. Kapalı kap içerisinde gönderilen su buharı sayesinde uçucu yağ sürüklenip soğutucuda yoğunlaşır. Toplama kabında biriken su-yağ karışımı yoğunluk farkından dolayı birbirinden ayrılır [85].

1.3.1.3 Su-Buhar Distilasyonu

Sistem esas olarak su distilasyonuna çok benzer, fakat bitkisel materyalin bir ızgara üzerinde bulunması ve kaynayan su ile temas etmemesi nedeni ile su distilasyonundan ayrılmaktadır. Su kap içinde kaynatılır ve düşük basınç altındaki buhar, bitkinin arasından geçerek yağı alır ve yoğunlaşmak üzere soğutucuya taşır. Bu yöntemde buhar basıncı atmosfer basıncını, sıcaklıkta 100 °C' yi aşmaz. Su distilasyonundan daha yüksek verimde yağ elde edilebilmektedir.

1.3.1.4 Kuru Distilasyon

Bazı droglar kuru kuruya ısıtıldıkları zaman uçucu maddeler kısmen oldukları gibi kısmen de parçalanarak distile olurlar. "Pirojenasyon" adını alan bu işlem özel çelikten yapılmış imbiklerde uygulanır. Materyal odun ya da dal ise küçük parçalar halinde kazanlara doldurulur ve yüksek sıcaklıkta havasız ortamda distile edilir. Distilasyon ürünleri soğutucudan geçirilerek toplama kabında toplanır [34].

1.3.1.5 Hidrofüzyon

Bitkisel dokulardaki uçucu yağın bir kısmı yüzeyde bulunurken, bir kısmı da iç kısımlarda bulunur. Yüzeğe yakın yerlerdeki uçucu yağ buhar ile almak kolaydır. Yüzeğe yakın olmayan bölgelerdeki uçucu yağ ise ancak difüzyon işleminden sonra yüzeye ulaşır.

Hidrofüzyon işlemi endüstride normal buhar distilasyonunun aksine buharın bitkisel materyal dolu kazana üstten verilmesi ve alttan çıkan buharın yoğunlaştırılması şeklinde uygulanır. Hidrofüzyonun getirdiği bir takım avantajlar vardır:

- Özellikle kazanın yüklenmesi boşaltılması işlemleri düşünüldüğünde kullanım kolaylığına sahiptir.
- Sadece düşük basınçta ıslak buhar kullanılır.
- Distilasyon süresi kısadır, daha az buhar harcadığı için daha az masraflıdır.
- Distilasyon süresinin kısa olmasından ve riflaks olayı gerçekleşmediğinden dolayı yağın bileşikleri hidrolize uğramazlar.
- Üretilen yağın fiziksel özellikleri standart değerlere uygunluk gösterir.
- Uygulama sonucu yağ veriminin yüksek olduğu belirtilmekle beraber, suyla ekstre olan maddelerin ya da sabit yağların uçucu yağa geçmesi nedeniyle geniş bir endüstriyel kullanıma girememiştir [86].

1.3.2 Ekstraksiyon

Bitkisel ve hayvansal droglardan etken maddeyi çıkarmak için ekstraksiyon yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntemler şunlardır:

- Organik çözücü ile ekstraksiyon
- Sabit yağ ile ekstraksiyon
- Sıvılaştırılmış gazlarla ekstraksiyon

1.3.2.1 Organik Çözücü İle Ekstraksiyon

Materyal, uçucu yağı kolaylıkla çözünebilen benzen, hekzan gibi kaynama noktası düşük organik çözücülerle eritilir. Organik çözücünün alçak basınçta uçurulmasıyla bir miktar yabancı madde (sabit yağ, mum, boya maddeleri vs.) içeren uçucu yağ elde edilir ki bu karışıma “konkret” denir. Kokulu maddeleri ayırmak için konkret, etanol ile muamele edilir. Daha sonra -20 °C’ye soğutulur ve filtre edilir. Vakum distilasyonu ile alkolden ayrılır. Böylece “absolute” adı verilen, pahalı ve kullanılması kolay bir yağ elde edilmiş olur.

1.3.2.2 Sabit Yağ İle Ekstraksiyon

Uçucu yağı miktarlarının az olduğu ve diğer distilasyon yöntemlerinin uygun olmadığı durumlarda kullanılır. Materyal tabakalar halinde bir sabit yağ ile temasta bırakılır. Zamanla uçucu yağ sabit yağa geçer.

1.3.2.3 Sıvılaştırılmış Gazlarla Ekstraksiyon (Süper Kritik Gaz Ekstraksiyonu)

Gazlar yüksek basınç altında sıvı veya süperkritik evre bölgesinde çözücü özellik kazanırlar. Bu özellik, basınç ve sıcaklık değişimleri ile istenildiği gibi yönlendirilebilmektedir. Böylece sıkıştırılmış gazlar, çeşitli yöntemlerle birçok maddelerin taşıyıcı materyallerden fraksiyonlarına ayrılmasında veya madde karışımlarının rafinasyonunda kullanılabilir. Süperkritik ekstraksiyonda amonyak, etilen, toluen ve CO₂ genel olarak amaca uygunluk gösterir. Bunlar arasında en çok kullanılan CO₂’ dir. CO₂’ nin kritik noktası 73 kg/cm² basınçta, 31 °C’ dir. Ekstrenin çözücü gazdan ayrılması basıncın değişmesi ile veya tamamen buharlaştırma ile mümkündür. Geri kalan gaz sıkıştırılarak yeniden kullanılabilir. Bu üretim sisteminin kurulması yüksek maliyetli olduğundan ancak pahalı ürünlerin eldesinde kullanılmaktadır [34].

1.3.3 Sıkma

Özellikle narenciye kabukları gibi distilasyon yöntemleriyle bozulan materyaller için preslerde sıkma ya da benzeri mekanik yöntemler uygulanır. Sıkılmış kabukların su ile yıkanması sonucu ayrılan yağ-su emülsiyonunda bir kapta toplanır. Bu emülsiyon santrifüj edilerek uçucu yağ elde edilir [83].

1.4 Uçucu Yağdaki Bileşiklerin Belirlenmesi

Bir karışımdaki organik bileşiklerin gaz kromatografisi ile kolayca ayrılarak tanımlanabilir. Kütle spektrometrisi, yüksek duyarlılığı ve tarama çabukluğu ile bir gaz kromatografadan elde edilen çok az miktarda maddelerin yapısı hakkında bilgi edinmek için en uygun yoldur. İki tekniğin birleştirilmesi, doğal ve sentetik organik karışımlarda ki bileşenlerin yapı analizi için çok uygun bir yöntem oluşturur. Gaz kromatografisi ile birkaç saniyede ayrılan nanogram miktardaki bileşiklerin dahi duyarlılığı kütle spektrumları alınabilir.

Ayırma işlemi, yüzeyi geniş katı bir destek üzerindeki hareketsiz faz ile hareketli faz arasında ayrılması istenen bileşiklerin göç etme hızlarının farklı olmasından yararlanarak yapılır. Hareketsiz fazı üzerinde taşıyan katıya destek katısı, hareketsiz faza durucu faz ve hareketli faza taşıyıcı gaz denir. Kromatografide ayrılması istenen karışım, üzeri durucu fazla kaplanmış destek katısıyla doldurulmuş cam veya metal bir kolondan geçirilerek ayrılma gerçekleştirilir. Ayrılan bileşikler kolonun diğer ucundan farklı zamanlarda çıkar ve uygun bir dedektör ile tespit edilip miktarıyla orantılı olarak kaydedilir. Ayrılmanın gerçekleştiği kolondan çıkan akışkanın toplamına kolon efluenti, bunun hareketli faza ait kısmına eluent ve ayrılmış bileşene ait kısmına eluat denir.

Gaz kromatografisi kütle spektrometrisi'nde kolon girişinde bulunan enjeksiyon kısmında, ayrılacak karışım bir enjektör yardımıyla kolonun ön kısmına verilir, burası ısıtılmış durumdadır (en fazla 500 °C'ye kadar), karışım burada hemen buharlaşır ve taşıyıcı gaz tüpünden alınan taşıyıcı gaz yardımıyla kolona girer.

Kolonda her bileşik dörucu fazdan taşıyıcı faza ve taşıyıcı fazdan dörucu faza farklı hızlarla göç ederek devamlı taşınırlar ve böylece birbirinden ayrılarak farklı zamanlarda kolondan çıkarlar. Bu kolondan çıkan gaz karışımından taşıyıcı gaz “jet ayırıcı sistem” ile uzaklaştırılır. Bu sistemde kolon gazları jet ayırıcının ucundan çıkarken ağır analit molekülleri yüksek momentum kazanır ve bunların yaklaşık %50’si karşı tüpe giderken hafif olan taşıyıcı gaz atomları vakum tarafından emilir. Kolondan gelen gaz elektron bombardımanı ve kimyasal iyonlaşma ile iyonlaştırılır ve radyo frekans manyetik alanında depolanır. Tutulan iyonlar daha sonra elektron çoğaltıcı dedektöre sevk edilir. Bu sevk kütle/yük oranının taramasının yapılabilmesi için kontrollü gerçekleşir.

Kütle spektrometrik dedektörler genellikle 2 tip sinyal görüntüsü verebilirler; anında sinyal görüntüleri ve bilgisayarda yeniden biçimlendirilmiş sinyal görüntüleri. Bu sinyal görüntüleri pikler halinde bilgisayar ekranında gözlenebilir ve cihazdaki bilgi bankası aracılığıyla maddeler tanımlanabilir [87, 88].

1.5 Uçucu Yağların Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesinde Kullanılan Teknikler

Uçucu yağların patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivitesinin varlığının ve derecesinin belirlenmesinde kullanılan yöntemlerdir.

1.5.1 Disk Difüzyon (Kirby-Bauer) Yöntemi

Antimikrobiyal ajanların duyarlılığının saptanmasında günümüzde kullanılan otomatize ve yarı otomatize teknikler gibi modern işlemlerin yerine, daha önce Kirby-Bauer Tekniği kullanılmaktaydı. Bu yöntem günümüzde yalnız araştırma amacıyla ve özel amaçlarla kullanılmaktadır.

Bu yöntemde; belirli bir miktar antimikrobiyal ajan içeren kağıt diskler, test mikroorganizmasından hazırlanan standart süspansiyonun yayıldığı agar plakların yüzeyine yerleştirilir. Böylece, diskteki antimikrobiyal madde besiyeri içerisine

yayılır ve bakteriye etkili olduğu düzeylerde üremeyi engeller. Bunun sonucunda, disk çevresinde bakterilerin üremediği dairesel bir inhibisyon alanı oluşur. Bu alanın çapı ölçülerek her antimikrobiyal madde için farklı olabilen duyarlılık sınırı değerleriyle karşılaştırılır. İnhibisyon alanının büyüklüğüne göre duyarlı, orta veya dirençli şeklinde duyarlılık kategorisi belirlenir.

1.5.2 Tüp Dilüsyon Yöntemi

Bir dizi tüpe eşit miktarlarda buyyon ve belirli bir antimikrobiyal maddenin seri halde çift kat dilüsyonları konur. Her tüpe, test uygulanacak olan organizmanın standart süspansiyonundan eşit miktarda eklenir (yani organizmanın konsantrasyonu sabittir, her tüpteki antimikrobiyal madde miktarı ise değişiktir). Kontrol tüpünde antibiyotik bulunmaz. Süspansiyonlar 24 saat inkübe edilir. Antimikrobiyal madde konsantrasyonunun, inhibitör konsantrasyonunun altında olduğu tüplerde süspansiyon bulanıktır. Antimikrobiyal madde konsantrasyonu inhibitör düzeye eşit veya daha yüksek olduğu tüplerde ise buyyon berraktır. Üremeyi baskılayan en düşük madde konsantrasyonu MİK (Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu) olarak kabul edilir.

Sıvı besiyerinde sulandırma yöntemleri, tüpte uygulanıyorsa makro (tüp dilüsyon), mikrotitrasyon plaklarında, küçük hacim kullanılarak uygulanıyorsa mikrodilüsyon olarak adlandırılır [89, 90].

1.6 Lamiaceae (Labiatae) Familyasının Genel Özellikleri

Genellikle glandular ve aromatik, bir yıllık veya çok yıllık otsular, nadiren çalılar ve ağaçlar halinde bulunurlar. Gövde ve dallar dört köşeli veya değildir. Yapraklar stipulasız, basit, bazen pennat, daima opposittir. Çiçek durumu brakte veya floral yaprakların koltuğunda taşınan vertisillastrum şeklindedir. Vertisillastrumlar spika, baş, rasemus veya simoz durumlar şeklinde düzenlenebilir. Çiçekler hermafrodit veya erkek steril (dişi foksiyonel) 'dir. Brakteler yapraklara

çok benzer veya belirgin şekilde farklılaşmıştır. Brakteoller, mevcut veya eksiktir. Kaliks, üst lop 3 dişli, alt lop 2 dişli olmak üzere genellikle 5 lopludur. Kaliks nadiren aktinimorf, loplar ya da 1 ve 1 veya 1 ve 4 şeklinde dişli olabilir. 5–20 arasında damarlar mevcuttur. Korolla gamopetal, zigomorfik veya bilabiata, tüpsü, genellikle üst dudak belirsiz 2 loplulu, dik ya da falkat, az çok konkav, alt dudak 3 loplulu, nadiren üst dudak indirgenmiş ve alt dudak 5 loplulu, ya da üstte 1 veya altta 4 loplulu ya da korolla aktinomorfiktir. Stamenler, korollaya bağlı, 4 ve didiman ya da 2, üstteki çift genellikle alttaki çiftten kısa, anter tekaları 2 ya da 1 gözlü, paralel ya da divergent, nadiren konnektiflerin uzaması ile birbirinden ayrılmıştır. Pistil, 1 tane, ovaryum üst durumlu, 4 loplulu, 2 karpelli ve ovüllü, anotrop, plasentasyon bazal ve eksenseldir. Stilüs ginobazik, nadiren değil, tepede bifiddir. Meyve 4 nukta ayrılan (nadiren daha az) bir şizokarpıdır. Angiospermae subdivisio'sunun altıncı büyük familyası olan lamiaceae üyeleri içerdiği uçucu ve aromatik yağlardan dolayı, parfümeri ve farmakolojide kullanıldıklarından, ekonomik ve tıbbi öneme sahiptirler. Bu nedenle birçok türleri kültüre alınmaktadır. Ülkemizde 45 cinsi ve 546'dan fazla türü bulunmaktadır [36].

1.7 *Origanum* L. Cinsinin Morfolojik Özellikleri

Yarı çalimsı veya otsu, çok yıllık tüylü veya tüysüz bitkilerdir. Gövde çok sayıda, yükselici veya dik, çok dallıdır. Yapraklar saplı veya yarı saplı, eliptik, kordat veya suborbicular, tam veya dişlidir, tepe obtus'tan akuminat'a kadar değişkenlik gösterir. Vertisillatlar 2 veya daha çok çiçekli, \pm spika şeklindeki çiçek düzeninde toplanmıştır. Spiküller yalancı korimbus ya da panikuladır. Brakteler genellikle şekil ve büyüklük olarak yapraklardan farklıdır ya da renk ve tekstür olarak yapraklara benzerler. Genellikle imbrikat dizilişli, boyları kaliks'in 1/2–3 'ü kadar, ya zarsı, kısmen mor, ya da sarısı-yeşil renklidir. Çiçekler hermafrodit veya ginodioiktir. Kaliks değişken, az çok aktinomorf, 5 dişli ya da zigomorf, 1–2 dudaklı, 13 veya yaklaşık 10 damarlı, boğazı genellikle tüylüdür. Korolla mor, pembe veya beyaz renkli, eşit 2 dudaklı, korolla tüpü bazen sakkat veya yassılaştırmıştır. Üst dudaklar emerginat veya kısa 2 loplulu; alt dudaklar 3 lopludur. Stamenler 4, korollaya alttan bağlanan çiftin boyu daha uzun ve genellikle üst dudaktan taşmıştır. Filamentler eşit veya değil, tekalar karşılıklıdır. Nukletler

küçük, ovoid, kahverengidir. Ginodioiklik bu cinsin bazı seksiyonlarında çok yaygındır [36, 37].

1.8 Türkiye’de Yetişen *Origanum* Türleri ve Yayılış Alanları

Ülkemizde yetişen *Origanum* cinsinin 22 türü kayıtlıdır. Bu türler ve ait oldukları seksiyonlar liste halinde aşağıda verilmiştir. Bunlardan endemik olanlar (*) ile belirtilmiştir [36, 57].

Seksiyon: **Amaracus** (Gleditsch) Benth

- *1. *O. boissieri* Ietswaart (Güney Anadolu)
- *2. *O. saccatum* Davis (Güney Anadolu)
- *3. *O. solymicum* Davis (Güneybatı Anadolu)

Seksiyon: **Anatolicon** Benth

- *4. *O. hypericifolium* Schwartz et Davis (Güneybatı Anadolu)
- *5. *O. sipyleum* L. (Batı, Orta ve Güney Anadolu)

Seksiyon: **Brevifilamentum** Ietswaart

- *6. *O. acutidens* (Hand.-Mazz.) Ietswaart (Doğu Anadolu)
- 7. *O. bargyli* Mouterde (Güney Anadolu)
- *8. *O. brevidens* (Bornm.) Dinsmore (Güney Anadolu)
- *9. *O. haussknechtii* Boiss. (Doğu Anadolu)
- *10. *O. leptocladum* Boiss. (Güney Anadolu)
- 11. *O. rotundifolium* Boiss. (Kuzeydoğu Anadolu)
- *12. *O. munzureense* Kit Tan et Sorger (Doğu Anadolu)
- *13. *O. husnucan-baseri* H.Duman, Z.Aytaç et A.Duran (Güney Anadolu)

Seksiyon: **Longitubus** Ietswaart

- *14. *O. amanum* Post (Güney Anadolu)

Seksiyon Chilocalyx (Briq.) Ietswaart

- *15. *O. bilgeri* Davis (Güney Anadolu)
- *16. *O. micranthum* Vogel (Güney Anadolu)
- *17. *O. minutiflorum* Schwartz et Davis (Güneybatı Anadolu)

Seksiyon: Majorana (Miller) Benth.

- 18. *O. majorana* L. [Syn. : *O. dubium* Boiss.] (Güney Anadolu)
- 19. *O. onites* L. [Syn. : *O. smyrnaeum* L.] (Batı ve Güney Anadolu, Adalar)
- 20. *O. syriacum* var. *bevanii* (Holmes) Ietswaart [Syn. : *O. bevani* Holmes] (Güney Anadolu)

Seksiyon: Origanum L.

- 21. *O. vulgare* L. subsp. *vulgare* [Syn. : *O. creticum* L.] (Kuzey Anadolu)
- 22. *O. vulgare* L. subsp. *gracile* (Koch) Ietswaart [Syn. : *O. tyttanthum* Gontsch.] (Doğu Anadolu)
- 23. *O. vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link) Ietswaart [Syn. : *O. heracleoticum* L.] (Trakya, Batı ve Güney Anadolu, Adalar)
- 24. *O. vulgare* L. subsp. *viride* (Boiss.) Hayek [Syn. : *O. heracleoticum* L.] (Kuzey, Orta, Batı ve Güney Anadolu)

Seksiyon: Prolaticorolla Ietswaart

- *25. *O. laevigatum* Boiss. (Güney Anadolu)

Hibritler

- *26. *O. x dolichosiphon* P.H.Davis [*O. amanum* Post x *O. laevigatum* Boiss.]
- *27. *O. x intermedium* P.H.Davis [*O. sipyleum* L. x *O. onites* L.]
- *28. *O. x symeonis* Mousterde [*O. syriacum* L. x *O. laevigatum* Boiss.]
- 29. *O. x intercedens* Rech. fil. [*O. vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link) Ietswaart x *O. onites* L.]
- *30. *O. x vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link) Ietswaart x *O. micranthum* Vogel
- *31. *O. x adanense* Baser et Duman [*O. laevigatum* Boiss. x *O. bargyli* Mousterde]

32. *O. x majoricum* Cambess [*O. vulgare* L. subsp. *virens* (Hoffm. et Link)
Ietswaart x *O. majorana* L.]

**1.9 Türkiye Florasında kayıtlı *Origanum* L. Türlerinin Teşhis Anahtarı
[35, 36,]**

1. Kaliks \pm 5 dişli.

2. Korolla 8–16 mm, 2 dudaklı, dudaklar korollanın 1/6'sına kadar, stamenler korollanın \pm içinde, filamentler yaklaşık korollanın 1/4 'ü kadar.

24. *laevigatum*

3. Korolla 3–10 mm, 2 dudaklı, dudaklar korollanın 1/3 'ü kadar, stamenler korolladan biraz çıkmış, filamentler yaklaşık korollanın 1/2 'si kadar.

23. *vulgare*

a. Yapraklar ve kaliks genellikle belirgin olarak salgı noktalı; gövde ve yapraklar sık hirsut, çok az puberulent ya da tüysüz; brakte genellikle yeşil; korolla genellikle beyaz.

b. Gövde çoğunlukla sık hirsut; yapraklar sık salgı noktalı; glaukous değil; yapraklar, brakteler ve kaliks \pm hirsut; çiçek düzeni, çoğunlukla yoğun; dallar ve spiküller zayıf değil.

subsp. *hirtum*

b. Gövde çok azı puberulent ya da glabresent; yapraklar salgı noktalı, \pm glaukous; yapraklar, brakteler ve kaliks glabresent ya da çok az puberulent; çiçek düzeni çoğunlukla seyrek; dallar ve spiküller çoğunlukla zayıf.

subsp. *greacile*

a. Yapraklar ve kaliks belirgin salgı noktalı değil; gövde basık pilos; yapraklar pilos ya da glabresent; brakteler mor ya da yeşil; korolla pembe veya beyaz.

c. Brakteler kısmen mor, genellikle glabresent; korolla pembe.

subsp. *vulgare*

c. Brakteler yeşil, nadiren pembe, çoğunlukla puberulent; korolla beyaz, nadiren pembemsi-beyaz.

subsp. *viride*

1. Kaliks 1 veya 2 dudaklı;

3. Kaliks 1.5–3.5 mm; brakteler 1-5 mm, otsu, yeşil, tüylü.

4. Kalikte altta dudak yok, dudak kaliks'in yaklaşık 9/10'u kadar, brakteye benzer, üst dudak ± tam kenarlı.

5. Spiküller korimbus durumda dizilmiş, düzenli yapraklar genellikle serrulat.

20. *onites*

6. Spiküller panikulat çiçek durumunda, düzenli yapraklar genellikle tam kenarlı.

7. Gövdeler ve yapraklar seyrekçe tomentos(tüyler yaklaşık 0.3 mm' ye yakın) tüylü, yapraklar obtus, damarlar altta belirgin değil.

19. *majorana*

6. Gövdeler ve yapraklar hirsut-tomentos (tüyler yaklaşık 1mm); yapraklar ± akut, damarlar genellikle alttan belirgin.

21. *syriacum* var.

bevanii

4. Kalikte alt dudaklar mevcut, kaliks 1 veya 2 dudaklı, dudaklar kaliksin 1/5–2/5 'i kadar, tüpsü; üst dudaklar genellikle 3 dişli, alt dudaklar 2 küçük dişli veya loblu.

7. Yapraklar 2–14 x 1,5–12 mm, yoğun tomentos, kümeleşmiş; korolla pembe.

17. *micranthum*

7. Yapraklar 3–23 x 1–20 mm, seyrek tüylü, kümeleşme yok korolla beyaz.

8. Gövde ve yapraklar seyrek tomentos veya \pm tüylü; brakteler 2–4 x 1–3 mm; korolla 3–6 mm.

16. bilgerii

8. Gövde ve yapraklar \pm pilos; brakteler 1–3 x 0.5–1.5 mm, korolla 2.5–4 mm.

18. minutiflorum

3. Kaliks 4–12 mm, brakteler 4–25 mm, zarımsı, kısmen mor veya sarımsı-yeşil, genellikle \pm tüysüz.

9. Bütün filamentler yaklaşık 0.5 mm, korolla 15–40 mm.

15. amanum

10. Üst stamenlerin filamentleri 5–13 mm, alt stamenlerden birisi hafif uzun; stamenlerin dördü de korolladan dışarı taşmış.

11. Korolla 7–11 mm; sakat değil; kaliks 2 dudaklı, dişler kaliksin 1/5–2/5 'i kadar, alt ve üst dudakların dişleri farklıdır.

12. Yapraklar yoğun sapsız salgı tüylü; dallar 3 cm, basit; brakteler ve alt dudak dişleri genellikle akuminat.

5. hypericifolium

12. Yapraklarda sapsız salgı tüyü az; dallar 35 cm kadar, genellikle dallı; kaliksin alt dudağının dişleri ve brakteler genellikle obtus.

6. sipyleum

11. Korolla 10–15 mm, sakkat. Kaliks 1 veya 2 dudaklı, dudaklar kaliksin 2/5–3/5'i kadardır. Kaliksin üst ve/veya alt dudaklarının dişleri genellikle indirgenmiş veya yok.

13. Çiçekli gövdeler 80 cm'ye kadar; olgunlaşmış gövde ve yapraklar \pm tüysüz.

14. Kaliksin üst dudakları 3 geniş üçgen dişli; korolla hafif sakkat.

4. *solymicum*

13. Çiçekli gövdeler 40 cm'ye kadar; olgunlaşmış gövde ve yapraklar hirsut veya sublenat.

15. Kaliksin üst dudakları yarı düz; alt dudak yok veya 2 çok küçük loblu.

2. *calcaratum*

15. Kaliksin üst dudakları 3 dişli; alt dudak \pm 2 genişçe üçgen dişli.

1. *boissieri*

10. Üst stamenlerin filamentleri 1–2 mm, hemen hemen korollanın içinde, alt stamenler, üst stamenlerin yaklaşık 3 katı ve çok az korolladan taşmış.

16. Brakteler sarımsı-yeşil; korolla beyaz veya uçuk pembe.

17. Gövdeler hemen hemen hirsut; yapraklar genellikle dairesel, belirgin damarlı ve birkaç sapsız salgılı.

7. *rotundifolium*

17. Gövdeler hemen hemen tüysüz; yapraklar genellikle ovat, belirsiz damarlı ve birçok sapsız salgılı.

18. Brakteler 7–22 x 6–20 mm; korolla 10–16 mm,

8. *acutidens*

18. Brakteler 7.5–8 x 4.2–7 mm; korolla 9 mm'ye kadar.

9. *munzurensis*

16. Brakteler kısmen mor; korolla pembe.

19. Brakteler 5–8 x 1–3 mm; spiküller 8–45 x 4–8 mm.

14. leptocladum

19. Brakteler 5–17 x 3–13 mm; spiküller 10–45 x 9–25 mm.

20. Kaliksin üst dudagının dişleri obtus, ± ovat, alt stamenlerin filamentleri 9 mm.

10. haussknechtii

21. Gövde ve yapraklar hirtellos veya skabrid; kaliksin üst dudak dişleri üçgen.

11. bargyli

21. Gövde ve yapraklar tüysüz; kaliksin üst dudaklarının dişleri geniş üç köşeli.

22. Yapraklar 14 x 16 mm; brakte 6 x 10mm, çiçekler ± sapsız.

12. brevidens

22. Yapraklar 10 x 10 mm'ye kadar; brakte 3 x 6 mm'ye kadar; çiçekler 0.5–2.5 mm.

baserii

13. husnucan-

1.10. *Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link) Ietswaart' un Genel Özellikleri

Bitki odunsu, çok yıllık, gövde dik, 100 cm'ye kadar yükselir. Genellikle yumuşak tüylü, tüyler yaklaşık 1 mm'dir. Dallar gövdede 10 çifte kadar, 1.5 cm uzunluktadır. Yapraklar gövdede 35 çifte kadar, yoğun yumuşak kılsı (tüyler yaklaşık 0,5 mm) sapsız salgı tüyleri belirgin, cm² 'de 2000 kadar, kenarlar tam veya hafif dişli, yaprak sapı 12 cm' ye kadar. Spika ovoid, bazen silindirik, 6 (3–35) mm uzunlukta, 4 (3–6) mm eninde, brakte, spika başına 5 (2–25) çift, obovat veya oval, 3 (1.5–5) mm uzunlukta, 1.5 (1–3) mm eninde, az çok otsu, genellikle yumuşak kılsı, bazen tüysüz yeşil, bazen hafif mordur. Kaliks 2.5 (2–3.5) mm uzunlukta, korolla 6

(3–7.5) mm uzunlukta, beyaz nadiren hafifçe pembe, stamen sapı en çok 4–5 mm uzunluktadır. Çiçeklenme zamanı; Mayıs-Ekim

Origanum vulgare ssp. *hirtum*'u sadece morfolojik olarak diğer türlerden ayırt etmek oldukça güçtür. Araştırma bitkisinin sabit olan özelliği onun uçucu yağ bileşimidir [36, 37].



Şekil.1.3 *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* (Link) Ietswaart (kültür formu)

2. MATERYAL VE METOT

2.1 Materyal

2.1.1 Bitki Materyali ve Yağların İzolasyonu

Araştırmada kullanılan *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* (Link) Ietswaart türüne ait 20 doğal bitki örneği Marmara Bölgesi'ndeki, Çanakkale (Çan, Bayramiç, Gökçeada, Yenice, Lapseki), Balıkesir (Sındırgı, İvrindi, Edremit, Gönen, Erdek, Bandırma), Bursa (Mudanya, İznik) ve Yalova illerinden toplanmıştır. Yine aynı lokalitelere ait örnekler Yalova Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü'nde kültüre alınmış, çalışma materyali olarak 20 kültür formu elde edilmiştir. Doğal ve kültür bitki örneklerinin toprak üstü kısımları Clevenger aparatı kullanılarak 3 saat süreyle hidrodistilasyona tabi tutulmuş, uçucu yağları izole edilmiştir. Kullanılan bitki örneklerinin toplanma yerleri, uçucu yağ verimleri ve bileşenleri Tablo 2.1 ve Tablo 2.2' de verilmiştir.

Tablo 2.1. Doğal *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* L. Örneklerinin Toplanma Yerleri, Uçucu Yağ Verimleri ve Ana Bileşenleri

Bitki No	Uçucu No	Yağ	Lokalite	Uçucu Verimi (%)	Yağ karvaktrol	timol	linalol	γ -terpinen	<i>p</i> -simen
101	E801A		Yalova	3.9	70.9	3.4	0.1	0.9	13.0
202A	E801R		Çan / Çanakkale	4.5	80.9	1.4	0.1	0.8	9.2
202B	E801S		Çan / Çanakkale	4.5	80.9	1.8	0.1	0.7	7.8
203B	E801U		Bayramiç / Çanakkale	4.3	74.4	2.0	0.1	1.3	13.2
203C	E801V		Bayramiç / Çanakkale	5.1	82.9	1.2	0.1	0.1	8.8
205C	E801X		Bayramiç / Çanakkale	4.2	74.2	1.2	0.03	4.9	10.4
206	E840A		Bayramiç / Çanakkale	4.4	45.5	4.6	0.1	7.2	31.1
208A	E840C		Gökçeada / Çanakkale	4.4	31.9	48.1	0.03	3.6	8.0
211	E840G		Gökçeada / Çanakkale	3.8	75.7	1.8	0.1	0.9	13.4
212	E840H		Yenice / Çanakkale	3.0	73.2	5.0	0.1	eser	12.1
306	E840N		Sındırgı / Balıkesir	4.3	7.5	60.1	0.1	2.9	17.8
309	E840R		İvrindi / Balıkesir	4.1	8.7	57.8	0.1	7.8	15.3
311	E840T		Edremit / Balıkesir	4.1	60.2	5.5	0.1	3.5	21.1
313	E840V		Gönen / Balıkesir	4.0	68.8	1.9	0.1	0.2	20.4
315	E840Z		Erdek / Balıkesir	4.0	68.9	1.4	0.1	-	20.5
316	E840W		Bandırma / Balıkesir	4.7	73.4	2.0	0.1	0.3	14.6
407	E841D		Mudanya / Bursa	3.1	70.4	6.1	0.1	0.1	13.1
407A	E841E		Mudanya / Bursa	3.1	53.9	0.7	0.04	2.8	28.1
419	E841K		İznik / Bursa	3.7	78.3	0.3	0.2	0.5	10.0
213	E841M		Lapseki / Çanakkale	6.1	29.1	52.3	eser	4.7	6.4

Tablo 2.2. *Kültür Origanum vulgare* subsp. *hirtum* L. Örneklerinin Toplanma Yerleri, Üçücu Yağ Verimleri ve Ana Bileşenleri

Birki No	Üçücu Yağ No	Lokalite	Üçücu Yağ Verimi (%)	karvakrol	timol	linalol	γ -terpinen	<i>p</i> -simen
101	E857A	Yalova	4,3	78.7	0.3	0.2	5.5	5.0
202A	E857P	Çan / Çanakkale	5.7	81.0	0.6	0.2	3.3	6.7
202B	E857R	Çan / Çanakkale	3.0	72.3	0.6	0.3	6.4	10.7
203B	E857T	Bayramiç / Çanakkale	4.0	77.3	6.8	0.1	4.9	4.4
203C	E857U	Bayramiç / Çanakkale	5.1	85.2	0.5	-	3.6	4.7
205C	E857Z	Bayramiç / Çanakkale	4.5	53.2	2.7	0.1	9.6	22.1
206	E857X	Bayramiç / Çanakkale	5.5	39.1	8.0	0.1	19.5	17.5
208A	E858B	Gökçeada / Çanakkale	5.4	15.9	42.3	eser	12.0	16.7
211	E858F	Gökçeada / Çanakkale	5.4	88.6	0.7	0.1	1.7	2.8
212	E858G	Yenice / Çanakkale	4.9	69.6	8.3	0.1	6.8	6.3
306	E858N	Sındırgı / Balıkesir	4.6	8.7	68.0	0.1	6.2	6.0
309	E858S	İvrindi / Balıkesir	4.2	5.3	67.7	0.1	8.0	8.8
311	E858U	Edremit / Balıkesir	4.9	60.3	18.4	0.1	6.6	6.6
313	E858W	Gönen / Balıkesir	4.6	84.0	1.3	0.1	3.5	4.6
315	E858Z	Erdek / Balıkesir	4.0	85.4	1.1	0.1	3.0	3.6
316	E858X	Bandırma / Balıkesir	3.7	76.0	5.4	0.1	3.6	5.6
407	E859F	Mudanya / Bursa	4.2	70.0	1.5	eser	12.9	5.5
407A	E859G	Mudanya / Bursa	3.2	66.0	0.6	0.1	3.9	16.5
419	E859N	İznik / Bursa	4.4	79.2	0.4	0.1	5.3	5.2
213	E859R	Lapseki / Çanakkale	5.0	14.2	36.6	0.1	4.8	31.6

2.1.2 Antimikrobiyal Aktivite Testlerinde Kullanılan Mikroorganizmalar ve Özellikleri

Çalışmada, maya formundaki insan patojeni *Candida albicans* (klinik izolat), *Escherichia coli* ATCC 25292, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterobacter aerogenes* NRRL 3567, *Proteus vulgaris* NRRL 123 bakterileri ve *Aspergillus flavus*, *Penicillium expansum*, *Aspergillus niger*, *Alternaria brassicola* mikrofungusları kullanılmıştır. Saprofitik mikrofunguslar, bölümümüzde topraktan izole edilmiştir. Tüm mikroorganizma stokları Balıkesir Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesin Biyoloji Bölümünde saklanmaktadır.

***Escherichia coli*:** 2–6 µm boyunda, 1.0–1.5 µm eninde, düz, uçları yuvarlak, çomakçık şeklinde, gram-negatif bakterilerdir. Buyyon ve jelöz gibi besiyerlerinde kolayca ürerler. Fakültatif anaerop olup, optimum üreme sıcaklığı 37 °C'dir. Memelilerin ve kuşların bağırsak konağıdır. Aslında normal bağırsak florasında bulunur ve burada diğer flora bakterileri ve organizma ile bir denge halinde kaldığı sürece hastalık yapmaz. Normal koşullarda kokuşma (putrifikasyon), mayalaşma (fermantasyon) dengesinin düzenlenmesine ve beslenme ile ilgili bazı hususlara yardımcı olur. Normal bağırsak florasında bulunan *E. coli* herhangi bir nedenle buldukları yerin dışına, başka dokulara geçme olanağı buldukları takdirde önemli enfeksiyonların oluşmasına neden olabilirler. Ampisilin, tetrasiklinler, kloramfenikol, sefalosporinler ve amigoglikozitler'in *E. coli* üzerine değişik etkileri vardır [91].

***Staphylococcus aureus*:** Küçük, yuvarlak, oval şekilli, gram-pozitif koklardır. Bilinen basit besiyerlerinde ve optimum 37 °C 'de üreyebilir. Fakültatif anaerop türlerdendir. Doğada oldukça yaygındır; tozda, toprakta, eşya üzerinde, insan ve hayvan derisinde, burun mukozasında, ağız ve nazofarinks floralarında bulunur. İnsan ve diğer sıcakkanlı hayvanlarda geniş çapta besin zehirlenmesine yol açarlar. Deri-mukoza lokalizasyonları, sepsisler, sistem ve organ enfeksiyonları, besin zehirlenmeleri stafilokokların oluşturduğu belli başlı enfeksiyonlardır. *S. aureus* bakterilerinin günümüz için en önemli yönleri, kullanılmakta olan

kemoterapik ajanların birçoğuna hızla dayanıklılık kazanmaları ve bu nedenle ekseriye oranla enfeksiyonlarına daha sık rastlanmasıdır [91].

Pseudomonas aeruginosa: 2–4 µm uzunluğunda, iri, bir veya birden fazla polar konumlu kirpiğe sahip, gram-negatif, çomak şekilli bir bakteridir. Çok az miktarda besin maddesi içeren nemli ortamlarda aerob üreyebilen non-fermentatif bir bakteridir. Üreme sıcaklığı optimum 37 °C'dir. Doğada oldukça yaygındır. İnsan ve hayvan bağırsağında bulunmaktadır. *P. aeruginosa* fırsatçı patojen bir bakteri olarak; yanık ve yara enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, menenjitler, göz enfeksiyonları, septisemi, bronşit ve bronkopnömoni gibi çeşitli hastalıklara yol açar [91].

Enterobacter aerogenes: Enterobacter cinsindeki bakteriler toprak ve sularda bulunan düzgün gram-negatif çomakçıklardır. İnsan ve hayvan bağırsak florasında bulunabilir. Fırsatçı patojen özellik göstererek tehlikeye açık yeni doğan ve prematüre çocuklarda, bağışıklık sistemi zayıf veya baskılanmış hastalarda, başta idrar yolları, üst solunum yolları, yara ve yanık enfeksiyonları, menenjit olmak üzere çeşitli hastalıklar oluştururlar. Son zamanlarda *Enterobacter*'lerin giderek artan oranlarda hastane enfeksiyonları yaptıkları bildirilmektedir. *Enterobacter*'ler ampisilin ve sefalosporinler' lere dirençli, karbenisilin ve sefotaksim gibi antibiyotiklere karşı nisbeten duyarlıdır [91].

Proteus vulgaris: Bu gruptaki bakteriler gram-negatif, sporsuz, kapsülsüz, çok hareketli ve bağırsak bakterilerinin genel karakterlerini gösteren bakterilerdir. *Proteus* insan dışkıusunda, lağım sularında, kokuşmuş proteinli yiyeceklerde yaygın olarak bulunur. Hastane ortamında gelişen çeşitli enfeksiyonlar meydana getirir. Ağır ve parçalanmış yaralarda bulunmaları hem enfeksiyonu ağırlaştırır hem de tetanoz ve gazlı gangren etkenlerinin üremesini kolaylaştırarak bunların enfeksiyonlarının gelişmesine yol açar. Özellikle yeni doğan çocuklarda göbek kordonu enfeksiyonundan kaynak bulan sepsis ve menenjitler bazen epidemiler halinde görülebilir. Neomisin, kanamisin ve gentamisin'e karşı genellikle duyarlıdır [91].

Candida albicans: Fırsatçı ve patojen bir tür mayadır. Kandidoz denen bir enfeksiyona yol açarlar. Enfeksiyon odağı genellikle üst ya da alt solunum sistemidir. Bu odaktan kan veya lenf yoluyla yayılan etken, ulaştığı başka etkenleri tutar. *Candida* lar, insan ve hayvan mukozalarında kommensal olarak bulunur. *Candida* mukozaları, çoğunlukla direnci zayıflamış, özellikle hücresel bağışıklık sistemi tahrip olmuş hastalarda görülür. Tedavi amacıyla Nistatin kullanılır [91, 92].

Aspergillus flavus: Czapek Dox Agar besiyerinde koloniler 10 günde hızla gelişerek 6-7cm çapına ulaşmaktadır. Genellikle ince fakat sıkı yapılı bir misel keçesi oluşturmakta, çoğunlukla düz ancak bazı ırklarında ise radyal olarak oluklu ya da beyin kıvrımlıdır. Çoğu ırklarında bol miktarda konidi yapıları gelişir. Genç konidi başları genellikle sarı tonlardadır fakat hızlı bir biçimde parlak koyu sarı-yeşil tonlara kaymaktadır. Koloni altı genellikle renksiz-pembemsi esmer renktedir. Konidiyoforlar kalın çeperli, renksiz, kaba şekilde pürüzlü genellikle 1mm'den kısadır. Vesiküller gençken uzamış, daha sonraları ise subgloboz veya globoz olmaktadır. Sterigma tek veya iki seri halinde, aynı ırkta veya tek bir vesikülde her iki durumda görülebilmektedir. Çoğunlukla konidiler olgunlaştıklarında globoz veya subgloboz, belirgin şekilde pürüzlü veya düz çeperli, büyüklükleri ırklar arasında değişkendir [93].

Penicillium expansum: Hifler bölmeli, dar, genellikle 2-3µm eninde, renksiz veya parlak renkli, düzensiz dallanmakta ve yoğun kompakt miselyum oluşturmaktadır. Konidi kenarları genellikle çok belirgindir. Konidiyoforlar farklılaşmamış yüzey altı veya havayı hiflerden gelişmektedir. Saplar nispeten dar ve ince çeperli, genellikle 1-2 bölmeli, bazı türlerde apikal olarak şişkin ancak vesiküller daima 10 µm 'den küçük çapta, karakteristik şekilde penisillat dallanmıştır ve "penisillus" denilen yapılar gelişmektedir. Fiyalidler terminal ve kompakt vertisiller halinde, nispeten kısadır. Konidiler bazipetal olarak gelişmekte, genellikle uzun zincirler halinde, tek hücreli, çok küçük, küresel, elipsoid, priform veya apikulat nadiren silindirik kitle halinde gri-yeşil, gri-mavi veya gri nadir olarak kahverengidir [94].

Aspergillus niger: Czapek Dox Agar besiyerinde koloniler yavaş gelişmekte, 10–15 günde oda sıcaklığında 2.5–3.0cm çapına ulaşmaktadır. Oldukça gevşek-kompakt beyaz-hafif sarı bazal miselyum ve bol miktarda dik ve genellikle yığınlar halinde toplanmış konidi yapıları vardır. Tipik olarak karbon siyahına yakın renkte veya bazen koyu kahverengimsi siyah renktedir ve koloni yüzeyini dar bir kenar hariç tamamen kaplamaktadır. Koloni altı genellikle renksiz, bazen merkezde soluk sarıdır. Konidi başları tipik olarak büyük ve siyah, önce globoz, daha sonra radyat veya yaşlandığında iki veya daha fazla gevşek-iyi belirlenmiş sütun halinde yarılmaktadır. Konidiyoforlar değişken uzunlukta, çeper düz, nispeten kalın, renksiz ve özellikle üst kısımda kahverengimsi tonlardadır. Vesiküller globoz veya globoza yakındır. Sterigmalar iki seri halindedir [93].

Alternaria brassicola: Koloni koyu kahverengi-siyahımsı ve kadifemsidir. Hifler dallı, önceleri şeffaf, sonra kahverengimsidir. Konidiyoforlar tek veya 2-12' lik gruplar halinde, genellikle basit, dik düz veya dalgalı, bazen genikulat, az veya çok silindirik, tabanda hafifçe şişkin, bölmeli, soluk veya orta derecede zeytinimsi kahverengidir. Konidiler genellikle 20 konidilik zincirler halinde, bazen dallı, konidiyofor çeperimdeki küçük deliklerden çıkmaktadır. Konidiler düz çeperli silindirik, genellikle uca doğru sivrilmekte veya obklavat, taban hücresi yuvarlak hale gelmiş, gaga hemen hemen yok gibidir. Apikal hücre az veya çok dikdörtgen şeklinde veya turunkat bir kozalağa benzemektedir. Konidiler 1–11 arası fakat genellikle 6' dan az enine bölmeli ve genellikle bölmelerin olduğu yerlerde büzülmeler görülmekte, soluk veya orta derecede yeşilimsi renkte, düz çeperli veya yaşlılıkta hafifçe siğilli hale gelmektedir [93].

2.1.3 Antimikrobiyal Aktivite Testlerinde Kullanılan Besiyerleri ve Standartlar

Mueller Hinton Broth (Merck)

Çift Kuvvet

Et Ekstresi.....4 gr

Kazein Hidrolizatı.....35 gr

Nişasta.....	3 gr
Distile Su.....	1000ml

121 °C' de 20 dk otoklavlanarak steril edilmiş ve 10' ar ml steril tüplere dağıtılmıştır.

Mueller Hinton Agar (Merck)

Et Ekstresi.....	5gr
Agar.....	12 gr
Kazein Hidrolizatı.....	17.5 gr
Nişasta.....	1.5 gr
Distile Su.....	1000 ml

121 °C'de 20 dk otoklavlanarak steril edilmiş ve 15' er ml 90 mm çapındaki steril petri kaplarına dklmştır.

Malt Ekstrakt Agar (Samson ve Pitt, 1985)

Malt Ekstrakt Toz.....	20 gr
Pepton.....	1 gr
Glukoz.....	20 gr
Agar.....	15 gr
Distile Su.....	1000 ml

121 °C'de 20 dk otoklavlanarak steril edilmiş ve 15' er ml 90 mm çapındaki steril petri kaplarına dklmştır.

Czapex Dox Agar (Merck)

Sodyum Nitrat (NaNO ₃).....	2 gr
Potasyum Hidrojen Fosfat (K ₂ HPO ₄).....	1 gr
Magnezyum Sülfat (MgSO ₄ . 7H ₂ O).....	0.5 gr
Potasyum Klorür (KCl).....	0.5 gr
Demir Sülfat (FeSO ₄).....	0.01 gr
Sükroz.....	30 gr
Agar.....	20 gr
Distile Su.....	1000 ml

121 °C’de 20 dk otoklavlanarak steril edilmiş ve 15’ er ml 90 mm çapındaki steril petri kaplarına dökülmüştür.

Sabouraud Dextrose Broth (Merck)

Bacto Pepton.....10 gr

Bacto Dekstroz.....40 gr

Distile Su.....1000 ml

121 °C’de 20 dk otoklavlanarak steril edilmiş ve 10’ ar ml steril tüplere dağıtılmıştır

McFarland No:0.5 Bulanıklık Standardı

BaCl₂ (%1.175).....0.5 ml

H₂SO₄ (0.36N).....99.5 ml

BaCl₂ ve H₂SO₄ karıştırılarak 15 ml’ lik kapaklı tüplere dağıtılır. Kapağı parafilm ile sıkıca kapatılan tüp, karanlıkta oda sıcaklığında saklanır.

2.2 Metot

2.2.1 Uçucu Yağların Bileşenlerinin Belirlenmesi

2.2.1.1 Gaz Kromatografisi (GC)

Uçucu yağ içinde bulunan bileşikler aşağıda belirtilen şartlarda gaz kromatografisi kolonunda tutunma sürelerine (Rt) göre ayrılarak relatif oranlarına göre değerlendirilmiştir.

Analiz koşulları

Sistem	:	Shimadzu GC-9A
Kolon	:	Thermon 600 (50 m x 0.25 mm i.d.)
Dedektör	:	FID
Taşıyıcı Gaz	:	Nitrojen (1 ml/dk)

Split Oranı	:	60: 1
Sıcaklıklar		
Kolon	:	70 °C–10 dk // 2 °C/dk//180 °C–30 dk
Enjeksiyon	:	250 °C
Dedektör	:	250 °C

2.2.1.2 Gaz Kromatografisi / Kütle Spektrometresi (GC/MS)

Uçucu yağ içindeki bileşenler, gaz kromatografisi kolonunda ayrıldıktan sonra dedektör görevi gören kütle spektrometresinde her birinin tek tek spektrumları alınmıştır.

Analiz Koşulları

Sistem	:	Shimadzu GC-MS QP5050A
Kolon	:	CP Sil 5CB (25 m x 0.25 mm <i>i.d.</i>)
Sıcaklık Programı	:	60 °C // 5 °C / dk // 260 °C–40 dk
Enjektör	:	250 °C
Taşıyıcı Gaz	:	Helyum (1 ml/dk)
Split Oranı	:	50: 1
Elektron Enerjisi	:	70 eV
Kütle Aralığı	:	<i>m/z</i> 30–425
Kütüphane	:	BAŞER Uçucu Yağ Bileşenleri Kütüphanesi,

Wiley ve Adams-LIBR (TP) Kütüphane Tarama Yazılımları

2.2.2 Uçucu Yağların Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler

Uçucu yağların antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesinde, mikrobroth dilüsyon ve agar disk difüzyon metotları kullanılmıştır [95]. Yapılan deneyler çift paralel olarak tekrarlanmıştır.

2.2.2.1 Agar Disk Difüzyon Metodu

Steril petrilere 15' er ml olacak şekilde Mueller Hinton Agar (MHA) dökülerek, petrilere düz bir zemin üzerinde donmaya bırakılmıştır. Kullanılacak olan mikroorganizmalar uygun besiyerlerinde 24 saat inkübasyona bırakılmış ve 24 saat sonunda Mc Farland No:0.5'e göre bulanıklık ayarları yapılmıştır. Steril kabin içerisinde petrilere alt kapakları üzerinden kalemle dört eşit parçaya bölünmüştür. Her birine stok çözeltiden 20 µl emdirilen 3 adet ve 20 µl standart kloramfenikol (*Candida albicans* için ketokonazol) emdirilen 1 adet 6 mm çapında steril kağıt disk her parçanın tam ortasına gelecek şekilde daha önce mikroorganizma ekimi yayma ekim olara yapılmış besiyeri üzerine yerleştirilmiştir. Bu şekilde hazırlanan petri kapları 24 saat 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda diskler etrafında üremenin görülmediği alanların (inhibisyon zonu) çapları milimetre olarak ölçülmüştür.

2.2.2.2 Mikrobrot Dilüsyon Metodu

Kullanılan insan patojeni bakteriler Mueller Hinton Broth (MHB)' a, patojen maya olan *Candida albicans* ise Sabouraud Dextrose Broth (SDB)' a aşılansak 37 °C'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. 24 saat sonunda sıvı besiyerlerinde gelişen kültürlerin, Mc Farland No: 0.5 (yaklaşık 10^8 CFU/ml) tüpüne göre bulanıklık ayarı yapılmıştır. Test edilecek uçucu yağlar, her birinden 4 mg olmak üzere ayrı ayrı steril tüplere tartılmış ve üzerlerine 2' şer ml saf Dimetil Sülfoksit (DMSO) eklenerek tamamen çözünmeleri, homojen bir karışım haline gelmeleri sağlanmıştır(stok çözelti). Denemeler için 96 "U" tipi kuyucuklara sahip mikrodilüsyon petrilere (96 Well Plate) kullanılmıştır. Mikropipet yardımıyla kuyucuklara önce 100'er µl steril saf su koyulmuştur (1, 11 ve 12'inci sütunlar hariç). Daha sonra ilk sütundaki kuyucukların her birine elde edilen stok çözeltilerden 200' er µl mikropipet yardımıyla eklenmiştir. Bu sütundan alınan 100 µl' lik kısımlar ikinci sütuna transfer edilmiş ve bu şekilde seri olarak yapılan dilüsyon ile stok solüsyonların seyreltilmeleri sağlanmıştır. Yalnızca mikroorganizmasız antimikrobiyal ajanların seri dilüsyonlarını içeren sondan bir

önceki sütun (11) negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Son sütun pozitif kontrol olarak birer antibiyotik olan kloramfenikol bakteriler için, standart antifungal madde olan ketokonazol ise *Candida albicans* için kullanılmıştır. Bu işlem tüm kuyucuklara uygulandıktan sonra mikroorganizmaların eklenmesi işlemine geçilmiştir. Bunun için bulanıklığı önceden Mc Farland No:0.5'e göre ayarlanan mikroorganizma kültürleri yarım saat 37 °C' de bekletilmiş, mikropipet ile tüplerden 100 µl alınarak her kuyucuk satırına bir mikroorganizma gelecek şekilde 11'inci sütun hariç olarak ilave edilmiştir. Bu işlemden sonra mikrodilüsyon petrilerinin kapakları kapatılarak 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda kuyucuklarda üremenin varlığı ya da yokluğunun tespit edilmesi amacıyla mikrodilüsyon petrileri üzerine tetrazolium violet çözeltisi püskürtülmüştür. Renklenmenin olması için petriler 37 °C'de 30 dakika daha inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda renklenmenin olmadığı ilk kuyucukların sahip olduğu konsantrasyon MİK (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu) olarak değerlendirilmiştir. MİK değeri, antimikrobiyal maddenin mikroorganizmaların üremesini durdurmak için gerekli en düşük konsantrasyon değeri olarak ifade edilebilir.

2.2.2.3 Antifungal Aktivite

Antifungal aktivite çalışmaları için de agar disk difüzyon metodu kullanılmıştır. Konidi elde etmek amacıyla saprofitik funguslardan *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Penicillium expansum* ve *Alternaria brassicola* Czapek Dox Agar (CDA) ve Malt Ekstrakt Agar (MEA) besiyerinde, 90 mm çapında petri kapları kullanılarak 25 °C'de 7-10 gün süreyle geliştirilmiştir. Daha sonra iğne yardımıyla gelişmiş kolonilerden sporlar alınarak, Czapek Dox Agar ve Malt Ekstrakt Agar besiyerini içeren petri kaplarının merkezine uygulanmıştır. Her birine stok çözeltiden 20 µl emdirilen diskler, ekim yapılan noktaların üstüne yerleştirilmiştir. Petri kapları 72 saat süresince 25 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda, uçucu yağların fungusların üremesi üzerindeki % inhibisyon değerleri aşağıda verilen formül kullanılarak hesaplanmıştır. Kontrol olarak fungusların normal koloni çapları kullanılmıştır [96].

% İnhibisyon = 100 (C-T) / C

C: Kontrol petrisinde gelişen fungusun koloni çapı,

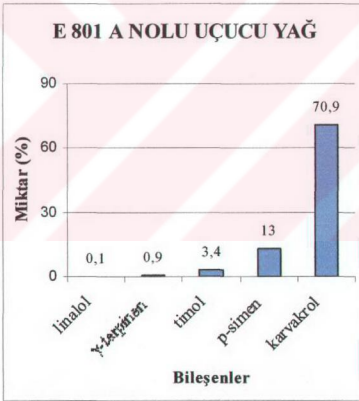
T: Test petrisinde gelişen fungusun koloni çapı)



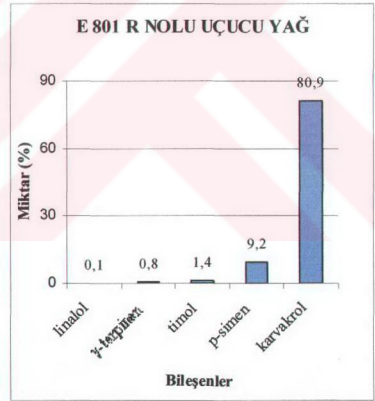
3. BULGULAR

3.1 Uçucu Yağların GC/MS Analizi Sonuçları

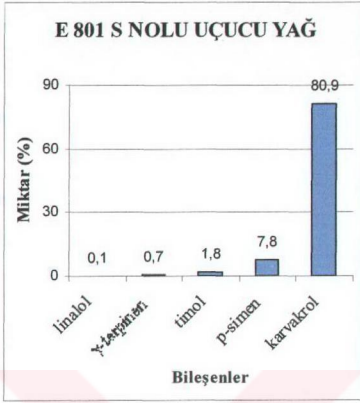
Doğal ve kültür örnekleri uçucu yağlarının GC/MS analizi sonuçları aşağıda grafikler halinde verilmiştir.



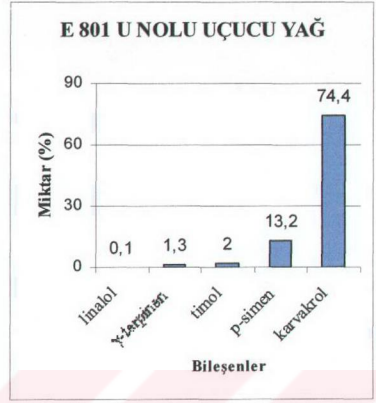
Şekil 3.1 E 801 S Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Doğal)



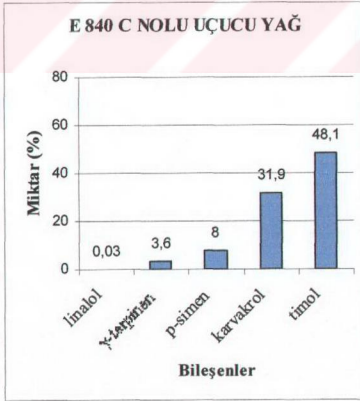
Şekil 3.2 E 801 R Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Doğal)



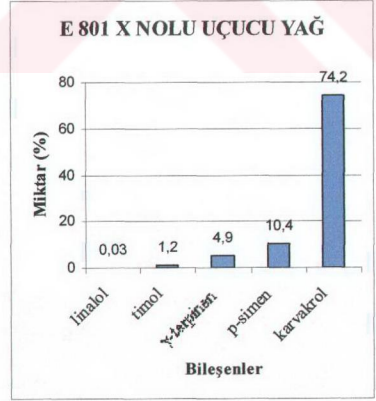
Şekil 3.3. E 801 S Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Doğal)



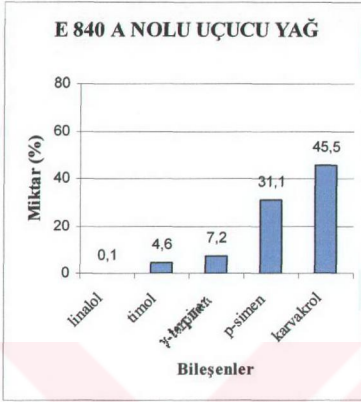
Şekil 3.4 E 801 U Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Doğal)



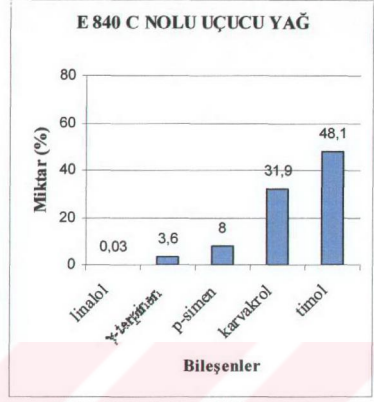
Şekil 3.5 E 801 V Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Doğal)



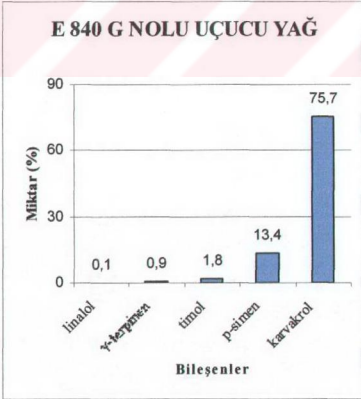
Şekil 3.6 E 801 X Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Doğal)



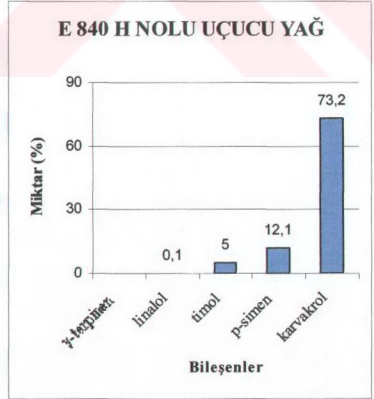
Şekil 3.7 E 840 A Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Doğal)



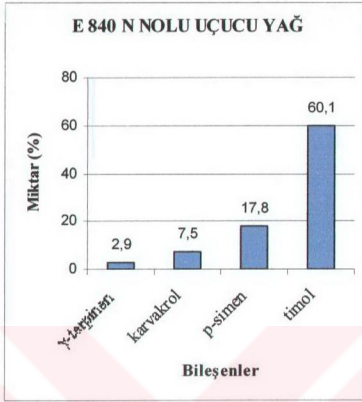
Şekil 3.8 E 840 C Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Doğal)



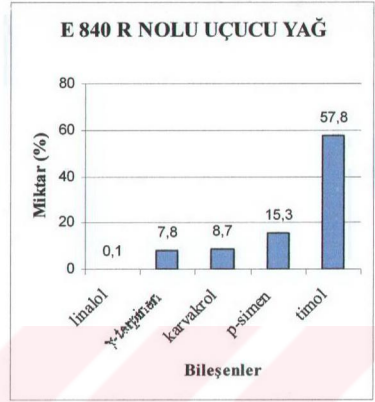
Şekil 3.9 E 840 G Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Doğal)



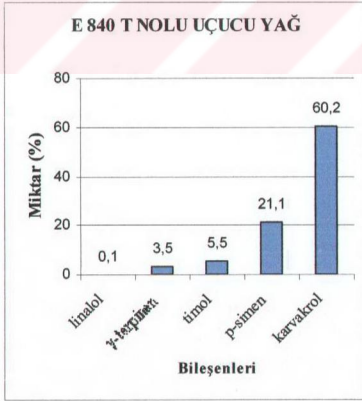
Şekil 3.10 E 840 H Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Doğal)



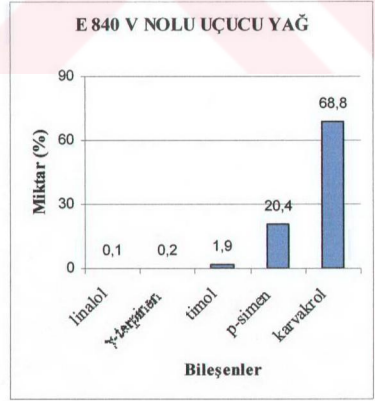
Şekil 3.11 E 840 N Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Doğal)



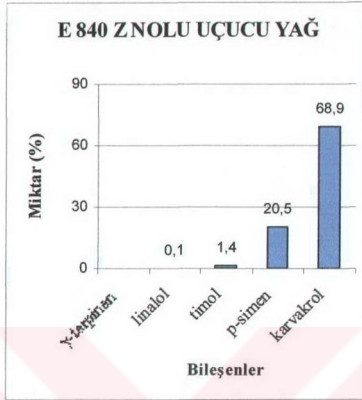
Şekil 3.12 E 840 R Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Doğal)



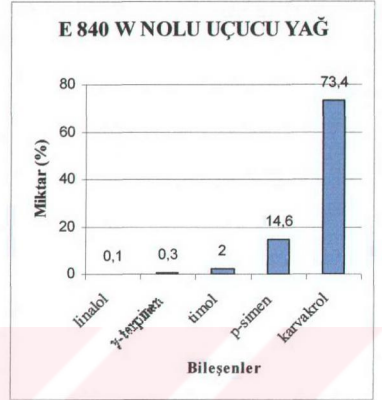
Şekil 3.13 E 840 T Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Doğal)



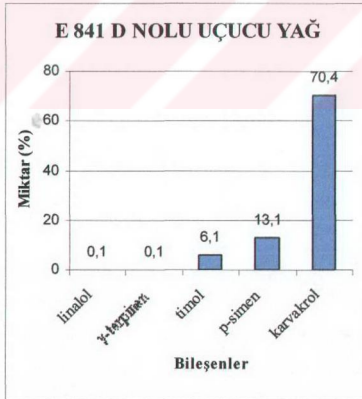
Şekil 3.14 E 840 V Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Doğal)



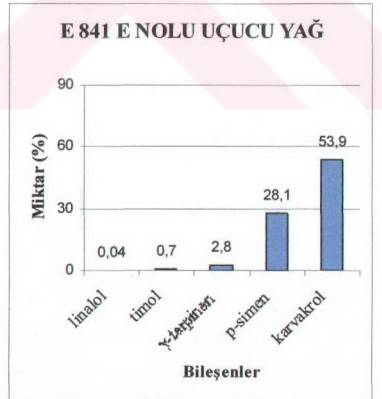
Şekil 3.15 E 840 Z Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Doğal)



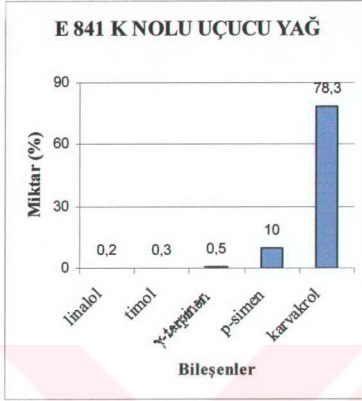
Şekil 3.16 E 840 W Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Doğal)



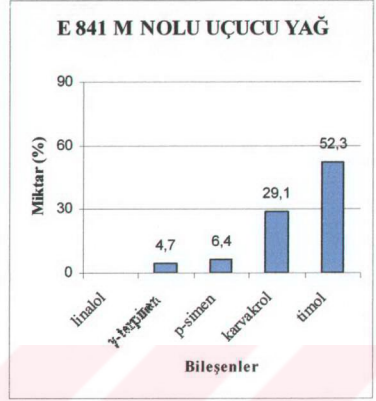
Şekil 3.17 E 841 D Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Doğal)



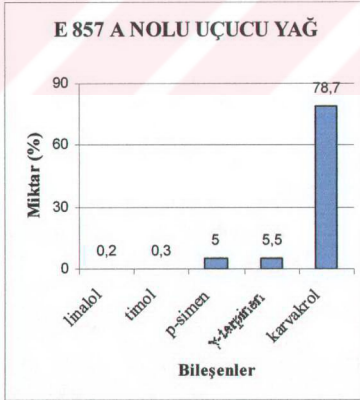
Şekil 3.18 E 841 E Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Doğal)



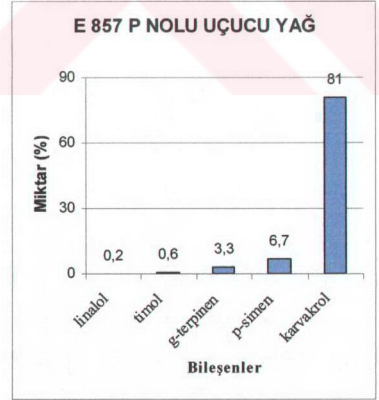
Şekil 3.19 E 841 K Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Doğal)



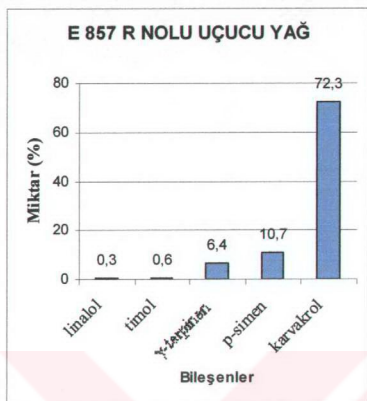
Şekil 3.20 E 841 M Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Doğal)



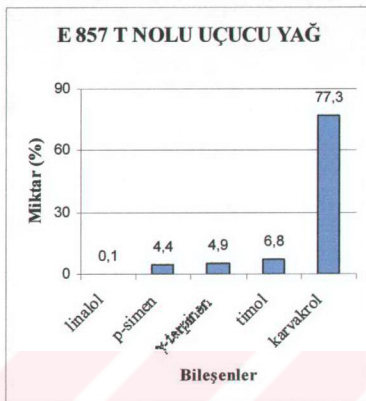
Şekil 3.21 E 857 A Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Kültür)



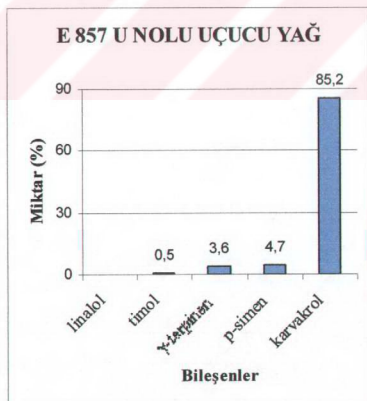
Şekil 3.22 E 857 P Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Kültür)



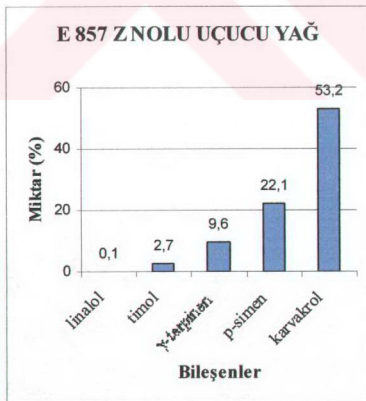
Şekil 3.23 E 857 R Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Kültür)



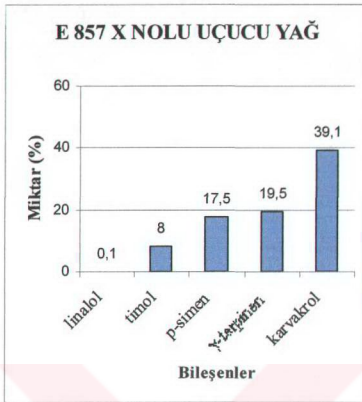
Şekil 3.24 E 857 P Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Kültür)



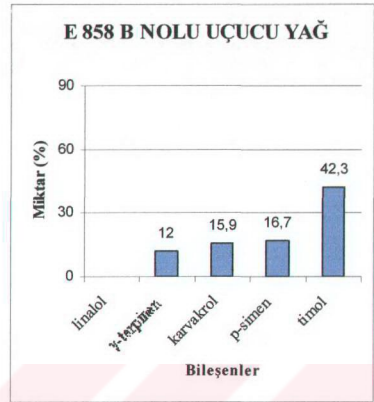
Şekil 3.25 E 857 U Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Kültür)



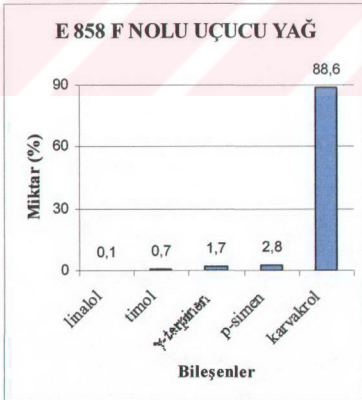
Şekil 3.26 E 857 Z Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Kültür)



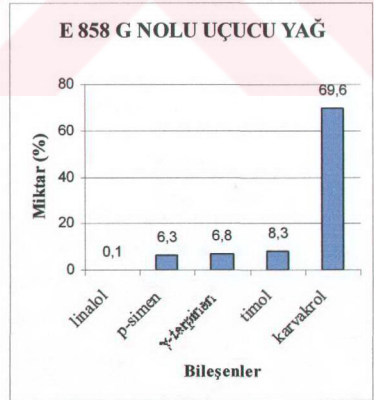
Şekil 3.27 E 857 X Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Kültür)



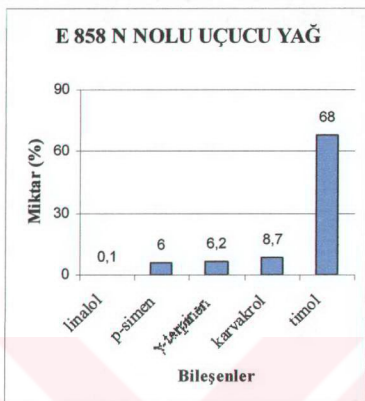
Şekil 3.28 E 858 B Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Kültür)



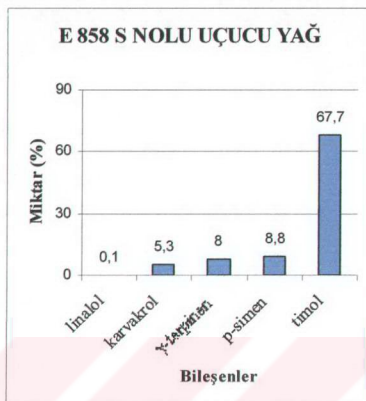
Şekil 3.29 E 858 F Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Kültür)



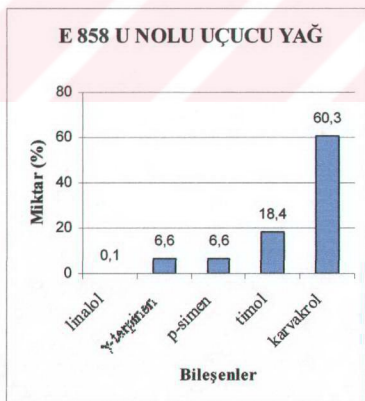
Şekil 3.30 E 858 G Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Kültür)



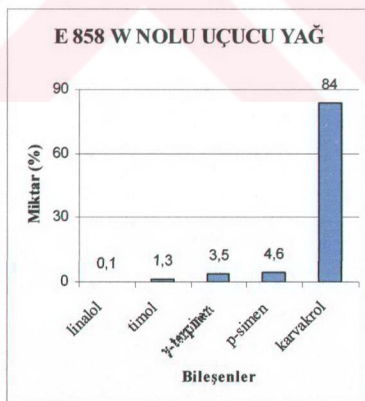
Şekil 3.31 E 858 N nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Kültür)



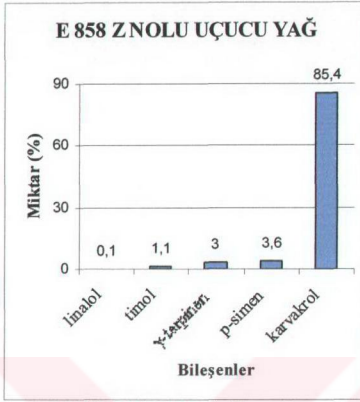
Şekil 3.32 E 858 S Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Kültür)



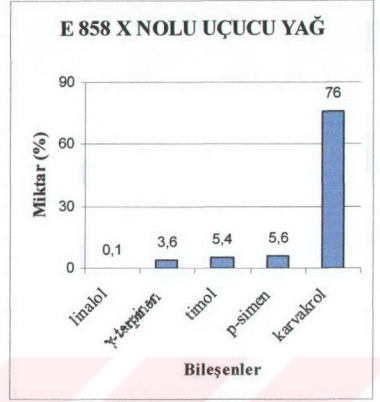
Şekil 3.33 E 858 U nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Kültür)



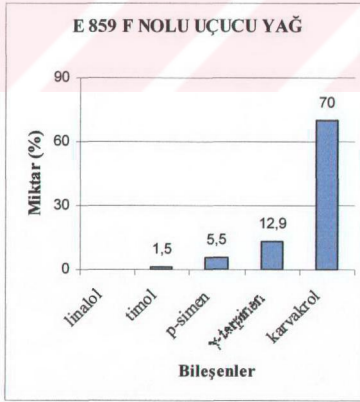
Şekil 3.34 E 858 W Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Kültür)



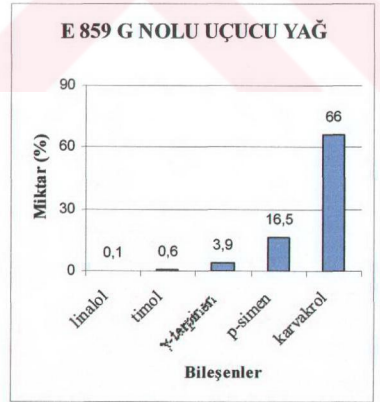
Şekil 3.35 E 858 Z nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Kültür)



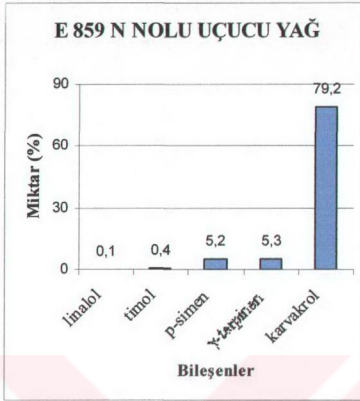
Şekil 3.36 E 858 X Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Kültür)



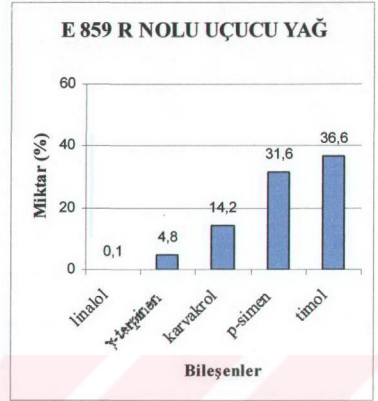
Şekil 3.37 E 859 F nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Kültür)



Şekil 3.38 E 859 G Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Kültür)



Şekil 3.39 E 859 N nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Kültür)



Şekil 3.40 E 859 R Nolu Uçucu Yağ Bileşenleri (Kültür)

3.2 Uçucu Yağların Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Uçucu yağların antimikrobiyal aktivite sonuçları Tablo 3.1, Tablo 3.2, Tablo 3.3, Tablo 3.4, Tablo 3.5 ve Tablo 3.6' da verilmiştir.

Tablo 3.1 Doğal *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* Ietswaart Üçücu Yağlarının Disk Difüzyon Metoduna Göre Antimikrobiyal Aktivitesi (mm)

Bilki No	Üçücu Yağ Bileşenleri (%)					Mikroorganizmalar						
	Karvakrol	timol	linalol	γ -terpinen	<i>p</i> -simen	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>C. albicans</i>	
101	70.9	3.4	0.1	0.9	13.0	8	8	9	9	9	6	
202A	80.9	1.4	0.1	0.8	9.2	8	7	8	8	8	9	
202B	80.9	1.8	0.1	0.7	7.8	7	8	7	8	8	9	
203B	74.4	2.0	0.1	1.3	13.2	10	10	9	10	8	9	
203C	82.9	1.2	0.1	0.1	8.8	9	9	8	10	9	10	
205C	74.2	1.2	0.03	4.9	10.4	10	11	11	9	9	10	
206	45.5	4.6	0.1	7.2	31.1	8	8	9	8	9	9	
208A	31.9	48.1	0.03	3.6	8.0	11	10	10	10	10	8	
211	75.7	1.8	0.1	0.9	13.4	9	10	9	9	9	9	
212	73.2	5.0	0.1	eser	12.1	10	9	10	9	8	9	
306	7.5	60.1	0.1	2.9	17.8	10	10	11	11	10	11	
309	8.7	57.8	0.1	7.8	15.3	11	11	9	8	9	12	
311	60.2	5.5	0.1	3.5	21.1	9	13	10	8	8	7	
313	68.8	1.9	0.1	0.2	20.4	8	9	9	8	9	8	
315	68.9	1.4	0.1	-	20.5	10	10	9	10	9	10	
316	73.4	2.0	0.1	0.3	14.6	8	7	8	8	7	9	
407	70.4	6.1	0.1	0.1	13.1	9	8	8	9	8	9	
407A	53.9	0.7	0.04	2.8	28.1	9	9	10	10	9	9	
419	78.3	0.3	0.2	0.5	10.0	10	12	11	10	10	11	
213	29.1	52.3	eser	4.7	6.4	8	8	9	9	8	8	
	Kontrol					^c 29	^c 30	^c 33	^c 28	^c 26	^k 34	

^c:Kloramfenikol

^k:Ketokonazol

Tablo 3.2 Kulture Alınan *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* İletswaart Uçucu Yağlarının Disk Diffüzyon Metoduna Göre Antimikrobiyal Aktivitesi (mm)

Bitki No	Uçucu Yağ Bileşenleri (%)					Mikroorganizmalar						
	karvakrol	timol	linalol	γ -terpinen	p-simen	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>C. albicans</i>	
101	78.7	0.3	0.2	5.5	5.0	10	10	11	11	10	8	
202A	81.0	0.6	0.2	3.3	6.7	10	9	10	11	10	8	
202B	72.3	0.6	0.3	6.4	10.7	8	7	8	8	10	7	
203B	77.3	6.8	0.1	4.9	4.4	11	10	8	9	9	8	
203C	85.2	0.5	-	3.6	4.7	8	8	9	9	9	9	
205C	53.2	2.7	0.1	9.6	22.1	8	9	9	9	8	9	
206	39.1	8.0	0.1	19.5	17.5	10	10	10	10	10	10	
208A	15.9	42.3	eser	12.0	16.7	8	9	8	10	9	7	
211	88.6	0.7	0.1	1.7	2.8	10	10	10	9	9	7	
212	69.6	8.3	0.1	6.8	6.3	8	8	7	8	8	9	
306	8.7	68.0	0.1	6.2	6.0	8	7	7	7	7	8	
309	5.3	67.7	0.1	8.0	8.8	10	10	9	10	10	9	
311	60.3	18.4	0.1	6.6	6.6	9	10	9	12	10	9	
313	84.0	1.3	0.1	3.5	4.6	9	9	8	9	9	7	
315	85.4	1.1	0.1	3.0	3.6	10	9	11	11	10	7	
316	76.0	5.4	0.1	3.6	5.6	8	8	8	7	7	7	
407	70.0	1.5	eser	12.9	5.5	10	9	10	8	9	7	
407A	66.0	0.6	0.1	3.9	16.5	8	8	7	7	8	7	
419	79.2	0.4	0.1	5.3	5.2	9	8	8	8	7	7	
213	14.2	36.6	0.1	4.8	31.6	9	7	8	7	7	7	

^CKloramfenikol

^KKetokonazol

Tablo 3.3. Doğal *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* İletswaart Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri (MİK) (µg/ml)

Bitki No	Uçucu Yağ Bileşenleri (%)					Mikroorganizmalar					
	karvakrol	timol	linalol	γ-terpinen	p-simen	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>C. albicans</i>
101	70.9	3.4	0.1	0.9	13.0	250	125	250	125	62,5	62,5
202A	80.9	1.4	0.1	0.8	9.2	500	500	500	250	250	125
202B	80.9	1.8	0.1	0.7	7.8	250	250	250	125	250	500
203B	74.4	2.0	0.1	1.3	13.2	125	250	250	250	250	125
203C	82.9	1.2	0.1	0.1	8.8	500	500	250	250	500	125
205C	74.2	1.2	0.03	4.9	10.4	250	125	125	125	125	125
206	45.5	4.6	0.1	7.2	31.1	250	125	125	125	250	125
208A	31.9	48.1	0.03	3.6	8.0	250	250	250	250	250	125
211	75.7	1.8	0.1	0.9	13.4	500	250	500	250	500	125
212	73.2	5.0	0.1	eser	12.1	250	500	250	500	250	250
306	7.5	60.1	0.1	2.9	17.8	62,5	62,5	125	125	125	125
309	8.7	57.8	0.1	7.8	15.3	125	250	250	125	125	31,25
311	60.2	5.5	0.1	3.5	21.1	250	125	250	250	250	125
313	68.8	1.9	0.1	0.2	20.4	250	250	62,5	125	125	125
315	68.9	1.4	0.1	-	20.5	250	250	500	250	500	500
316	73.4	2.0	0.1	0.3	14.6	500	500	500	500	125	125
407	70.4	6.1	0.1	0.1	13.1	125	250	125	125	250	125
407A	53.9	0.7	0.04	2.8	28.1	500	250	250	125	125	125
419	78.3	0.3	0.2	0.5	10.0	125	125	125	125	125	62,5
213	29.1	52.3	eser	4.7	6.4	125	125	500	500	125	500
Standart madde						- _c	- _c	- _c	- _c	- _c	- _k
DMSO						+	+	+	+	+	+

C: Kloramfenikol

K: Ketakonazol

-: Bulanıklık yok (Aktivite var)

+: Bulanıklık var (Aktivite yok)

Tablo 3.4 Kültüre Alınan *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* İetswaart Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri (MİK) (µg/ml)

Bitki No	Uçucu Yağ Bileşenleri (%)					Mikroorganizmalar						
	karvakrol	timol	linalol	γ-terpinen	p-simen	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>C. albicans</i>	
101	78.7	0.3	0.2	5.5	5.0	125	125	125	250	125	250	
202A	81.0	0.6	0.2	3.3	6.7	250	125	125	125	125	500	
202B	72.3	0.6	0.3	6.4	10.7	250	250	500	250	250	500	
203B	77.3	6.8	0.1	4.9	4.4	250	250	250	500	125	250	
203C	85.2	0.5	-	3.6	4.7	250	500	125	250	500	250	
205C	53.2	2.7	0.1	9.6	22.1	250	125	125	125	125	250	
206	39.1	8.0	0.1	19.5	17.5	500	500	250	250	500	250	
208A	15.9	42.3	eser	12.0	16.7	250	250	250	250	250	500	
211	88.6	0.7	0.1	1.7	2.8	250	250	250	250	250	500	
212	69.6	8.3	0.1	6.8	6.3	250	250	250	250	500	250	
306	8.7	68.0	0.1	6.2	6.0	500	500	500	500	500	500	
309	5.3	67.7	0.1	8.0	8.8	125	250	250	250	250	250	
311	60.3	18.4	0.1	6.6	6.6	250	250	500	125	250	500	
313	84.0	1.3	0.1	3.5	4.6	125	125	250	250	250	500	
315	85.4	1.1	0.1	3.0	3.6	125	250	250	250	125	500	
316	76.0	5.4	0.1	3.6	5.6	500	250	500	500	500	500	
407	70.0	1.5	eser	12.9	5.5	250	250	250	250	250	500	
407A	66.0	0.6	0.1	3.9	16.5	250	250	250	250	250	500	
419	79.2	0.4	0.1	5.3	5.2	250	250	250	125	125	500	
213	14.2	36.6	0.1	4.8	31.6	250	250	250	500	250	500	
Standart madde												
DMSO												
+												
-												
C: Kloramfenikol												
K: Ketakonazol												
-: Bulanıklık yok (Aktivite var)												
+: Bulanıklık var (Aktivite yok)												

Tablo 3.5 Dogal *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* Ietswaart Uçucu Yağlarının Antifungal Aktiviteleri (% inhibisyon)

Bitki No	Uçucu Yağ Bileşenleri (%)						Mikroorganizmalar				
	karvakrol	timol	linalol	γ -terpinen	<i>p</i> -simen	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Penicillium expansum</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Alternaria brassicola</i>		
101	70.9	3.4	0.1	0.9	13.0	100	100	100	100		
202A	80.9	1.4	0.1	0.8	9.2	100	100	60	68.7		
202B	80.9	1.8	0.1	0.7	7.8	5.4	22.7	-	-		
203B	74.4	2.0	0.1	1.3	13.2	-	13.6	5.6	-		
203C	82.9	1.2	0.1	0.1	8.8	25.4	22.7	-	58.3		
205C	74.2	1.2	0.03	4.9	10.4	-	100	20.7	-		
206	45.5	4.6	0.1	7.2	31.1	27.27	-	18.86	12.5		
208A	31.9	48.1	0.03	3.6	8.0	100	100	45.28	-		
211	75.7	1.8	0.1	0.9	13.4	-	27.27	-	-		
212	73.2	5.0	0.1	eser	12.1	54.5	100	43.39	100		
306	7.5	60.1	0.1	2.9	17.8	-	100	-	43.75		
309	8.7	57.8	0.1	7.8	15.3	10.9	9	-	29.16		
311	60.2	5.5	0.1	3.5	21.1	65.45	100	56.6	100		
313	68.8	1.9	0.1	0.2	20.4	78.18	100	15	100		
315	68.9	1.4	0.1	-	20.5	100	100	26.41	100		
316	73.4	2.0	0.1	0.3	14.6	-	100	-	-		
407	70.4	6.1	0.1	0.1	13.1	-	50	1.92	14.58		
407A	53.9	0.7	0.04	2.8	28.1	-	18.18	-	-		
419	78.3	0.3	0.2	0.5	10.0	34.54	100	100	-		
213	29.1	52.3	eser	4.7	6.4	78.18	100	100	100		
Standart madde						100 ^k	100 ^k	100 ^k	100 ^k		

K: Ketakonazol

-: İnhibisyon yüzdesi 0

Tablo 3.6 Kültüre Alınan *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* İetswaart Uçucu Yağlarının Antifungal Aktiviteleri (% inhibisyon)

Bitki No	Uçucu Yağ Bileşenleri (%)						Mikroorganizmalar				
	karvakrol	timol	linalol	γ -terpinen	<i>p</i> -simen		<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Penicillium expansum</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Alternaria brassicola</i>	
101	78.7	0.3	0.2	5.5	5.0		5.45	13.63	16.98	-	
202A	81.0	0.6	0.2	3.3	6.7		27.27	100	11.32	8.33	
202B	72.3	0.6	0.3	6.4	10.7		100	100	15	-	
203B	77.3	6.8	0.1	4.9	4.4		18.18	100	16.98	-	
203C	85.2	0.5	-	3.6	4.7		16.36	100	15	-	
205C	53.2	2.7	0.1	9.6	22.1		40	27.27	15	31.25	
206	39.1	8.0	0.1	19.5	17.5		12.72	-	5.66	-	
208A	15.9	42.3	eser	12.0	16.7		45.45	9	24.52	50	
211	88.6	0.7	0.1	1.7	2.8		23.63	18.18	24.52	37.50	
212	69.6	8.3	0.1	6.8	6.3		9	9	24.52	-	
306	8.7	68.0	0.1	6.2	6.0		3.63	18.18	1.88	33.33	
309	5.3	67.7	0.1	8.0	8.8		41.81	9	20.75	58.33	
311	60.3	18.4	0.1	6.6	6.6		16.36	100	13.20	37.50	
313	84.0	1.3	0.1	3.5	4.6		-	9	15	-	
315	85.4	1.1	0.1	3.0	3.6		9	9	15	45.83	
316	76.0	5.4	0.1	3.6	5.6		-	31.81	18.86	12.50	
407	70.0	1.5	eser	12.9	5.5		23.63	18.18	24.52	37.50	
407A	66.0	0.6	0.1	3.9	16.5		27.27	-	30.18	-	
419	79.2	0.4	0.1	5.3	5.2		9	9	43.39	58.33	
213	14.2	36.6	0.1	4.8	31.6		-	9	-	27	
Standart madde							100 ^k	100 ^k	100 ^k	100 ^k	

K: Ketakonazol

:- İnhibisyon yüzdesi

4. SONUÇ VE TARTIŞMA

Marmara Bölgesi'nde 4 farklı ilde (Balıkesir, Bursa, Çanakkale, Yalova) 20 farklı lokaliteden toplanan *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* (Link) Ietswaart alttürüne ait 20 örnek ve bu örneklerin Yalova Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü'nde kültüre alınmış formları olmak üzere toplam 40 bitki örneği ile çalışılmıştır. Örneklerin uçucu yağları TBAM' da hidrodistilasyonla elde edildikten sonra, GC ve GC/MS analizleri yapılmıştır. Alınan sonuçlara göre karvakrol ve timol, hem doğal hem de kültür örneklerinde ana bileşen olarak tespit edilmiştir.

Doğal bitki örneklerinde, karvakrol % 7.5 - % 82.9, timol % 0.3 - % 60.1 oranları arasında uçucu yağların bileşiminde yer almaktadır. Verilere göre, doğal bitki örnekleri timol ya da karvakrol kemotipi olarak ayrılabilirler. Diğer bileşenler ise *p*-simen (% 6.4 - % 31.1), γ -terpinen (eser - % 7.8) ve linalol (% 0.03 - % 0.2) olarak belirlenmiştir. 208 A, 306, 309 ve 213 nolu bitki örneklerinde timol ana bileşen olarak bulunurken, diğer bitki örneklerinde karvakrol ana bileşen olarak bulunmuştur.

Kültür bitki örneklerinde ise; karvakrol % 5.3 – 85.4, timol % 0.3 -68.0, *p*-simen % 2.8 – 31.6, γ -terpinen % 3.0 – 19.5, linalol % 0.1 – 0.3 oranları arasında uçucu yağların bileşiminde tespit edilmiştir. 208 A, 306, 309 ve 213 nolu kültür bitki örnekleri de timol kemotipi olarak belirlenmiş, diğer örnekler yine karvakrol kemotipi olma özelliği göstermişlerdir. Dolayısıyla doğal ortamlarında timol ya da karvakrol kemotipi özelliği gösteren örnekler, kültür ortamında da aynı özelliklerini devam ettirmişlerdir. Bu da Yalova' daki kültür ortamı koşullarının, doğal ortamlarınıniki ile benzer olduğunu göstermektedir. Doğal ve kültür örnekleri uçucu yağları karşılaştırıldığında, ana bileşenler uygunluk gösterse de miktar olarak farklılıklar göze çarpmaktadır. Bu farklılıklar, öncelikle edafik faktörler olmak

üzere, toplanma zamanı, distilasyon tekniği ya da iklimdeki bazı değişikliklerden kaynaklanmış olabilir.

Başer ve arkadaşları (1993) Akdeniz Bölgesi'nden elde ettikleri *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* örnekleri ile yaptıkları bir çalışmada, uçucu yağının ana bileşeninin % 78.73 ve % 70 oranlarında bulunan karvakrol olduğunu tespit etmişlerdir [76].

Scheffer ve arkadaşları (1986), *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* örneklerinin uçucu yağını analiz etmişler ve karvakrol' ü (% 60.7) ana bileşen olarak belirlemişlerdir. Akgül ve arkadaşları da (1987), aynı alttürle yaptıkları çalışmalarda karvakrol' ün % 58.7 oranlarında uçucu yağın bileşiminde bulunduğu rapor etmişlerdir [74, 75]. Bu sonuçlar bizim bulgularımızla ana bileşenler olarak benzerlik göstermektedir. Ancak ana bileşenlerin miktarlarında bazı farklılıklar saptanmıştır. Bu farklılıklara toplanma zamanlarının ve lokalitelerindeki değişikliklerin neden olması mümkündür.

Araştırmada kullanılan tüm bitki örneklerinden elde edilen uçucu yağların, agar disk difüzyon ve mikrobroth dilüsyon metodları kullanılarak test mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal etkileri de araştırılmıştır. Agar disk difüzyon metodunda, 6 mm çapında antibiyogram disklerine uçucu yağların stok solüsyonlarından 20 µl emdirilmiş ve oluşan zon çapları mm olarak kaydedilmiştir. Yapılan çalışmada oluşan zon çapları, kontrol olarak kullanılan kloramfenikol ve ketokonazol' e ait zonlarla karşılaştırıldığında daha küçük olmasına karşın (7–12 mm) test mikroorganizmaları üzerinde tüm uçucu yağların antibakteriyal ve anticandidal aktiviteye sahip oldukları gözlenmiştir. Bu değerler Tablo 3.1 ve Tablo 3.2' de verilmiştir. Baudoux' a göre de, kullanılan diskler etrafında üremenin olmadığı zonun ölçüsü 2–3 mm ise uçucu yağın bakterisidal etkisinin iyi, bu zon 3 mm' den büyükse çok etkili, eğer üremenin olmadığı alan hiç yoksa aktivite yok denilebilir [97].

Mikrobroth dilüsyon metodu kullanılarak uçucu yağların MİK (minimum inhibisyon konsantrasyonu) değerleri de belirlenmiştir. Bu değerler Tablo 3.3 ve

Tablo 3.4' de µg/ml olarak verilmiştir. Alınan sonuçlara göre; doğal bitki örneklerinin uçucu yağları, prokaryotik patojen *Escherichia coli* ATCC 25292, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterobacter aerogenes* NRRL 3567, *Proteus vulgaris* NRRL 123 ve ökaryotik maya hücresi olan *Candida albicans* üzerinde 62.5–500 µg/ml arasında MİK değerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Kültür bitki örneklerinin uçucu yağları ise aynı test bakterileri üzerinde 125–500 µg/ml, *C. albicans* üzerinde ise 250–500 µg/ml arasındaki konsantrasyonlarda etkili bulunmuştur.

Dorman ve Deans; *O.vulgare* subsp. *hirtum* uçucu yağının *E. coli* NCIB 8879, *S. aureus* NCIB 6571, *P. aeruginosa* NCIB 950, *E. aerogenes* NCTC 10006, *P. vulgaris* NCIB 4175 üzerine inhibisyon etkisini araştırmışlar ve tüm bu bakterilere karşı uçucu yağın etkili olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca gram (-) ve gram (+) mikroorganizmalara karşı aynı derecede etkili olduğunu rapor etmişlerdir [19]. Bizim araştırmamızda da gram (+) ve gram (-) bakterilerin, test edilen bitki örneklerine karşı duyarlılıklarında büyük bir farklılık görülmemektedir.

O. vulgare subsp. *hirtum* uçucu yağının bileşiminde bulunduğu bilinen timol ve karvakrol'ün yüksek derecede antibakteriyel, antikandidal ve antifungal aktiviteye sahip olduğu daha önceki araştırmalarda rapor edilmiştir [62, 98, 99]. Bunun yanı sıra fenolik bileşikler bakımından zengin olan uçucu yağların yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği de araştırmalarda rapor edilmektedir [100, 101]. Özellikle karvakrol ve timol antimikrobiyal özelliği bilinen fenolik bileşiklerdir. γ -terpinen, *p*-simen, linalol, α -terpineol, α pinen, timol ve karvakrol ile yapılan bir araştırmada, karvakrol ve timol'ün, denenen bileşikler içerisinde en kuvvetli antimikrobiyal aktiviteye sahip bileşikler olduğu belirtilmiştir [8, 101]. Yapılan başka bir çalışmada, α -pinen, *p*-simen ve γ -terpinen'in herhangi bir aktiviteye sahip olmadıkları da belirtilmektedir [67]. *p*-simen'in, timol ve karvakrol'ün antimikrobiyal aktivitesine antagonistik veya sinerjistik etkide bulunduğu dair farklı görüşler mevcuttur. Cosentino ve arkadaşları (1999), *p*-simen'in, timol ve karvakrol'ün aktivitesi üzerinde antagonistik etki yaptığını öne sürerken, Ultee ve arkadaşları (2000) sinerjistik etki yaptığını belirtmektedir [101, 102]. Bununla

birlikte timol ve karvakrol'ün beraber bulunmaları durumunda, birbirlerine sinerjistik etki meydana getirdikleri bilinmektedir [101, 103, 104].

Karvakrol'ün antimikrobiyal aktivitesinin ne şekilde olduğunu gösteren bir araştırma sonucuna göre de; karvakrol'e maruz bırakılan hücrel membranlar potasyum iyonlarına ve protonlara karşı geçirgen hale gelmektedir. Böylece hücrel iç ortamın pH'sı düşmekte ve membran potansiyeli dağılmaktadır. Sonuç olarak ATP sentezlenememekte ve hücre ölümü meydana gelmektedir [102].

Karvakrol'ün antimikrobiyal aktivitesi ile ilgili yapılan araştırmalarda, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus vulgaris*, *Candida albicans* üzerinde üremeyi durdurucu etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir. Timol'ünde aynı mikroorganizmalara üzerinde inhibisyon etkisi gösterdiği kanıtlanmıştır [105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114]. Bu bulgular, karvakrol ve timol içeriği yüksek olan tüm örneklerimizin antimikrobiyal aktivitelerinin neden yüksek olduğunu açıklamamızı sağlamaktadır.

Araştırmamızda elde ettiğimiz antifungal aktivite sonuçları incelendiğinde; *Aspergillus flavus*'un gelişmesi üzerine doğal örneklerden dört tanesi % 100' lük inhibisyon etkisi gösterirken, yedi örnek ise herhangi bir etki göstermemiştir. Kültür bitki örneklerinden ise sadece biri *A. flavus* üzerinde % 100' lük inhibisyon etkisi göstermiştir. Üç örnek ise aynı fungus üzerinde etkisiz bulunmuştur (Tablo 3.5 ve Tablo 3.6).

Penicillium expansum'un gelişmesi üzerine doğal örneklerden onikisi % 100' lük inhibisyon etkisi göstermiş, bir örnek ise hiçbir etki göstermemiştir. Kültür bitki örneklerinden ise; beş tanesi aynı fungus üzerinde % 100 etkiliyken, iki örnek etkisiz bulunmuştur (Tablo 3.5 ve Tablo 3.6).

Test materyallerine en dirençli fungusun *Aspergillus niger* olduğunu söyleyebiliriz. Doğal örneklerden üçü bu fungus üzerinde % 100' lük antifungal aktiviteye sahipken, yedi örneğin ise antifungal aktivitesi tespit edilememiştir. Kültür örneklerinden bu fungus üzerinde % 100' lük inhibisyon etkisi gösteren örnek

saptanmamıştır. Bir kültür örneği ise tamamen etkisiz bulunmuştur (Tablo 3.5 ve Tablo 3.6).

Alternaria brassicola gelişmesi üzerine doğal örneklerden altısı % 100' lük inhibisyon etkisine sahipken, yedi örnek herhangi bir etki göstermemiştir. Kültür örnekleri incelendiğinde ise, % 100'lük inhibisyon etkisi gösteren örnek tespit edilememiştir. Sekiz tanesinin ise bu fungus üzerinde etkisiz oldukları belirlenmiştir (Tablo 3.5 ve Tablo 3.6).

Daha önce karvakrol ve timol' ün antifungal aktivitesinin araştırıldığı birçok çalışmada, *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Penicillium expansum* üzerinde yüksek inhibisyon etkisi gösterdikleri rapor edilmiştir [106, 115, 116, 117, 118].

Mevcut bilgiler ışığında gelinen noktada güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu tespit edilen bileşiklerin kimyasal yapıları daha ayrıntılı araştırılarak, fonksiyonel grupların ilave edilmesiyle bu bileşiklerdeki aktivitenin ne derece değişebileceği üzerine çalışmalar yapılabilir. Ayrıca antimikrobiyal özelliğe sahip bitkisel kökenli doğal bileşiklerin, mikroorganizmalar üzerindeki etki mekanizmaları araştırılarak aktivitenin doğası aydınlatılabilir. Dolayısıyla bu bileşiklerin, daha ayrıntılı çalışmalar sonucunda insanlık için kullanılabilirliği yüksek ürünler haline dönüştürülmesi mümkün olabilecektir. Aynı zamanda bu araştırmalar sonucu, bitkisel droglar reçetelere yazılarak kontrollü olarak hastalıkların tedavisinde kullanılabilir.

5. KAYNAKLAR

- [1] Philipson, J. D., Plants As Sources of Valuable Products, Charlwood B. V., Rhodes M. J., Clarendon Press, Oxford, 1990, 1.
- [2] Sökmen, A., Gürel, E., Bitki Biyoteknolojisi, Babaoğlu M., Gürel E., Özcan S., 374, Selçuk Üniversitesi Vakıf Yayınları, Konya, 2001, 211.
- [3] Cox, P. A., Ethnopharmacology and The Search For New Drugs, In Bioactive Compounds From Plants, CIBA Foundation Symposium 154., Chichester, New York Brisbane, Toronto, Singapore, 1990, 40.
- [4] Tanker, M., Tanker, N., Farmakognozi Ders Kitabı, 65, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara, 1998, 269.
- [5] Eloff, J. N., "Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants?", *J.Ethnopharmacology*, **60**, (1998), 1.
- [6] Keleş, O., Ak, S., Bakirel, T., Alpınar, K., "Türkiye'de Yetişen Bazı Bitkilerin Antibakteriyel Etkisinin İncelenmesi", *Türk J Vet Anim Sci*, **25**, (2001), 559.
- [7] Çubukçu, B., Meriçli, A. H., Mat, A., Sarıyar, G., Sütülpınar, N., Meriçli, F., Fitoterapi, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı, İstanbul, (2002), 1.
- [8] Tepe, B., Lamiaceae Familyasına Ait Bazı Bitki Türlerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Sivas, (2000).
- [9] Alzoreky, N. S., Nakahara, K., "Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia", *International Journal of Food Microbiology*, **80**, (2003), 223.
- [10] Menaker, A., Kravets, M., Koel, M., Orav, A., "Identification and characterization of supercritical fluid extracts from herbs", *Comptes Rendus Chimie*, **7**, (2004), 629.

- [11] Miguel, G., Simões, M., Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., Pedro, L. G., Carcalho, L., "Composition and antioxidant activities of the essential oils of *Thymus caespitius*, *Thymus camphoratus* and *Thymus mastichina*", *Food Chemistry*, **86**, (2004), 183.
- [12] Verastegui, M. A., Sanchez, C. A., Heredia, N. L., Garcia-Alvarado, J. S., "Antimicrobial activity of extracts three major plants from the Chihuahuan desert", *Journal of Ethnopharmacology*, **52**, (1996), 175.
- [13] Essawi, T., Srouf, M., "Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity", *Journal of Ethnopharmacology*, **70**, (2000), 343.
- [14] Karaman, S., Digrak, M., Ravid, U., Ilcim, A., "Antibacterial and antifungal activity of the essential oils of *Thymus revolutus* Celak from Turkey", *Journal of Ethnopharmacology*, **76**, (2001), 183.
- [15] Sökmen, A., Güllüce, M., Akpulat, H. A., Daferera, D., Tepe, B., Polissiou, M., Sökmen, M., Şahin, F., "The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*", *Food Control*, **15**, (2004), 627.
- [16] Davis, J., "Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes", *Science*, **264**, (1994), 375.
- [17] Loper, J. E., Henkels, M. D., Roberts, R. G., Grove, G. G., Willett, M. J., Smith, T. J., "Evaluation of streptomycin, oxytetracycline and copper resistance of *Erwinia amylovora* isolated from pear orchards in Washington State", *Plant Disease*, **75**, (1991), 287.
- [18] Service, R. F., "Antibiotics that resist resistance", *Science*, **270**, (1995), 724.
- [19] Dorman, H. J. D., Deans S.G., "Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils", *Journal of Applied Microbiology*, **88**, (2000), 308.
- [20] Alma, M. H., Mavi, A., Yıldırım, A., Dıgrak, M., Hirata, T., "Screening chemical composition and in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils from *Origanum syriacum* L. growing in Turkey", *Biol. Pharm. Bull*, **26**, (2003), 1725.
- [21] Valero, M., Salmerón, M. C., "Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth", *International Journal of Food Microbiology*, **85**, (2003), 73.

- [22] Kırımer, N., Mat, A., Essential oils in honour of Prof Dr. K.Hüsnü Can Başer on his 50. birthday, TP 958. E87, ISBN 975-94077-0-1, Anadolu Üniversitesi Basımevi, Eskişehir, 1999, 127.
- [23] Barbour, E. K., Sharif, M. A., Sagherian, K. V., Harbe, A. N., Talhouk, R. S., Talhouk, S. N., "Screening of selected indigenous plants of Lebanon for antimicrobial activity", *Journal of Ethnopharmacology*, **93**, (2004), 1.
- [24] Socorro, O., Tarrega, I., Rivas, F., "Essential oils of from wild and micropropagated plants of *Origanum bastetanum*", *Phytochemistry*, **48**, 8, (1998), 1347.
- [25] Azaz, A. D., İrtem, H. A., Kurkcuoglu M., Baser K. H. C., "Composition and the in vitro antibacterial activities of the essential oils of some *Thymus* species", *Z. Naturforsch*, **59**, (2004), 75.
- [26] Baydar, H., "Isparta koşullarında İzmir kekiğinin (*Origanum onites* L.) verimi ve uçucu yağ kalitesi üzerine araştırmalar", *S. D. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **6**, 2, (2002), 17.
- [27] Marino, M., Bersani, C., Comi, G., "Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae", *International Journal of Food Microbiology*, **67**, (2001), 187.
- [28] Kokkini S., Karaousou R., Dardioti A., Krigas N., Lanaras T., "Autumun essential oils of Greek Oregano", *Phytochemistry*, **44**, (1997), 883.
- [29] Schwämmle, B., Winkelhausen, E., Kuzmanova, S., Steiner, W., "Isolation of carvacrol assimilating microorganisms", *Food Technol. Biotechnol.*, **39**, 4, (2001), 341.
- [30] İrtem, H. A., Balıkesir Yöresinde Yetişen *Thymus* Türlerinin Uçucu yağ İçerikleri ve Antimikrobiyal Aktiviteleri, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir, (2003).
- [31] Baser, K. H. C., "Essential oils of Anatolian Labiatae: A profile", *Acta Horticulture*, **333**, (1993), 217.
- [32] Baser, K. H. C., "Essential oils of Labiatae from Turkey: Recent results", *Lamiales Newsletter*, **3**, (1994), 6.
- [33] Baydar, H., Sağdıç, O., Özkan, G., Karadoğan, T., "Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey", *Food Control*, **15**, (2004), 169.

[34] Özathı, N. S., Bitlis Yöresinde Yetişen Endemik *Thymus fedtschenkoi* Ronniger var. *Handeli* (Ronniger) Jalas Üzerinde Morfolojik, Anatomik ve Korolojik Çalışmalar, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Eğitimi Anabilim Dalı, Balıkesir, (1999).

[35] Sönmez, Ş., Denizli Yöresi Lokal Endemik *Origanum hypericifolium* Üzerinde Morfolojik, Anatomik ve Korolojik Çalışmalar, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Eğitimi Anabilim Dalı, Balıkesir, (1999).

[36] Davis, P. H., Flora Of Turkey and East Aegean Island, Vol.7, University of Edinburgh Pres, Edinburgh, 1982, 297.

[37] Ietswaart, J.H., A Taxonomic Revision of The Genus *Origanum* (Labiatae), Leiden Üniv. Pres, Londra, The Hague, 1980, 52.

[38] García, M. A., Sanz, J., “Analysis of *Origanum vulgare* volatiles by direct thermal desorption coupled to gas chromatography-mass spectrometry”, *Journal of Food Chromatography A*, **918**, (2001), 189.

[39] Şahin, F., Güllüce, M., Daferera, D., Sökmen, A., Sökmen, M., Polissiou, M., Agar, G., Özer, H., “Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey”, *Food Control*, **15**, (2004), 549.

[40] Basıllico, M. Z., Basıllico, J. C., “Inhibitory effects of some spice essential oils on *Aspergillus ochraceus* NRRL 3174 growth and ochratoxin A production” *Letters in Applied Microbiology*, **29**, (1999), 238.

[41] Chun, S., Vattem, D. A., Lin, Y. Shetty, K., “Phenolic antioxidants from oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity againsts *Helicobacter pylori*”, *Process Biochemistry*, **40**, 2, (2004), 809.

[42] Nostro, A., Blanco, A. R., Cannatelli, M. A., Enea, V., Flamini, G., Morelli, I., Roccaro, A. S., Alonzo, V., “Susceptibility of methicillin-resistant staphylococci to oregano essential oil, carvacrol and thymol”, *FEMS Microbiology Letters*, **230**, (2004), 191.

[43] Bouchra, C., Achouri, M., Hassani, L. M. I., Hmamouchi, M., “Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae againsts *Botrytis cinerea* Pers: F.”, *Journal of Ethnopharmacology*, **89**, (2003), 165.

- [44] Vera, R. R., Chane-Ming, J., "Chemical composition of the essential oil of marjoram (*Origanum majorana* L.) from Reunion Island", *Food Chemistry*, **66**, (1999), 143.
- [45] Baser, K. H. C., Tümen, G., Özek, T., Kürkçüoğlu, M., "Composition of the essential oil of *Origanum sipyleum* of Turkish origin", *J. Essent. Oil. Res.*, **4**, (1992), 439.
- [46] Baser, K. H. C., Tümen, G., Ermin, N., Kürkçüoğlu, M., "Essential oil of *Origanum hypericifolium* O. Schwarz et P. H. Davis", *J. Essent. Oil. Res.*, **6**, (1994), 631.
- [47] Baser, K. H. C., Tümen, G., "The essential oil of *Origanum syriacum* L. var. *bevanii* (Holmes) ", *J. Essent. Oil. Res.*, **5**, (1993), 315.
- [48] Baser, K. H. C., Tümen G., Özek, T., "Essential oil of *Origanum rotundifolium* Boiss", *J. Essent. Oil. Res.*, **7**, (1995), 95-96.
- [49] Baser, K. H. C., Tümen, G., Özek, T., Kürkçüoğlu, M., "Essential oil of *Origanum micranthum* Vogel", *J. Essent. Oil. Res.*, **8**, (1996), 203.
- [50] Baser, K. H. C., Tümen, G., Duman, H., "Essential oil of *Origanum bilgeri* P.H. Davis", *J. Essent. Oil. Res.*, **8**, (1996), 217.
- [51] Baser, K. H. C., Tümen, G., Sezik, E., "The essential oil of *Origanum minutiflorum* O. Schwarz and P. H. Davis", *J. Essent. Oil. Res.*, **3**, (1991), 445.
- [52] Baser, K. H. C., Tümen, G., Özek, T., Kürkçüoğlu, M., "Essential oil of *Origanum laevigatum* Boiss", *J. Essent. Oil. Res.*, **8**, (1996), 185.
- [53] Tucker, A. O., Maciarello, M. J., "The essential oil of *Origanum laevigatum* Boiss. (Labiatae)", *J. Essent. Oil. Res.*, **4**, (1991), 419.
- [54] Baser, K. H. C., Tümen, G., Kırimer, N., Özek, T., "Essential oil of *Origanum saccatum* P.H. Davis", *J. Essent. Oil. Res.*, **7**, (1995), 175.
- [55] Pino, J. A., Rosado, A., Estarrón, M., Fuentes, V., "Essential oil of Majoram (*Origanum majorana* L.) Grown in Cuba", *J. Essent. Oil. Res.*, **9**, (1997), 479.
- [56] Danin, A., Ravid, U., Umano, K., Shibamoto, T., "Essential oil composition of *Origanum ramonense* Danin Leaves from Israel", *J. Essent. Oil. Res.*, **9**, (1997), 411.

[57] Baser K. H. C., The Turkish *Origanum* Species. In: Oregano. The Genera *Origanum* and *Lippia*, Ed. S.E.Kintzios, Taylor and Francis, London, 2002, 109.

[58] Kokkini, S., Vokou, D., "Carvakrol rich plants in Greece", *Flavour Fragrance J.*, **4**, (1989), 1.

[59] Mockute, D., Bernotiene, G., Judzentiene, A., "The essential oil of *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare* growing wild in Vilnius district (Lithuania)", *Phytochemistry*, **57**, (2001), 65.

[60]. Chalchat, J. C., Pasquier, B., "Morphological and chemical studies of *Origanum* clones: *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare*", *J. Essenl Oil Res.*, **10**, (1998), 119.

[61] Melegari, M., Severi, F., Bertoldi, M., Benvenuti, S., Circetta, G., Fortunato, I. M., "Chemical characterization of essential oils of some *Origanum vulgare* L. sub-species of various origin". *Rivista Italiana EPPOS*, **16**, (1995), 21.

[62] Sivropoulou, A., Papanikolaou, E., Nikolaou, C., Kokkini, S., Lanaras, T., Arsenakis, M., "Antimicrobial cytotoxic activities of *Origanum* essential oils", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **44**, (1996), 1202.

[63] Bocchini, P., Russo, M., Galletti, G. C., "Pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry used as microanalytical technique for the characterization of *Origanum heracleoticum* from Calabria, Southern Italy". *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, **12**, (1998), 1555.

[64] Skoula M., Gotsiou P., Naxakis G., Johnson B. C., "A chemosystematic investigation on the mono- and sesquiterpenoids in the genus *Origanum* (Labiatae)", *Phytochemistry*, **52**, (1999), 649.

[65] Leto, C., Carrubba, A., Trapani, P., Taxonomy, ecology, properties and uses of *Origanum*, Atti del Convegno Internazionale, Coltivazione e miglioramento di piante officinali, Trento, Italy, 1994, 343.

[66] Lambert, R. J. W., Skandamis, P. N., Coote, P. J., Nychas, G. J. E., "A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol", *Journal of Applied Microbiology*, **91**, (2001), 453.

[67] Aligiannis, N., Kalpoutzakis, E., Mitaku, S., Chinou, I. B., "Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**, (2001), 4168.

- [68] Baser, K. H. C., Özek, T., Tümen, G., Sezik, E., "Composition of the essential oils of Turkish *Origanum* species with commercial importance", *J. Essent Oil Res*, **5**, (1993), 619.
- [69] Valnet, J., Duraffourd, C., Duraffourd, P., Lapraz, J.C., "The aromagram; new results and an attempt at interpretation of 268 clinical cases", *Plant Medica*, **12**, (1978), 43.
- [70] Deans, S.G., Svoboda, K. P., Gundidza, M., Brechany, E. Y., "Essential oil profiles of severe temperature and tropical aromatic plants: their antimicrobial and antioxidant activities", *Acta Horticulture*, **306**, (1992), 229.
- [71] Taasou, C. C., Koutsoumanis, K., Nychas, G. J. E., "Inhibition of *Salmonella enteritidis* and *Staphylococcus aureus* in nutrient broth by mint essential oil", *Food Research International*, **33**, (2000), 273.
- [72] Fleisher, A., Sneer, N., "Oregano spices and *Origanum* chemotypes", *J. Sci. Food Agric.*, **33**, (1982), 441.
- [73] Lawrence, B.M., "The botanical and chemical aspects of oregano", *Perf. & Flav.*, **9(5)**, (1984), 41.
- [74] Scheffer, J. J. C., Looman, A., Baerheim Svendsen, A., Sarer, E., "The essential oils of three *origanum* species grown in Turkey", In: progress in Essential oil Research, Ed. E. J. Brunke, Walter de, Gruyter, Berlin, 151.
- [75] Akgül, A., Bayrak, A., "Constituents of essential oils from *Origanum* species growing wild in Turkey", *Planta Med.*, (1987), 114.
- [76] Başer, K. H. C., Özek, T., Kürkçüoğlu, M., Tümen, G., "The essential oil *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* of Turkish origin", *J. Essent. Oil. Res.*, **6**, (1994), 31.
- [77] Sezik, E., Tabata, M., Yeşilada, E., Honda, G., Goto, K., Ikeshiro, Y., "Traditional medicine in Turkey. I. Folk medicine in Northeast Anatolia", *Journal of Ethnopharmacology*, **67**, (1991), 191.
- [78] Baytop, T., Türkiye'de Bitkiler İle Tedavi, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 1999, 3.
- [79] Baytop, T., Farmakognozi, 1, İstanbul Üniversitesi Yayınları, 3399, Ecz. Fak., 51, İstanbul, 1986, 156.

- [80] Berk, A., Esanslar (Eterik Yağlar), Hüsnu Tabiat Matbaası, İstanbul, 1953, 4.
- [81] Svirg, A.A., Silverstein, R.M., Monoterpenes: Infrared, Mass, ¹H-NMR and ¹³C-NMR Spectra and Kovats Indices, Aldrich Chemical Co., Milwaukee, Wisconsin, (1981).
- [82] Ceylan, A., Tıbbi Bitkiler II, Uçucu Yağ İçerenler, Ege Üniv. Ziraat Fak. Yay., 481, Ofset Basımevi, İzmir, 1987, 1.
- [83] Evans, W.C., Trease and Evans Pharmacognosy, Bailliere Tindall, London, 3th Ed., (1989), 424.
- [84] Guenther, E., The Essential Oils, Robert E. Krieger Publishing Company, Vol.1, Florida, 1972, 87.
- [85] Gammal, S.Y.E., Extraction of Volatile Oils Throughout History, Hamdard Medicus, 1991, 34.
- [86] Lawrence, B.M., The Isolation of Aromatic Materials From Natural Plants Product The UNIDO Workshop on Essential Oils and Aroma Chemicals Industries, Eskişehir, Turkey, 6-9 Nowember, 1955.
- [87] Erdik, E., Organik Kimyada Spektroskopik Yöntemler, Gazi Kitabevi, Ankara, 701.
- [88] Erdik, E., Obalı, M., Yüksekışık, N., Öktemer, A., Pekel, T. ve İhsanoğlu, E., Denel Organik Kimya, Erdik, E., Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Yayın., No:145, 93.
- [89] Ustaçelebi, Ş., Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Güneş Kitapevi, Ankara, 1999, 103.
- [90] Virella, G., Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları, Serter, D., Nobel Tıp Kitapevleri, İzmir, 1997, 85
- [91] Bilgehan, H., Klinik Mikrobiyoloji (Özet Bakteriyoloji), Barış Yayınları, İzmir, 2000.
- [92] Odds, F. C., Van Nuffel, L., Dams, G., "Prevalence of *Candida dubliniensis* isolates in a yeast stock collection", *Journal of Clinical Microbiolgy*, 36, (1998), 2896.

[93] Hasenekoğlu, İ., Toprak Mikrofungusları, 1, Atatürk Üniversitesi Yayınları, 689, Erzurum, 1991, 107.

[94] Hasenekoğlu, İ., Toprak Mikrofungusları, 5, Atatürk Üniversitesi Yayınları, 689, Erzurum, 1991, 118.

[95] NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). Performance Standards for Antimicrobial Disc Susceptibility Test, 6th ed., Approved Standard, M2-A6. NCCLS, Wayne, PA., 1997.

[96] Dharmaraj, N., "Ruthenium (II) complexes containing bidentate Schiff base and their antifungal activity", *Transition Metal Chemistry*, **26**, (2001) 105.

[97] Baudoux, D., "Antiviral and antimicrobial properties of essential oils", <http://www.aromabar.com/articles/aud.55.htm>

[98] Kim, J., Marshall, M. R., Wei, C., "Antibacterial activity of some essential oil components against five food-born pathogens", *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **43**, (1995), 2839.

[99] Demirci, F., Biyoaktif Monoterpenlerin Mikrobiyal Transformasyonu, Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognozi Anabilim Dalı, Eskişehir, 2000.

[100] Vardar-Ünlü, G., Candan, F., Sökmen, A., Daferera, D., Polssiou, M., Sökmen, M., Dönmez, E., Tepe, B., "Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extracts of *Thymus pectinatus* Fisch. et. Mey var. *pectinatus* (Lamiaceae)", *J. Agr. Food Chem.*, **18**, (2002), 4.

[101] Consentino, S., Tuberosa, C. I. G., Pisano, B., Satta, M., Mascia, V., Arzedi, E., "Palmas, F., "In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils", *Lett. Appl. Microbiol.*, **29**, (1999), 130.

[102] Ultee, A., Slump, R. A., Steginig, G., Smid, E. J., "Antimicrobial activity of carvacrol toward *Bacillus cereus* on rice", *Journal of Food Protection*, **63**, (2000), 620.

[103] Didry, N., Dubreuil, L., Pinkas, M., "Antimicrobial activity of thymol, carvacrol and cinnamaldehyde alone or in combination" *Pharmazie.*, **48**, (1993) 301.

- [104] Reddy, M. V. B., Angers, P., Gosselin, A., Arul, J., "Characterization and use of essential oil from *Thymus vulgaris* against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* in strawberry fruits", *Phytochem.* **47**, (1998), 1515.
- [105] Knobloch, K., Pauli, A., Iberl, B., Weigand, H., Weiss, N., "Antibacterial and antifungal properties of essential oil components", *J. Essent. Oil Res.*, **1**, (1989), 119.
- [106] Caccioni, D. R. L., Guizzardi, M., "Inhibition of germination and growth of fruit and vegetable postharvest pathogenic fungi by essential oil components", *J. Essent. Oil Res.*, **6**, (1994), 173.
- [107] Ali-Shtayeh, M. S., Al-Nuri, M. A., Yaghmour, R. M. R., Faidi, Y. R., "Antimicrobial activity of *Micromeria nervosa* from the Palestinian area", *J. Ethnopharmacol.*, **58**, (1997), 143.
- [108] Tawil, G. G., Yousef R. T., "Activity of volatile oil components against *Candida albicans*", *J. Pharm. Sci.*, **2**, (1988), 23.
- [109] Chalchat, J. C., Garry, R. P., Bastide, P., Fabre, F., Malhuret, R., "Chemical composition correlation/antimicrobial activity. Comparison of two methods for determining MIC", *Plant Med. Phytother.*, **25**, (1991), 184.
- [110] Helander, I. M., Alakomi, H. L., Lavta-Kala, K., Mattilat-Sandholm, T., Pol, I., Smid, E. J., Gorris, L. G. M., Von Wright, A., "Characterisation of the action of selected essential oil components on gram-negative bacteria", *J. Arg. Food. Chem.*, **46**, (1998), 3590.
- [111] Hinou, J. B., Harvala, C. E., Hinous, E. B., "Antimicrobial activity screening of 32 common constituents of essential oils", *Pharmazie*, **44**, (1989), 302.
- [112] El-Said, F., Sofowora, E. A., Malcolm, S. A., Hofer, A., "An investigation in to the efficacy of *Ocimum gratissimum* as used in Nigerian Native Medicine", *Planta Med.*, **17**, (1969), 195.
- [113] Katsuda, Y., "Antimicrobial effects of essential oils and aromatic componenets against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*", *Aromatopia*, **10**, (1995), 74.

[114] Juven, B. J., Kanner, J., Schved, F., Weisslowicz, H., "Factors that interact with the antibacterial action of *Thyme* essential oil and its active constituents", *J. Appl. Bacterol.*, **76**, (1994), 626.

[115] Akgül, A., Kıvanç, M., "Inhibitory effects of selected Turkish spices and *Oregano* componenets on some food-borne fungi", *Int. J. Food Microbiol.*, **6**, (1988), 263.

[116] Thompson, D. P., "Fungi toxic activity of essential oil components on food storage fungi", *Mycologia*, **81**, (1989), 151.

[117] Crippa, A., Bruno, E. "Antifungal activity *in-vitro* of phenols and other natural substances", *Eco. Nat. Ecol.*, **7**, (1989), 29.

[118] Tripathi, S. C., Singh, S. P., Dube, S., "Studies on antifungal properties of essential oil of *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague", *J. Phytopathol.*, **116**, (1986), 133.