T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Picea orientalis (L.) Peterm. ve *Picea abies* (L.) H. Karst.'dan ELDE EDİLEN UÇUCU YAĞLARIN GC-MS ANALİZİ VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ

Yasemin KOCA

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

YÜKSEK LİSANS TEZİ
ORMAN MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

KASTAMONU - 2019

TEZ ONAYI

Yasemin KOCA tarafından hazırlanan "***Picea orientalis* (L.) Peterm. ve *Picea abies* (L.) H. Karst.'dan Elde Edilen Uçucu Yağların GC-MS Analizi ve Antimikrobiyal Aktiviteleri**" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde savunulmuş ve **oy birliği** ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Orman Mühendisliği Ana Bilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman	Dr. Öğr. Üyesi Kerim GÜNEY Kastamonu Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Fatmagül GEVEN Ankara Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Dr. Öğr. Üyesi Mahmut GÜR Kastamonu Üniversitesi	.....

01/07/2019

Enstitü Müdürü Prof. Dr. Hasbi YAPRAK .....

TAAHHÜTNAME

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



Yasemin KOCA

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Picea orientalis (L.) Peterm.ve *Picea abies* (L.) H. Karst'dan ELDE EDİLEN UÇUCU YAĞLARIN GC-MS ANALİZİ VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ

Yasemin KOCA
Kastamonu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Orman Mühendisliği Ana Bilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Kerim GÜNEY

Bu çalışmada, *Picea orientalis* ve *Picea abies* bitkilerinden su buharı distilasyonu yöntemi ile uçucu yağlar elde edilmiştir. Bu uçucu yağların patojen mantar ve bakteriler üzerindeki antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır.

Bitkilerden elde edilen uçucu yağlar patojen *Bacillus subtilis, Enterococcus durans, Enterococcus faecium, Enterococcus faecalis, Klebsiella pneumoniae, Listeria monocytogenes, Listeria innocua, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Escherichia coli, Enterobacter aerogenes, Salmonella typhimurium, Salmonella kentucky, Salmonella infantis, Salmonella enteritidis, Serratia marcescens, Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas fluorescens* ve *Candida albicans* üzerinde test edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Picea orientalis*, Doğu Ladini, *Picea abies*, Avrupa Ladini, Antimikrobiyal, Uçucu yağ, GC-MS

2019, 43 sayfa
Bilim Kodu: 1205

ABSTRACT

MSc. Thesis

GC-MS ANALYSIS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF ESSENTIAL OILS OBTAINED FROM *Picea orientalis* (L.) Peterm. and *Picea abies* (L.) H. Karst.

Yasemin KOCA
Kastamonu University
Institute of Science
Department of Forest Engineering

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Kerim GÜNEY

Abstract: In this study, essential oils were obtained by water vapor distillation method from *Picea orientalis* and *Picea abies* plants. The antimicrobial effects of these essential oils on pathogenic fungi and bacteria were investigated.

Essential oils obtained from plants were tested on pathogen *Bacillus subtilis, Enterococcus durans, Enterococcus faecium, Enterococcus faecalis, Klebsiella pneumoniae, Listeria monocytogenes, Listeria innocua, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Escherichia coli, Enterobacter aerogenes, Salmonella typhimurium, Salmonella kentucky, Salmonella infantis, Salmonella enteritidis, Serratia marcescens, Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas fluorescens* and *Candida albican*s.

Key Words: *Picea orientalis*, Oriental spruce, *Picea abies*, Norvey spruce Antimicrobial, Essential Oil, GC-MS

2019, 43 pages
Science Code: 1205

TEŞEKKÜR

Yüksek lisansım boyunca değerli bilgilerinden, tezimin gerçekleşmesinde verdiği destek ve sağladığı olanaklardan, eğitim sürecim boyunca kendimi geliştirmemde sağladığı yardım ve desteklerinden, her zaman bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, değerli fikirlerini benimle paylaşan ve literatürleri temin etmemi sağlayan değerli hocam ve danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Kerim GÜNEY'e teşekkürü bir borç bilirim.

GC-MS analizlerin yorumlanmasında desteğini esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Mahmut GÜR hocama, laboratuvar imkanlarından yararlandığım Doç. Dr. Talip ÇETER hocama ve tezimin tamamına katkı sağlayan değerli hocam Prof. Dr. Fatmagül GEVEN'e ardından tezimle ilgili emeklerinden dolayı Esma Sena PATTABANOĞLU'na teşekkür ederim.

Bu günlere gelmemi sağlayan üzerimden desteğini hiç esirgemeyen annem Melahat TEKŞEN'e hakkını asla ödeyemeceğim babam Muharrem TEKŞEN'e sevgili abim Ahmet TEKŞEN'e canım ablam Meryem KİBAROĞLU'na ardından her zaman yanımda olan eşim Vahit KOCA'ya ve hiçbir zaman yardımını esirgemeyen can dostum Belma BERBER'e ve Seda BALCI'ya çok teşekkür ederim.

Yasemin KOCA
Kastamonu, Haziran, 2019

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ ONAYI	ii
TAHHÜTNAME	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
FOTOĞRAFLAR DİZİNİ	ix
TABLOLAR DİZİNİ	x
GRAFİKLER DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Geleneksel Tıp ve Bilinen Bazı Bitkilerin Çeşitli Hastalıklar Üzerinde Kullanılması	1
1.2. Pinaceae (Çamgiller) Ailesi	3
1.2.1. *Picea orientalis* (L.) Peterm.	3
1.2.2. *Picea abies* (L.) H. Karst	4
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR	6
3. MATERTAL VE METOT	11
3.1. Materyal	11
3.1.1. Bitki Materyali	11
3.1.2. Mikrobiyal Materyal (Mantar ve Bakteriler)	11
3.2. Yöntem	12
3.2.1. Mikroorganizmaların Temini ve Hazırlanması	12
3.2.2. Bitki Taksonlarının Temini ve Uçucu Yağın Elde Edilmesi	12
3.2.3. GC-MS Analizi	19
3.2.4. Antimikrobiyal Etkinlik	20
3.2.4.1. *Mikroorganizmaların hazırlanması*	20
3.2.4.2. *Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK)*	20
3.2.4.3. *Minimum bakterisidal/fungisidal konsantrasyon (MBK, MFK)*	21
4. BULGULAR	22

4.1. GC-MS Bulguları 22
4.1.1. Doğu Ladin'ine ait GC-MS Bulguları 22
4.1.2. Avrupa Ladin'ine ait GC-MS Bulguları 22
4.2. Uçucu Yağların Antimikrobiyal Etkinliği 27
4.2.1. Bitki Örneklerine ait Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) Değerleri ve Minimum Bakterisidal/Fungisidal Konsantrasyon (MBK, MFK) Değerleri. 27
4.2.2. Bitki Örneklerine ait Minimum Bakterisidal/Fungisidal Konsantrasyon (MBK, MFK) Değerleri. 28
4.2.3. *Picea orientalis* (L.) Peterm.'e ait MİK Değerleri 29
4.2.4. *Picea orientalis* (L.) Peterm.ait MBK, MFK Değerleri..... 30
4.2.5. *Picea abies* (L.) H. Karst'a ait MİK Değerleri 32
4.2.6. *Picea abies* (L.) H. Karst'a ait MBK, MFK Değerleri 33
5. TARTIŞMA 35
5.1. GC-MS Sonuçların Değerlendirilmesi 35
5.2. Antimikrobiyal Sonuçların Değerlendirilmesi 37
6. ÖNERİLER VE SONUÇ 40
KAYNAKLAR 41
ÖZGEÇMİŞ 43

FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

		Sayfa
Fotoğraf 3.1.	*Picea orientalis* (L.) Peterm.	13
Fotoğraf 3.2.	Araziden toplanmış örnekler.	14
Fotoğraf 3.3.	Örneklerin hazırlanması.	14
Fotoğraf 3.4.	Ayıklanmış örnekler.	15
Fotoğraf 3.5.	Bitki öğütme makinesi	15
Fotoğraf 3.6.	Clevenger uçucu yağ çıkarma cihazı.	16
Fotoğraf 3.7.	Clevenger cihazı uçucu yağı toplama kısmı.	16
Fotoğraf 3.8.	Clevenger cihazında örneklerden uçucu yağ elde edilmesi	17
Fotoğraf 3.9.	Bakteri üretim etüvü.	17
Fotoğraf 3.10.	Bakteri üretim etüvü.	18
Fotoğraf 3.11.	Steril kabin.	18
Fotoğraf 3.12.	*Picea orientalis* uçucu yağı.	19
Fotoğraf 4.1.	*Picea orientalis* MİK uygulaması.	30
Fotoğraf 4.2.	*Picea orientalis* MBK, MFK uygulaması.	31
Fotoğraf 4.3.	*Picea abies* MİK uygulaması.	33
Fotoğraf 4.4.	*Picea abies* MBK, MFK uygulaması.	34

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 3.1. Gram pozitif bakterilerin sınıflandırılması. 12
Tablo 3.2. Gram negatif bakterilerin sınıflandırılması. 12
Tablo 3.3. Bitki türleri, toplanma tarihi, kullanılan kısımları ve toplandığı yer. 13
Tablo 4.1. *Picea orientalis*'e ait GC-MS analizi. 24
Tablo 4.2. *Picea abies'*e ait GC-MS analizi. 26
Tablo 4.3. Bitki taksonlarına ait MİK değerleri µg/ml 27
Tablo 4.4. Bitki taksonlarına ait MBK, MFK değerleri µg/ml 28
Tablo 5.1. Dominant benzerlikler ve farklılıklar. 36
Tablo 5.2. Dünya genelinde yapılan bazı çalışmaların antimikrobiyal etkileri. . 39

GRAFİKLER DİZİNİ

Sayfa

Grafik 4.1. *Picea orientalis* ait uçucu yağın GC-MS kromatogramı. 23
Grafik 4.2. *Picea abies*'e ait uçucu yağın GC-MS kromatogramı. 25
Grafik 4.3. *Picea orientalis*'e ait MİK sonuçları. 29
Grafik 4.4. *Picea orientalis*'e ait MBK, MFK sonuçları. 31
Grafik 4.5. *Picea abies'e* ait MİK sonuçları. 32
Grafik 4.6. *Picea abies*'e ait MBK, MFK sonuçları. 34

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

%	Yüzde
°C	Santigrad derece
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
δ	Delta

Kısaltmalar

µL	Mikrolitre
ATTC	Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu
DSMZ	Alman Mikroorganizma ve Hücre Kültürleri Koleksiyonu
GC-MS	Gaz Kramatografisi-Kütle Spektrofotometresi
kg	Kilogram
m	Metre
MBK	Minumum Bakterisidal Konsantrasyon
MFK	Minumum Fungisidal Konsantrasyon
MİK	Minumum İnhibisyon Konsantrasyon
ml	Mililitre
MÖ	Milattan Önce
MS	Milattan Sonra
μg	Mikrogram

1. GİRİŞ

1.1. Geleneksel Tıp ve Bilinen Bazı Bitkilerin Çeşitli Hastalıklar Üzerinde Kullanılması

İnsanlar dünyanın varoluşundan bu yana bünyeleri gereği çeşitli hastalıklara maruz kalmışlar ve bu hastalıklarına kendi basit metodlarıyla ile şifa aramışlardır ve "geleneksel tıp" ya da günümüzdeki deyimiyle "alternatif tıp" olarak adlandırabileceğimiz çeşitli bitki kök, sap ya da gövdelerini kullanarak hastalıklarına çözüm arayaşına başlamışlardır. Yapılan araştırmalarda, tesadüf ya da merak sonucu elde ettikleri sonuçlarla şifa bulmaya çalışan insanoğlunun bu çabalarının M.Ö. 4000-5000'li yıllara kadar uzandığı bilinmektedir. Tabiki hastalıkların nedeni olan mikrop, virüs ya da bakteri gibi gözle görülmesi mümkün olmayan mikroskopik canlıların varlığı bilinmediğinden gözle görülen somut varlıklar olan bitkilerle kendi tedavi yöntemlerini bulmaya çalışmışlardır. Ellerinde bulunan mevcut imkanlarla deneme yanılma yöntemi ile farklı farklı otları kaynatmak suretiyle, çeşitli bitkileri de ezerek toz kıvamına getirip hastalıkları üzerinde denemişlerdir ve bilinen kaynaklara göre ilk kez bitkiler üzerine yazılmış eserleri Mısır'da Hindistan'da Roma'da ve Çin'de görürüz yine Mısırda milattanönceki yüzyıllarda bazı tıbbi aromatik otların,bitkilerin kültürünün yapıldığı görülmektedir.Bilim dünyasının gelişmesiyle yapılan araştırmalarda keten bitkisinin kültürünün yapıldığı mezar ve mağara duvarlarına çizilen resimlerde görülmüştür. Tıbbi aromatik bitkiler konusunda yazılı olarak kayıtlara geçen ilk belgede sayılabilecek Papyrus Ebers'in millattan once 1550'li yıllarda yazıldığı bilinmektedir. 700 Drog ile 811 reçete bulunmaktadır. Bu belgede hastalığın çeşidi, gerekli olan ilâç miktarı, hazırlanması, tıpkı günümüzdeki gibi açık ve doğru bir şekilde yazılmıştır. Eser, yazıldığı dönemle ilgili Mısır tıbbı hakkında geniş bilgi vermesi açısından oldukça önemlidir. Araştırmalar Mısırlıların *Mentha* x *piperita* L. (Nane), *Sinapis nigra* L. (Siyah hardal), *Cassia acutifolia* L. (Sinameki), *Papaver somniferum* L. (Haşhaş), *Urginea maritima* L. (Ada soğanı), *Datura stramonium* L. (Tatula) gibi tıbbi bitkileri kullanmış olduğunu göstermektedir. Kısacası eski uygarlıkların tıbbi bitkiler hakkındaki bilgilerini, günümüze kadar gelen yada bulunup tespit edilen kitabeler ve

arkeolojik materyallerden daha ilerleyen dönemlerde de yazdıkları eserlerden öğreniyoruz (URL-1). Yapılan çalışmalarda 250.000'den fazla çiçekli bitki türünün var olduğu tahmin edilmektedir. Tıbbi bitkilerin araştırılması, yararlarının fark edilmesi, toksisitesinin ortaya konulması ve bu toksisiteye karşı önlem alınması bu bitkilere olan önemi artırmaktadır (Hosseinzadeh vd., 2015). Uçucu yağlar bitkilerin generatif ve vejetatif organlarının tamamından sağlanabileceği gibi sadece tek bir organından da elde edilebilir. Bu yağların bitkide bulunduğu yerler salgı hücreleri salgı kanalları yada salgı tüyleri olabilir. Ayrıca epiderma ve parankima hücrelerinde de bulundukları saptanmıştır. Uçucu yağların protoplazmada oluştukları yada buradan kökenlendikleri tahmin edilmektedir. Protoplazmada oluşan uçucu yağların bitkilerin hücresel yaşamlarında aktif bir rolü olmadığı bilinmektedir. Bunların yaşamsal döngüdeki reaksiyonlar sonucu ortaya çıkan detoksifiye ürünler olduğu öne sürülmektedir. Bitkilerde yaralanma sonucu meydana gelen ve bitkinin kendi oluşturduğu reçine ve türevi kimyasalların çözünmesinde rol aldığı ortaya çıkarılmıştır. Bitkilerde bulunduğu organlara göre, fotosenteze yardımcı olarak yapraklarda, tozlaşmaya yardımcı olmak için de çiçeklerde yakalayıcı , tutucu etkiye sahiptirler (Ghimire vd., 2015).

Son yıllarda yapılan araştırma sonuçları göstermektedir ki tıbbi aromatik bitkiler ve bunların uçucu yağlarının farmösatik etkileri ve sağlık açısından faydaları hem bilimsel açıdan hem de ticari anlamda ciddi bir pazar payı olduğundan her anlamda çok önemlidir. Bir çok araştırma sonuçları göstermiştir ki elde edilen bulgulara göre bazı bitkilerin uçucu yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri vardır ve çeşitli hastalıkların tedavilerinde bu uçucu yağları kullanabilmek mümkündür. Uçucu yağlar ve kimyasal bileşenlerinin farmakolojik özellikleri araştırılarak kozmetik sektöründe ve tıpta, bazı endüstriyel alanlarda kullanım imkanın faydalı olabileceği düşünülmektedir (Kırbağ ve Bağcı, 2000).

Bu çalışmada *Picea orientalis* ve *Picea abies* bitkilerine ait uçucu yağlarını kimyasal bileşenleri ve antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır.

1.2. Pinaceae (Çamgiller) Ailesi

Pinaceae ailesi bitkiler aleminden Gymnospermler (Açık Tohumlular) şubesinden olup genellikle üyeleri bir cins, bir evciklidir.

1.2.1. *Picea orientalis* (L.) Peterm.

Kuzey yarım küre'de 40 farklı türü olan *Picea* sp.'nın (Ladin) Türkiyedeki türü olan *Picea orientalis* yanlızca Doğu Karadeniz bölgesinde doğal yayılışı olan ve 135.959 hektar alanda bulunan Doğu Ladini ülkemizdeki ağaç türleri dağılımında önemli bir sıraya sahip orman ağaçlarımızdan biridir (Eyüboğlu, 1989)

Picea orientalis'in yetiştiği yükseklik 550-2400 metre arasında değişmektedir ve Doğu Karadeniz Ormanlarında toplam 146.300 ha alanı kaplamaktadır (Çalışkan, 1998). Ülkemizdeki yayılışı Ordu Melet Irmağı ile başlar ve batı sınırını oluşturur. Daha doğuda Trabzon, Rize, Artvin ve Gümüşhane Toruluda içine alır ve Kafkaslara doğru bir uzanış gösterir.Karadenizin batısında görülmeyişinin sebebi yaz aylarında sislerin olmayışıdır. Bazı yerlerde tek veya birkaç ağaçlık kümeleri halinde deniz kıyısına kadar inmektedir fakat genellikle geniş kuruluş halinde 1.000 m yükseklikten sonra görülür.Çoğunlukla tek tabakalı olarak kuruluş gösteren ladin meşcereleri bazen çok tabakalı haldede görülebilir.Genellikle saf meşcereler kuran Doğu ladini bazen göknar, kayın ve sarıçamla'da karışım oluşturur (URL-2). Ladin ormanlarının ana yayılış alanlarında ormana en fazla katılan *Rhododendron* (Orman gülü)'dır. Ormangülü'nün dışında *Fagus orientalis* (Kayın)'de 1700 metreye kadar görülmektedir.Bunun yanında *Alnus glutinosa* (Kızılağaç), *Corylus avellana* (Fındık), *Betula pendula* (Huş), *Rosa canina* (Yabani gül) gibi ağaç, ağaççık, çalılar görülmektedir (Atalay, 1984).

Doğal yayılış alanında dondan zarar görmez ancak bazı yıllarda geç donlardan olumsuz etkilendiği tespit edilmiştir. Kuraklık zararı görüldüğü gibi sık ve bağımsız meşcerelerde fırtına, kar devirmesi ve kar kırması görülmüştür (Orman Genel Müdürlüğü, 2018).

Genelde 40-50 m, (-60 m) boy yapan, 1,5-2,0 metre çap yapabilen her dem yeşil bir ağaçtır. Dar tepeli bir ağaçtır. Kabuk genç gövdelerde acık ve düzgün, yaşlı gövdelerde koyu renkli ve çatlaklıdır. Sürgünler yoğun kısa yumuşak tüylüdür. Tomurcuk kahverengi, sivri ve reçinesiz olup üzerlerinde birkaç reçine damlacığı taşır; yaklaşık 0,4 cm boyundadır. Yaprakları, 6-11 mm, kut uclu, cilalı görünümlü ve koyu yeşildir. Enine kesitleri dört köşeli olup her yüzünde stoma bandı bulunur. Kırmızsı renklerdeki erkek çiçekler kozalakcık halinde, dişi çiçekler ise hafif morumsu menekşe rengindedir. Erkek kozalaklar oval ya da elips şeklinde, genelde yaklaşık 1 cm kadar olup çok sayıda pembe, kırmızsı ve pulludur. Dişi kozalaklar 7-10x1-3 cm, önceleri kimi ağaçlarda yeşil, kimilerinde koyu kırmızı renktedir. Olgun kozalak ise açık kiremit renginde, oval ya da silindirik yapıda, hemen hemen dairemsi olan kozalak pullarının uçları düz, yani tamdır. Bu özelliği ile kendisine çok benzeyen Avrupa ladininden kolayca ayırt etmek mümkündür. (Gökmen, 1970; Yaltırık, 1988; Anşin, 2001; Sarıbaş, 2008; Eckenwalder, 2009; Yıldız ve Aktoklu, 2010; Farjon, 2010). *Picea orientalis*'in endüstrideki kullanım alanları ise; selüloz ve kağıt sanayi, doğrama ve kaplamacılık, ambalaj sandığı, müzik aletleri yapımında kullanılır. *Picea orientalis* endüstriye olan katkılarının yanı sıra, insan sağlığı için de oldukça faydalı bir ağaçtır. Öksürük tedavisinde oldukça etkilidir. Aynı zamanda diş eti çekilmesi gibi ağız içi hastalıkların iyileşmesi ve sindirim sisteminin düzenlenmesinde ve bunların yanında balgam söktürücü özelliği nezle, grip gibi hastalıklarında kısa zamanda iyileşmesinde etkili bir rol oynar. Hoş kokulu bir ağaç olmasından dolayı parfümeri sektöründe de kullanılır. İbrelerinin tıbbi amaçlarla kullanımıyla önemli bir yere sahiptir. Bu faydalarından yararlanmak amacıyla ibreler herdem yeşil olduğundan 4 mevsim toplanabilir.

1.2.2. *Picea abies* (L.) H. Karst.

Picea abies Avrupa ladini, Norveç ladini, Yaygın ladin adıyla da bilinir. Fakat Avrupa ladini adıyla bilinse de Doğu Avrupa'da doğal olarak bulunmaz. *Picea abies* *Picea orientalis* gibi genelikle 40-50 metre boya ulaşabilmekte ve yüksek çap yapabilmektedir. Tepe tacı genel olarak konik gelişir. Kabuk gençken kahverengi, yaşlılarda ise daha koyu renkte olup küçük levhalar halinde çatlar. Genç sürgünler acık kahverenginde, çıplak ya da hafif tüylüdür. Tomurcuklar hafif konik, uçları sivri

ve reçinesizdir. Erkek çiçekler önceleri hafif kırmızı renginde, sonraları ise sarımsı renktedir. Dişi çiçekler çoğunlukla tepenin uç kısımlarında bulunur; ince ve yassı, kenarları tam değil, dişlidir. Tohum küçük, kahverengi ya da siyahtır. Çenek sayısı yaklaşık 5-10 kadardır. Olgun kozalaklar hemen hemen 10-15 cm boyunda ve silindiriktir. Kozalak pulları açık kahverengi ve uçları hafif dişlidir (Gökmen, 1970; Yaltırık, 1988; Anşin, 2001; Sarıbaş, 2008; Eckenwalder, 2009; Yıldız ve Aktoklu, 2010; Farjon, 2010).

Picea abies'in kök sistemi genel olarak yayvandır. Sıcaklık isteği az, nem isteği yüksekdir. Yaz kuraklığına ve zehirli gazlara karşı çok duyarlıdır. Kışları soğuk kara içi iklimlerin ağacıdır. Şiddetli rüzgarın olduğu yerlerde rüzgardan zarar görür ve ağaçta kırılmalar ya da devrilmeler görülebilir . Budamaya yatkındır yeşil perde çit tesisinde kullanılır (URL-3). Diğer kullanım alanları ise direk, travers, kibrit, ambalaj ve mobilya,yapı malzemesi, kurşun kalem, doğrama, lif, yonga levha, kağıt ve selüloz sanayisinde müzik aletleri yapımında kullanılır. Kerestesi çok sağlam olduğu için merdiven, gemi direği, kutu yapımında da kullanılır aynı zamanda reçine üretimi de yapılabilmektedir.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

Uçucu yağlar genellikle sıvı halde bulunan, güçlü koku ve uçucu madde içeren, suda çözünmeyen fakat sudan daha hafif ve yoğunlukları 0,8-1,3 arasında olan, su buharı distilasyonu ile bitkilerin vejetatif ve generatif organlarından elde edilen, açıkta bırakıldığında buharlaşan, tıbbi ve sağlık amaçlı aromaterapi, kozmetik, ilaç vb. gibi alanlarda kullanılan antioksidan, antimikrobiyal özellikleri olan maddelerdir.

Bitkilerin uçucu yağları uzun yıllardan beri süre gelen değişik kullanım amaçlarına yönelik ve özellikle bilimsel olarak ve ticari olarak birçok alanda kullanılmaktadır. Bu kullanım alanlarının başında ilaç, gıda kozmetik sanayi, fitoterapi ve aromaterapi gelmektedir (Hammer, Carson ve Riley, 1999).

Uçucu yağlar, bitkilerin kabuk, çiçek, meyve, yaprak, rizom odun ve odunun reçinesi bölümlerinden farklı yöntemlerle eldesi sağlanan, çoğunlukla min. 18 °C – max. 25 °C'larda sıvı halde bulunan, keskin kokulu, uçucu su buharı ile taşınabilen birleşimlerdir. (Karapınar ve Aktuğ, 1986; Korukluoğlu vd., 2005). Bu yağların bitkide neden salgılandığı tam anlamda bilinmemekle beraber bitkinin yaralanmalarda oluşan reçinesi için çözücü olarak görev gördüğü düşünülmektedir. (Berk, 1953). Buna ek olarak etrafa yaydıkları kokularla bazı böcekleri cezbedip üzerlerine çekerek polenleşme oluşumunu kolaylaştırdıkları ya da bunun tam aski yönde etki yapıp böcekleri uzaklaştırarak bitkinin korunmasına yardım ettiği sanılmaktadır (Evans, 1996).

Uçucu yağlar çok fazla kullanım alanına sahip olduğu için özellikle son zamanlarda birçok bilim adamının dikkatini çekmiş ve bu uçucu yağların kimyasal yapıları araştılırılarak biyolojik aktiviteleri merak konusu olmuştur. Bu araştırmalar sonucunda doğal ürünlerin özellikleri uygulamaya konulmuştur (Mouhssen, 2004). Günümüzde tıbbi aromatik bitkilerin ve bu bitkilere ait uçucu yağların saf ve özellikle birincil etken maddelerinin elde edilip değerlendirilmesi hem bilim dünyası açısından hem de ekonomik açıdan oldukça mühimdir. Araştırmalarda elde edilen sonuçlar, bu bitkilerin uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitelerinin olduğunu göstermektedir. Hem uçucu yağların hemde bileşenlerinin farmakolojik özellikleri de

araştırılılarak tıp, endüstiryel ve kozmetik alanlarda kullanılabilme imkânlarının olabileceği belirtilmektedir (Kırbağ ve Bağcı, 2000).

Eryılmaz, Tosun ve Tümen (2016) Pinaceae ve Cupressaceae Familyalarına ait bazı türlerin antimikrobiyal aktivitelerinin incelenmesi adlı çalışmalarında, Türkiye'den toplanan Pinaceae ve Cupressaceae familyalarına ait bazı türlerin, eterli ekstrelerinin antimikrobiyal aktivitelerinin araştırmışlardır. Çalışmalarında Pinaceae familyasına ait olan *Pinus nigra, P. brutia, P. halepensis, Abies equi-trojani, A. bornmulleriana, A. cilicica, A. nordmanniana, Cedrus libani* ve *Picea orientalis* türlerinin ve Cupressaceae familyasına ait olan *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus, J. foetidissima, J. excelsa, J. phoenicea, Cupressus sempervirens* var. *pyramidalis* ve *C. sempervirens* var. *horizontalis* türlerinin ekstrelerini *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA), *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* RSKK 574 ve *Candida albicans* ATCC 10231'a karşı disk difüzyon yönteminde test etmişlerdir. Çalışmanın sonunda *A. bornmulleriana*, *C. libani* ve *P. halepensis*'in test mikroorganizmaları üzerinde antimikrobiyal aktivitesi saptanmazken; diğerlerinin çeşitli bakterilere karşı zayıf antibakteriyel etki gösterdiği ancak *C. albicans*'a karşı hiç aktivite göstermediği belirlemişlerdir.

Bu çalışmalarında *P. orientalis* (L.) Peterm.'in *Bacillus subtilis* ve *Candida albicans*'a karşı antimikrobiyal özellikler göstermediğini fakat *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Escherichia coli, Klebsiella pneumonia, Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı antimikrobiyal özellikler gösterdiğini bulmuşlardır.

Metsämuuronen ve Siren (2014) yılında yaptıkları Finlandiyada baskın olarak bulunan ağaçların antimikrobiyal bileşikleri adlı çalışmalarında *Picea abies, Betula pendula, Pinus sylvestris* ağaçlarının gövde, kök, ibre, yaprak ve kabuklarından aldıkları örneklerde, patojenlere karşı antibakteriyel aktivite gösteren çok sayıda faydalı bileşikler içerdiğini söylemişlerdir ve çalışmalarının sonunda fenolik ekstreler ve esansiyel yağların her ikiside çeşitli maddelere karşı bakteriyostatiktir. *B. cereus, S. aureus* ve *L. monocytogenes* gibi Ana bireysel antibakteriyel fenolik

bileşikler *P. slyvestris*'in patojenlerin büyümesini etkili bir şekilde engelleyen pinosilvinlerdir (*B. cereus, S. aureus ve L. monocytogenes*). Diğerinden fenolik bileşiklerin lignalarının en az bakteriyostatik olduğu görülmüştür ve flavonoidler daha düşük olan glikozile edilmiş formlar olarak ortaya çıkma eğilimindedir. Aglikonlarından daha antibakteriyel aktivitedir. Gram pozitif bakteriler bitki biyoaktif bileşiklerine karşı genellikle gramnegatif bakterilerden daha hassas oldukları sonucuna ulaşmışlardır.

Salem, Zeidler, Böhm, Mohamed ve M. Ali (2015) çalışmalarında, *Pinus sylvestris, Abies alba, Picea abies* ve *Larix decidua* ağaçlarının odunundan ve kabuğundan elde edilen yağ ekstratlarının GC/MS analizi çalışmasında; *Picea abies* için odunu için örnek yağ miktarı 0,90 ml/100 g ve kabuğu için 2,60 ml/100 g'dır. *Picea abies* odunundan elde edilen yağ %95,28 oranında 16 bileşik *Picea abies* temsil etmiş ve ana bileşikler 4-hidroksi-4-metil-2-pentanon (%29,42), bir cedrol (%26,98), 3-karen (%6,08), terpinen-4-ol (%5,42), a-humulen (%3,79), izopulegol asetat (%3,76) ve thujopsen (%2,85) olarak tanımlanmıştır. *Picea abies* kabuk yağı ekstraktlarında tanımlanan yirmi üç bileşik, %91,95 oranında *Picea abies* temsil etmiştir ve ana bileşenler; di (2-etilheksil) ftalat (%30,91), sikloheksan (%12,89), karyofilen oksit (%8,90), a-pinen (%4,59), geranil-linalool (%3,66), thunbergol (%3,52), 3-metilheksan (%2,85) ve dehidroabetik asit (%2,67) olarak bulmuşlardır.

Tanase, Boz, Oroian, Coşarca, Toma, Mare ve Man (2018) *Picea abies*'in *Escherichia coli*'ye karşı antibakteriyal etkileri adlı çalışmalarında; *Escherichia coli*, Gram-negatif bakteriyel patojenlerin en yaygınlarından biridir ve hastane, toplum kökenli enfeksiyonların bir sebebi olduğunu ve bazı şifalı bitkilerin, alternatif, yararlı antibakteriyel maddelerin zengin kaynakları olduğunu söylemişlerdir.

Avrupa Ladini'nin kabuğunun polifenolik ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri, *Escherichia coli*'nin büyümesini önleme kapasiteleri açısından incelemişler ve Ladin kabuğu ekstresi, geleneksel sulu özütleme ile ve ultrason ile elde ederek Minimum inhibitör konsantrasyon, mikrodilüsyon yöntemi ile belirlemişlerdir. Her iki ekstraktın antibakteriyel etkiside *Escherichia coli*'ye karşı güçlü olduğunu, Polifenolik özütlerin *Escherichia coli* üzerindeki antimikrobiyal etkisini 15 mg/ml

konsantrasyonda ifade etmişlerdir. Ladin kabuğu bileşiklerinin antimikrobiyal aktivitesi, ladin kabuğunun farmasötik preparatlarda olası bir kullanımı olduğunu göstermektedir diyerek *Picea abies*'in *E. coli'*ye karşı ve günümüzde birçok hastalığa sebep olan patojenlere karşıda daha farklı bilimsel çalışmalar yapılarak ilerleyen zamanlarda ilaç sektöründe doğal bitkilerinde yer alacağını öne sürmüşlerdir.

Sarıboğa ve Korkmaz (2002) bazı bitkilerin antimikrobiyal aktivitelerinin in vitro incelenmesi adlı çalışmalarında; *Picea orientalis, Mentha spicata* (nane), *Hypericum perforatum* (binbirdelik otu), *Satureja hortensis* (sater), *Origanum vıdgare* (guvey otu, keklik otu), *Origanum laevigatum* (keklik otu), *Thymus leucotrichus* (kekik), *Urticia diocia* (ısırgan otu) bitkilerinden elde edilen ekstreler ile *Picea orientalis* reçinesinin in vitro antimikrobiyal aktiviteleri araştırmışlar ve bitkilerin yapraklarını %98'lik etanol kullanılarak ekstraksiyon ettikden sonra çözücü vakum pompasında uzaklaştırmışlardır. *Picea orientalis*'in reçinesini ise doğrudan çözdürmüşlerdir. Bütün bitki ekstrelerinin Etanol, Metanol, Dimetilstilfoksit, Karbon tetraklorur ve su olmak üzere beş değişik çözeltisi ve bu çözeltilerin 100, 150 ve 200 µg olmak üzere üç farklı konsantrasyonu hazırlayarak ekstrelerin antimikrobiyal aktivitelerini disk difuzyon metoduna göre tayin etmişlerdir. Çalışmalarında, *Candida albicans* (KUEN 1475), *Proteus vulgaris* (KUEN 1329), *Bacillus subtilis* (KUEN 16 II D-75), *Streptococcus pyogenes* (KUEN 719), *Escherichia coli* (W3110), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 28753) ve *Staphylococcus aureus* (ATCC 46300) olmak üzere bir mantar ile altı çeşit bakteri suşları kullanmışlardır ve çalışmalarının sonucunda bitki ekstrelerinin üc farklı konsantrasyonu denemişlerdir ve konsantrasyon arttıkça inhibisyon zon çapının da arttığı gözlemlemişlerdir. Boğaz enfeksiyonlarına neden olan *S. aureus* bakterisinde *S. hortensis, O. vulgare, M. spicata* ve *O. laevigatum* ekstrelerinin ampisilinden daha etkili olduğu görmüşlerdir. Polar çözücülerdeki ekstreler apolar çözücüdülerdekine göre daha fazla inhibisyon zon capı oluşturduğunu çalışmaları sonucunda söylemişlerdir.

Radulescu vd., (2011); *Picea abies*'nin uçucu yağının kimyasal bileşenleri ve antimikrobiyal etkileri adlı çalışmalarında 900-950 metre rakımdan 20-30 yaşları arasında değişen *Picea abies*'lerden yaklaşık 5-6 cm uzunluğunda toplanan ibrelerin

yağları ve Romanyanın değişik bölgelerinde yetişen 4 yabani ibreli ağacının ibreleri sudistilasyonu yöntemi ile çıkarılmış ve elde edilen uçucu yağları *Esherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Proteus vulgaris, Bacillus cereus, Candida albicans, Aspergillus niger,* bakteri ve mantarlarına karşı disk difüzyon metodu ile test edilmiştir.Araştırma sonucunda en belirgin inhibitör etkiyi gram pozitif bakteriler ve mantar suşlarına *(A. niger, C. abicans*) karşı görüldüğü sonucuna ulaşmışlardır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki Materyali

Bu araştırmada, Kastamonu il sınırları içinden toplanmış *Picea orientalis* ve *Picea abies* bitkilerinden elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimi ve antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır. Bu örneklerden *Picea orientalis* (Doğu Ladini) ve *Picea abies* (Avrupa Ladini) Kastamonu merkez park bahçelerinden (750-850m) aralığından toplanmıştır.

3.1.2. Mikrobiyal Materyal (Mantar ve Bakteriler)

Bu araştırmada kullanılan Gram pozitif bakteri suşları şunlardır;

1. *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048)
2. *Salmonella infantis*
3. *Listeria monocytogenes*
4. *Klebsiella pneumoniae*
5. *Pseudomonas aeruginosa* (DSMZ 50071)
6. *Pseudomonas fluorescens*
7. *Salmonella kentucky*
8. *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212)
9. *Listeria innocua*
10. *Salmonella enteritidis* (ATCC 13075)
11. *Enterococcus durans*
12. *Salmonella typhimurium*
13. *Candida ablicans* (DSMZ 1386)
14. *Enterococcus faecium*
15. *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)
16. *Staphylococcus epidermidis* (DSMZ 20044)
17. *Bacillus subtilis* (DSMZ 1971)
18. *Escherichia coli* (ATCC 25922)
19. *Saratia marrescens* (ATCC 13048)

Tablo 3.1. *Gram pozitif bakterilerin sınıflandırılması*

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

Tablo 3.2. *Gram negatif bakterilerin sınıflandırılması*

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

3.2. Yöntem

3.2.1. Mikroorganizmaların Temini ve Hazırlanması

Bu araştırmada kullanılan mikroorganizmalar (mantar suşu ve bakteri suşları) Kastamonu Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir.

3.2.2. Bitki Taksonlarının Temini ve Uçucu Yağın Elde Edilmesi

Bu araştırmada uçucu yağları çalışılan bitki türleri, toplandığı alanların konumu, kullanılan kısımları ve toplanma tarihleri Tablo 3.3.'de gösterilmiştir. Toplanılan bitkiler herbaryum örnekleri hazırlanmak suretiyle, teşhisleri Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dr. Öğr. Üyesi Kerim GÜNEY tarafından gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.3. *Bitki türleri, toplanma tarihi, kullanılan kısımları ve toplandığı yer*

Bitki İsmi	Toplanma Tarihi	Kullanılan Kısım	Toplandığı Yer	GPS
Picea orientalis	21.09.2018	İbre	Kastamonu	41° 23' 19" 33° 46' 44"
Picea abies	21.09.2018	İbre	Kastamonu	41° 22' 35" 33° 46' 38

Tablo 3.3'de gösterilen bitki türleri belirtilen tarihlerde toplanmıştır. Ardından kullanılacak kısımları ayıklanarak, güneş görmeyen bir yere serilerek 1 hafta boyunca kurumaya bırakılmıştır. 1 hafta sonra ise su buharı distilasyonu yöntemiyle (Clevenger cihazıyla) uçucu yağları çıkarılmıştır. Çıkarılan yağlar buzdolabında +4^{o}C'de saklanmıştır. Yaklaşık 6-7 gün sonrasında mikrobiyal testlerinin çalışmaları yapılmıştır.



Fotoğraf 3.1. *Picea orientalis*



Fotoğraf 3.2. Araziden toplanmış örnekler *(Picea orientalis*)



Fotoğraf 3.3. Örneklerin hazırlanması



Fotoğraf 3.4. Ayıklanmış örnekler



Fotoğraf 3.5. Bitki öğütme makinesi



Fotoğraf 3.6. Clevenger uçucu yağ çıkarma cihazı



Fotoğraf 3.7. Clevenger cihazı uçucu yağı toplama kısmı



Fotoğraf 3.8. Clevenger cihazında örneklerden uçucu yağ elde edilmesi

Picea orientalis ve *Picea abies* bitkilerinden Clevenger Cihazı ile su buharı distilasyonu yöntemiyle uçucu yağ elde edilirken tespit edilmiş görüntü Fotoğraf 3.6. ve Fotoğraf 3.8.'de verilmiştir.



Fotograf 3.9. Bakteri üretim etüvü



Fotoğraf 3.10. Bakteri üretim etüvü



Fotoğraf 3.11. Steril kabin

Picea orientalis ve *Picea abies*'in uçucu yağ verimliliği açısından %0,30 civarındadır (Fotoğraf 3.6.).



Fotoğraf 3.12. *Picea orientalis*'ten çıkan uçucu yağ

3.2.3. GC-MS Analizi

GC-MS analizi, GC (Gaz Kromatografi) ve MS (Kütle Spektrometresi) ünitelerinin birlikte çalıştırılmasıyla kimyasal kompozisyonun tespiti ve miktar tayininde kullanılan bir yöntemdir. Bu çalışmada clevenger cihazı ile bitkilerden elde edilen uçucu yağlara ait numuneler ayrı ayrı Rtx-5MS kapiler kolon ile donatılmış GCMS QP2010 Ultra (Shimadzu) ile analizleri yapılmıştır (30m x 0,25 mm x 0,25 µm). Analitik koşullar: enjektör sıcaklığı 250°C, 1 ml/dk olarak taşıyıcı gaz Helyum, enjeksiyon modu: split oranı 1:10; enjekte edilen hacim: heksan içinde çözünmüş yağ 1 µl; ve fırın sıcaklığı 4°C/dk olarak 40°C'den 240°C'ye göre programlanmıştır, basınç: 100 kPa, tahliye akımı:3 ml/dk şeklindedir. Kullanılan MS tarama koşulları, transfer hattı sıcaklığı 250°C, ara birim sıcaklığı 250°C, iyon kaynağı sıcaklığı 200°C olarak belirlenmiştir. Bileşiklerin belirlenmesi; Wiley Veri tabanı eşleştirmesi ve alıkoyulma süresinin karşılaştırılmasına dayandırılmaktadır. Mümkün olduğunda, referans bileşenleri GC alıkoyulma sürelerini onaylamak için gaz kromatografisi alınmıştır.

3.2.4. Antimikrobiyal Etkinlik

3.2.4.1. Mikroorganizmaların hazırlanması

Antimikrobiyal duyarlılık testlerin uygulamasında hazırlanan bakteri süspansiyonlarında bakterinin belirli sayıda olması beklenir. Bakterilerin numunen tüplerinde hazırlanan %0,9'luk serum fizyolojikteki sayıları ile paralel oluşturduğu bulanıklığın McFarland baryum sülfat bulanıklık standartları ile karşılaştırılıp eşitlenmesiyle, yapılan çalışmanın standart ve tekrarlanabilir değerlendirmenin yapılması amaçlanmaktadır. Çalışmada kullanılacak bakteri suşlarından inokulum hazırlık aşamalarında, katı Nutrient Agar besiyerinde 24 saat geliştirilmiş bakteri ve mantar kültürlerinden aynı görünümlü saf koloniler steril öze ile alınarak steril numune tüpünde bulunan yine steril serum fizyolojik içine aktarılmıştır. Hazırlanan bakteri ve mantar örneklerin bulanıklığı 0,5 McFarland standartlarına göre ayarlanması yapılmıştır. Böylece fungal süspansiyonlar yaklaşık $1,0x10^7$ kob/ml, bakteri süspansiyonları ise yaklaşık $1,0x10^8$ kob/ml mikroorganizma bulunacak şekilde karşılaştırmaları yapılıp standartları elde edilmiştir. Daha sonra, tüplerin üzerine mantar ve bakteri isimleri yazılmış ve hazırlanan konsantrasyonlar kullanılmadan öncesinde vorteks ile karıştırılmıştır.

3.2.4.2. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK)

Minimum inhibisyon konsantrasyonu kelimelerinin kısaltılmasıdır ve MİK testleri antimikrobik ajanların inhibitör (durdurucu etki) veya bakteriyostatik etkilerini gösteren testlerdir. MİK testinin esas amacı etken maddelerin seri dilüsyonlarının yapılmasıyla bir konsantrasyon serisi oluşturmak ve bu seri içinde hangi aralıklarla mikrobiyal üremenin inhibe edildiğine bakılmasıyla antimikrobiyal ajanın etken konsantrasyonunu belirtmektir. Öncelikle distilasyonla elde edilen uçucu yağlar steril şırıngalara çekilmiş ve 0,45 µm'lik şırınga filtre kullanılarak yağlar içerisindeki olası yabancıl bakterilerden arındırılması amaçlanmıştır ve yağların sterilizasyonu sağlanmıştır. MİK testinde 96 kuyucuklu streril plakalar kullanılmasıyla mikrodilüsyon ile antimikrobiyal ajanların etken konsantrasyon belirlenmesi için çalışılmıştır. Hazırlanmış steril Nutrient Broth (NB) sıvı besi yerinden 100'er µg

olacak şekilde bütün kuyuculara mikropipet yardımıyla yerleştirildikten sonra ilk kuyucuğa ilgili bitkilerden elde edilmiş uçucu yağlardan 100 µg transfer edilmiş ve her defasında yarı yarıya seyreltme yapılarak bir uçucu yağın 10 adet seri dilüsyonu elde edilmiştir. Daha sonra ise 10 kuyucuğa eşit miktarda 50 µg inokulumdan inoküle edilmiştir. Her seri dilüsyon 11. kuyucuğa bir adet pozitif kontrol (NB+ inokulum içeren kuyucuk) ve bir adette negatif kontrol (sadece NB besi yeri içeren kuyucuk) 12. kuyucuğa bırakılmıştır. Her örnek üç paralel olarak aynı şekilde çalışılmıştır. Çalışılan plaklardaki bakteri örnekleri etüvde 37ºC de 24 saat, fungal örnek (*Candida albicans*) ise etüvde 27ºC de 2 gün inkübe edildikten sonra gözle bakıldığında üremelerinin olduğu en düşük konsantrasyon minimum inhibisyon konsantrasyon değeri olarak belirtilmiştir.

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

3.2.4.3. Minimum Bakterisidal/Fungisidal Konsantrasyon (MBK, MFK)

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

4. BULGULAR

4.1. GC-MS Bulguları

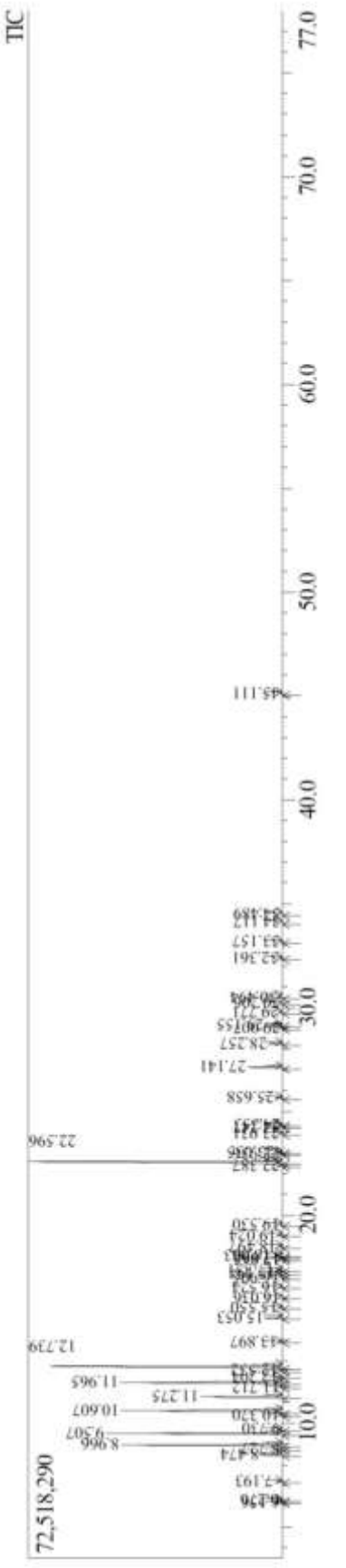
Doğu ladini ve Avrupa ladininin (*Picea orientalis* ve *Picea abies*) uçucu yağlarının GC-MS analizleri ile sonuçlar elde edilmiş ve Tablo 4.1. ve Tablo 4.2.'de gösterilmiştir. Tabloda varlığı %2'den fazla olan bileşikler ana bileşenler olarak seçilmiştir.

4.1.1. Doğu Ladin'ine ait GC-MS Bulguları

Doğu ladini'nin GC-MS analizinde toplamda 50 farklı bileşen tespit edilmiş olup %1'nin üstünde çıkan kimyasal madde sayısı 11'dir. Bunlar; %21,89 Exobornyl Acetate, %18,94 dl-Limonene, %10,71 Camphene (CAS), %10,66 2-.BETA.-Pinene, %10,46 .Delta. 3 Carene, %9,90 cis-Ocimene, %4,34 Myrcene, %2,13 Caryophyllene, %1,18 Tricyclene, %1,04 .Alpha.-Terpinolene ve %1,04 Germacrene-D'dir.

4.1.2. Avrupa Ladin'ine ait GC-MS Bulguları

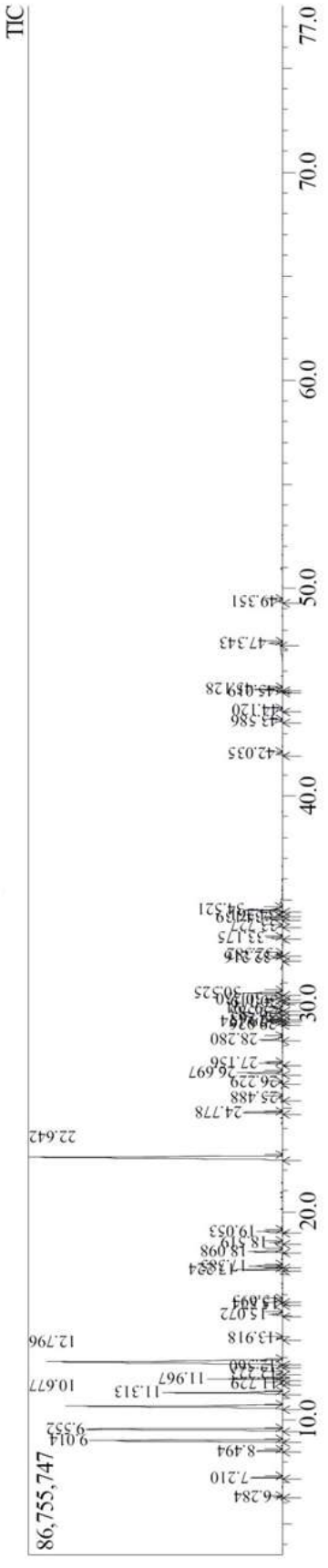
Avrupa Ladini'nin GC-MS analizinde toplam 50 farklı bileşen tespit edilmiş olup %1'in üzerinde çıkan kimyasal madde sayısı 17'dir. Bunlar; %18,13 dl-Limonene, %16,97 Acetic acid, 1,7,7-trimethyl-bicyclo [2.2.1] hept-2-yl ester, %13.01 2-.Beta.-Pinene, %9,40 .gamma.-Terpinene, %8,99 Camphene, %4,49 .beta.-Myrcene, %2,53 .Delta. 3-Carene, %1,73 Longifolene, %1,71 .alpha.-Cadinol, %1,70 Camphor, %1,58 Cadinene <delta->, %1,49 Terpinyl acetate <alpha->, %1.31 endo-Borneol, %1,20 Bicyclo [2.2.1] heptan-2-ol, 2,3, 3-trimethyl-, %1,81 3-Epimanool , %1,17 .alpha.-Cadinol, %1,06 .alpha.-Humulene (CAS)'dir.



Grafik 4.1. *Picea orientalis'*e ait uçucu yağın GC-MS kromatogramı

Tablo 4.1. *Picea orientalis*'e *ait GC-MS analizi*

Pik	Alıkonma zamanı	Alan	%Alan	Bileşenler
1	6,156	1392733	0,10	2-Hexenal, (E)-
2	6,276	1851475	0,13	3-Hexen-1-ol, (Z)- (CAS)
3	7,193	5413443	0,38	Santene
4	8,474	16991922	1,18	Tricyclene
5	8,727	1243964	0,09	Thujene <alpha->
6	8,966	142750330	9,90	cis-Ocimene
7	9,507	154435312	10,71	Camphene (CAS)
8	9,730	597383	0,04	verbenene
9	10,370	1192894	0,08	Cymene <para->
10	10,607	153711205	10,66	2-.BETA.-PINENE
11	11,275	62598361	4,34	Myrcene
12	11,712	1665799	0,12	Phellandrene <alpha->
13	11,965	150750015	10,46	.DELTA. 3 CARENE
14	12,204	1878641	0,13	.ALPHA. TERPINENE
15	12,532	2937491	0,20	Benzene, methyl(1-methylethyl)- (CAS)
16	12,739	273140853	18,94	dl-Limonene
17	13,897	2986365	0,21	.gamma.-Terpinene
18	15,053	15053256	1,04	.Alpha.-Terpinolene
19	15,550	3083015	0,21	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-
20	16,036	874974	0,06	Fenchyl alcohol
21	16,524	2382067	0,17	.alpha.-Campholenal
22	16,995	1307879	0,09	Pinocarveol <trans->
23	17,194	5061609	0,35	(+)-2-Bornanone
24	17,351	6906590	0,48	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 2,3,3-trimethyl-
25	17,865	811065	0,06	p-Mentha-1,5-dien-8-ol (CAS)
26	17,930	636849	0,04	Pinocarvone
27	18,063	10836903	0,75	endo-Borneol
28	18,497	4128816	0,29	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)- (CAS)
29	19,024	4092690	0,28	Terpineol <alpha->
30	19,530	1465389	0,10	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene-2-ethanol, 6,6-dimethyl- (CAS)
31	22,387	2272647	0,16	Bicyclo[3.1.1]hept-2-en-4-ol, 2,6,6-trimethyl-, acetate
32	22,596	315662972	21,89	EXOBORNYL ACETATE
33	22,936	1534397	0,11	Ethanone, 1-(6,6-dimethylbicyclo[3.1.0]hex-2-en-2-yl)-
34	23,035	5892934	0,41	(-)-trans-Pinocarvyl acetate
35	23,931	1488566	0,10	Myrtenyl acetate
36	24,247	1015107	0,07	3-Cyclohexene-1-methanol, .alpha.,.alpha.,4-trimethyl-, acetate
37	24,353	1096665	0,08	2-Cyclohexen-1-ol, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-, acetate, cis-
38	25,658	6038763	0,42	Copaene
39	27,141	30714819	2,13	Caryophyllene
40	28,257	12787929	0,89	.alpha.-Humulene (CAS)
41	29,007	929209	0,06	Cadinene <gamma->
42	29,155	14955511	1,04	GERMACRENE-D
43	29,771	2224699	0,15	Muurolene <alpha->
44	30,206	913794	0,06	Cadinene <gamma->
45	30,494	4191291	0,29	Cadinene <delta->
46	32,361	2616069	0,18	Caryophyllene oxide
47	33,157	1296975	0,09	HUMULENE OXIDE
48	34,117	960788	0,07	.alpha.-Cadinol
49	34,489	1215744	0,08	.alpha.-Cadinol
50	45,111	1897747	0,13	13-Epimanool
		1441885914	100,00	



Grafik 4.2. *Picea abies*'e ait uçucu yağın GC-MS kromatogramı

Tablo 4.2. *Picea abies'a ait GC-MS analizi*

Pik	Alıkonma zamanı	Alan	%Alan	Bileşenler
1	6,284	8177150	0,29	3-Hexen-1-ol, (Z)-
2	7,210	27759313	0,97	Santene
3	8,494	24526730	0,86	Tricyclene
4	9,014	268267084	9,40	.gamma.-Terpinene
5	9,552	256649294	8,99	Camphene
6	10,677	371401307	13,01	2-.Beta.-Pinene
7	11,313	128259455	4,49	.beta.-Myrcene
8	11,729	3093735	0,11	Phellandrene <alpha->
9	11,967	72166495	2,53	.Delta.3-Carene
10	12,223	3544083	0,12	.ALPHA. TERPINENE
11	12,560	6893948	0,24	o-Cymene
12	12,796	517429426	18,13	dl-Limonene
13	13,918	6090094	0,21	.gamma.-Terpinene
14	15,072	17262177	0,60	.Alpha.-Terpinolene
15	15,574	2834684	0,10	Linalool
16	15,693	3988207	0,14	Santene
17	17,224	48471307	1,70	Camphor
18	17,385	34125940	1,20	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 2,3,3-trimethyl-
19	18,098	37472362	1,31	endo-Borneol
20	18,519	13077864	0,46	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)- (CAS)
21	19,053	26834257	0,94	.alpha.-Terpineol
22	22,642	484277942	16,97	Acetic acid, 1,7,7-trimethyl-bicyclo[2.2.1]hept-2-yl ester
23	24,778	42491974	1,49	Terpinyl acetate <alpha->
24	25,488	6852059	0,24	(+)-Longicyclene
25	26,229	3460848	0,12	.Beta. Elemene
26	26,697	49265860	1,73	Longifolene
27	27,156	25108127	0,88	Caryophyllene
28	28,280	30311030	1,06	.alpha.-Humulene (CAS)
29	29,026	5585574	0,20	.gamma.-Muurolene
30	29,174	15264118	0,53	Germacrene-D
31	29,265	5826697	0,20	Caryophyllene oxide
32	29,583	9275074	0,32	Methyl undecyl ketone
33	29,791	13217945	0,46	Muurolene <alpha->
34	30,119	4313279	0,15	Cedrene <alpha->
35	30,230	20998234	0,74	Cadinene <gamma->
36	30,525	45152042	1,58	Cadinene <delta->
37	32,216	13255334	0,46	Spathulenol
38	32,382	8993772	0,32	Caryophyllene oxide
39	33,175	18597467	0,65	Bicyclo[3.3.1]non-2-en-9-ol, 9-methyl- (CAS)
40	33,727	4821105	0,17	4-epi-cubedol
41	34,139	33320301	1,17	.alpha.-Cadinol
42	34,261	7307060	0,26	,2,3,4,4a,7,8,8a-octahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-, [1S-(1.alpha.,4.alpha.,
43	34,521	48828392	1,71	.alpha.-Cadinol
44	42,035	7144742	0,25	Cembrene
45	43,586	3744582	0,13	n, 3-ethenyldodecahydro-3,4a,7,7,10a-pentamethyl-, [3R-(3.alpha.,4a.beta.,6a.alph
46	44,120	3281866	0,11	yl-1,2,3,4,4a,4b,5,6,7,8,8a,9-dodecahydro-1,1,4b,7-tetramethyl-, [4aS-(4a.alpha.,4
47	45,019	7833037	0,27	Thunbergol
48	45,128	33693468	1,18	13-Epimanool
49	47,343	17144661	0,60	(12Z)-Abienol
50	49,351	6189886	0,22	Kaura-5,16-dien-18(or 19)-ol (CAS)
		2853881388	100,00	

4.2. Uçucu Yağların Antimikrobiyal Etkinliği

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

4.2.1. Bitki Örneklerine ait Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) Değerleri ve Minimum Bakterisidal/Fungisidal Konsantrasyon (MBK, MFK) Değerleri

Tablo 4.3 *Bitki taksonlarına ait MİK ve MBK, MFK değerleri µg/ml*

MİKROORGANİZMA	**MİK DEĞERLERİ**		**MBK/MFK DEĞERLERİ**	
	Bitki Türleri		**Bitki Türleri**	
	P.orientalis	*P.occidentalis*	*P.orientalis*	*P. occidentalis*
Enterobacter aerogenes	50	12,5	50	25
Salmonella infantis	25	6,25	50	6,25
Listeria monocytogenes	25	12,5	50	12,5
Klebsiella pneumoniae	25	12,5	50	12,5
Pseudomonas aeruginosa	25	50	50	50
Pseudomonas fluorescens	25	100	100	100
Salmonella kentucky	-	100	-	100
Enterococcus faecalis	-	50	-	50
Listeria innocula	-	50	-	50
Salmonella enteritidis	-	50	-	50
Enterococcus durans	25	25	50	50
Salmonella typhimurium	25	50	50	50
Candida albicans	25	25	50	25
Enterococcus faecium	25	12,5	50	25
Staphylococcus aureus	12,5	12,5	50	25
Staphylococcus epidermidis	12,5	25	50	25
Bacillus subtilis	-	100	-	-
Escherichia coli	-	100	-	100
Saratia marcescens	100	-	100	-

Picea orientalis taksonunun MİK değeri *Picea abies*'e taksonuna göre mikroorganizmalar üzerinde daha etkili değerler ortaya koymuştur.

4.2.2. Bitki Örneklerine ait Minimum Bakterisidal/Fungisidal Konsantrasyon (MBK, MFK) Değerleri

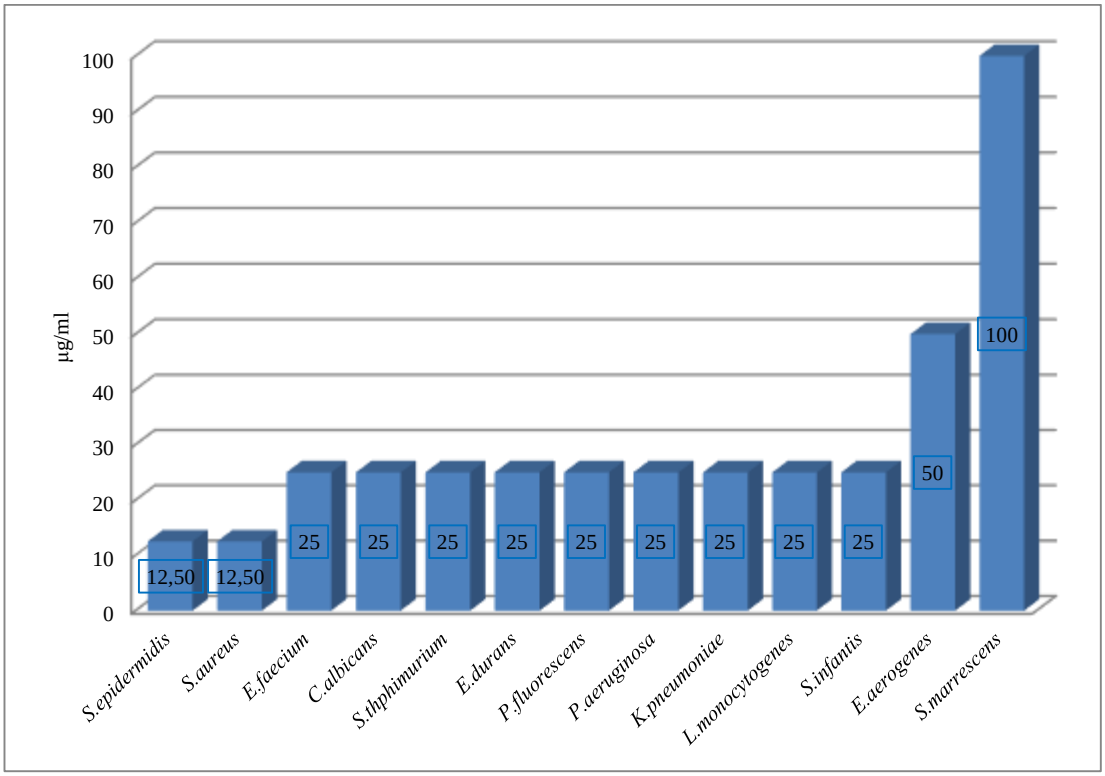
Tablo 4.4. *Bitki taksonlarına ait MBK, MFK değerleri µg/ml*

	Bitki Türleri	
Mikroorganizma	***Picea orientalis***	***Picea abies***
1-*Enterobacter aerogenes*	50	25
2-*Salmonella infantis*	50	6,25
3-*Listeria monocytogenes*	50	12,5
4-*Klebsiella pneumoniae*	50	12,5
5-*Pseudomonas aeruginosa*	50	50
6-*Pseudomonas fluorescens*	100	100
7-*Salmonella kentucky*	-	100
8-*Enterococcus faecalis*	-	50
9-*Listeria innocua*	-	50
10-*Salmonella enteritidis*	-	50
11-*Enterococcus durans*	50	50
12-*Salmonella typhimurium*	50	50
13-*Candida albicans*	50	25
14-*Enteroococcus faecium*	50	25
15-*Staphylococcus aureus*	50	25
16-*Staphylococcus epidermidis*	50	25
17-*Bacillus subtilis*	-	-
18-*Escherichia coli*	-	100
19-*Serratia marcescens*	100	-

Picea abies taksonunun mikroorganizmalar üzerindeki MBK, MFK etkisi *Picea orientalis*'e göre daha etkilidir.

4.2.3. *Picea orientalis*'e ait MİK Değerleri

Picea orientalis (Doğu Ladini) uçucu yağının MİK değerlerine bakıldığında, *S. narcescens 100* µg/ml, *E. aerogenes - 50* µg/ml, *S. infantis* - 25 µg/ml, *L. monocytogenes* - 25 µg/ml, *K. pneumoniae* - 25 µg/ml, *P. aeruginosa* - 25 µg/ml, *P. fluorescens* - 25 µg/ml, *E. durans* - 25 µg/ml, *S. typhimurium* - 25 µg/ml, *C. albicans* - 25 µg/ml, *E. faecium* - 25 µg/ml, *S. aureus* - 12,5 µg/ml, *S. epidermidis* - 12,5 µg/ml, *S. marcescens* - 100 µg/ml etkisi gözlemlenmiştir. *B. subtilis, E. coli, S. kentucky, L. innocua, E. faecalis ve S. enteritidis*'e karşı antimikrobiyal etki gözlemlenmemiştir.



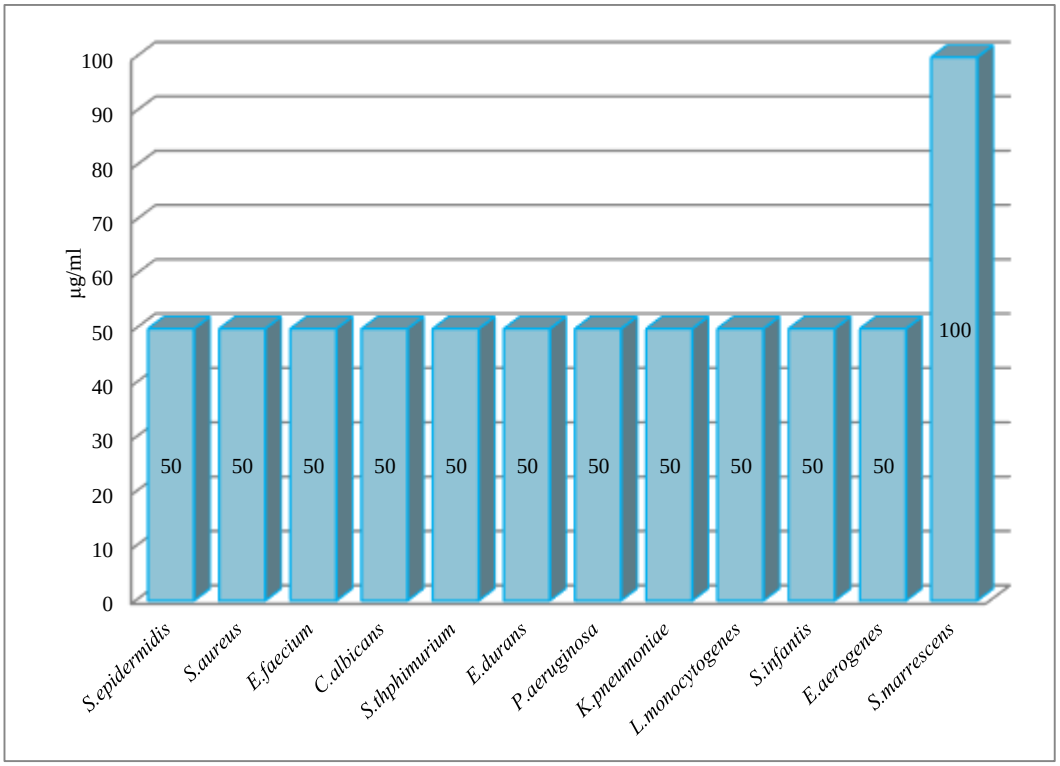
Grafik 4.3. *Picea orientalis*'e ait MİK sonuçları



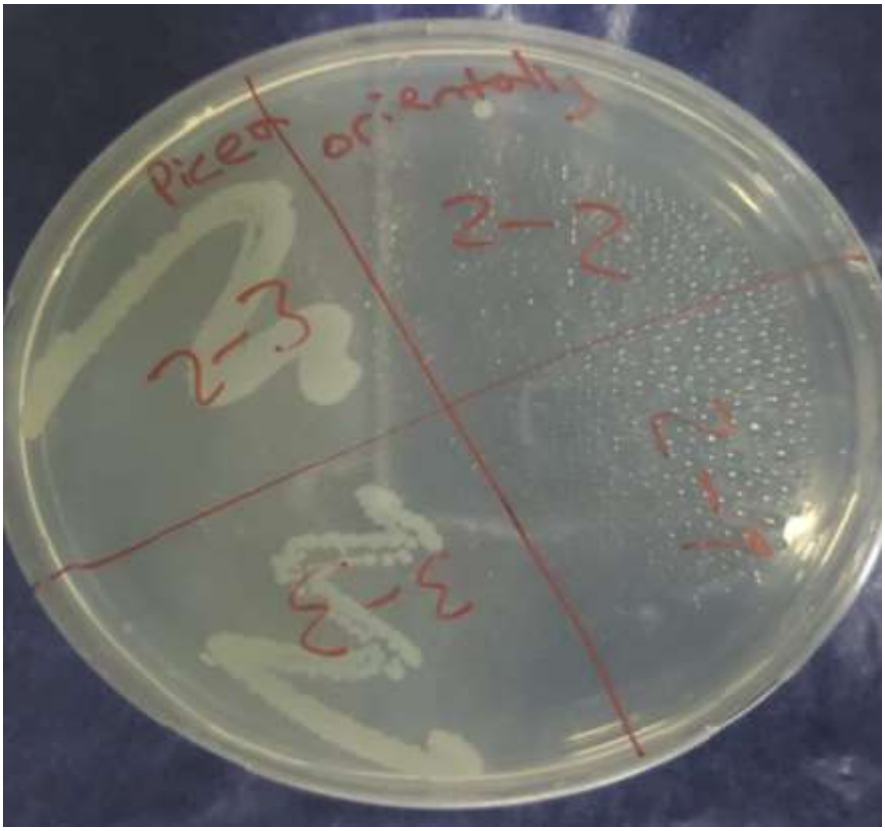
Fotoğraf 4.1. *Picea orientalis* MİK uygulaması

4.2.4. *Picea orientalis* ait MBK, MFK Değerleri

Picea orientalis (Doğu Ladini) uçucu yağının bakterileri ve fungusu öldüren en düşük konsantrasyon değerleri (MBK, MFK) *S. marcescens* - 100 µg/ml, *P. fluorescens* 100 µg/ml, *E. aerogenes - 50* µg/ml, *S. infantis* - 50 µg/ml, *E. durans* - 50 µg/ml, *S. typhimurium* - 50 µg/ml, *C. albicans* - 50 µg/ml, *E. faecium* - 50 µg/ml, *S. aureus* - 50 µg/ml, *S. epidermidis* - 50 µg/ml *L. monocytogenes* - 50 µg/ml, *K. pneumoniae* - 50 µg/ml, *P. aeruginosa*-50 µg/ml etkisi gözlemlenmiştir. *S. kentucky, E. faecalis, L. innocula, S. enteritidis, B. subtilis, E. coli* bakterileri üzerine ise etkisi gözlemlenmemiştir.



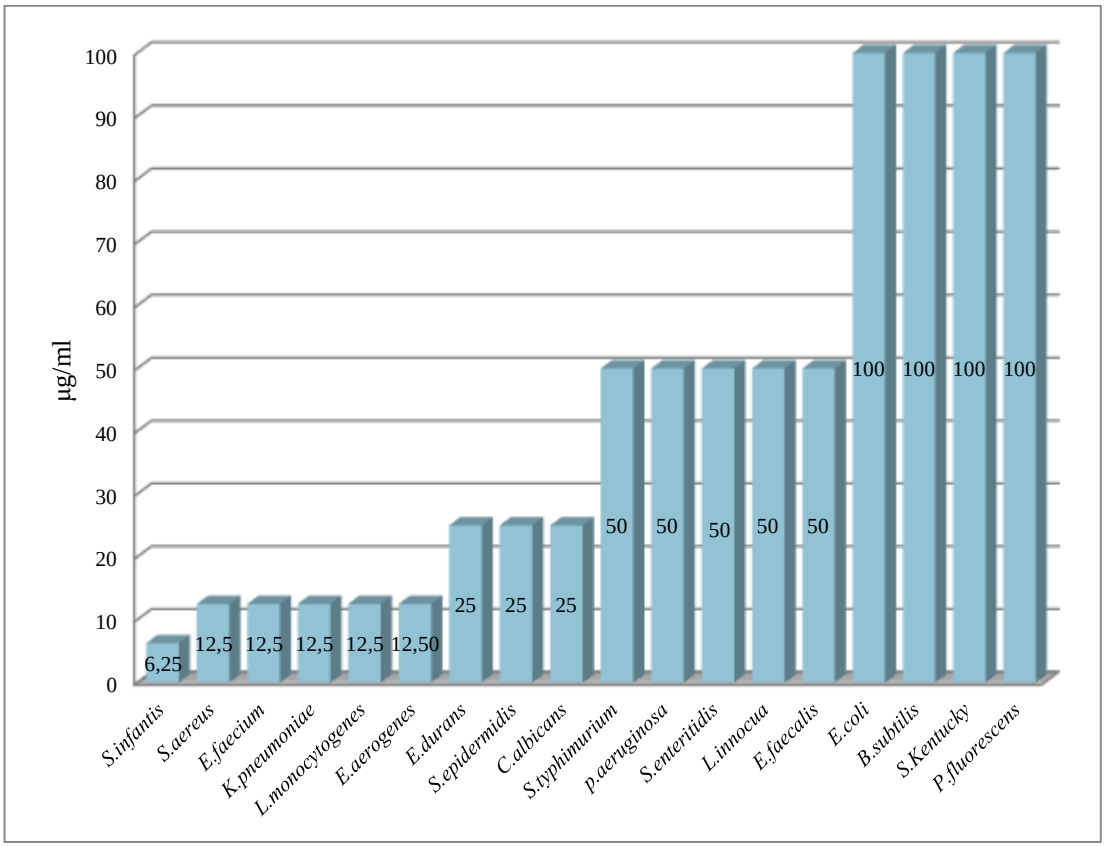
Grafik 4.4. *Picea orientalis*'e ait MBK, MFK sonuçları



Fotoğraf 4.2. *Picea orientalis* MBK, MFK uygulaması

4.2.5. *Picea abies*'e ait MİK Değerleri

E. coli - 100 µg/ml, *B. subtilis* - 100 µg/ml, *P. fluorescens* - 100 µg/ml, *S. kentucky* - 100 µg/ml, *P. aeruginosa* - 50 µg/ml, *E. faecalis* - 50 µg/ml, *L. innocula* - 50 µg/ml, *S. enteritidis* - 50 µg/ml, *S. typhimurium* - 50 µg/ml, *E. durans* - 25 µg/ml, C. *albicans* - 25 µg/ml, *S. epidermidis* - 25 µg/ml, *E. aerogenes* - 12,5 µg/ml, *L. monocytogenes* - 12,5 µg/ml, *K. pneumoniae* - 12,5 µg/ml, *E. faecium* - 12,5 µg/ml, *S. aureus* - 12,5 µg/ml, *S. infantis* - 12,5 µg/ml etkisi gözlemlenmiştir. *S. marrescens'e* karşı ise antimikrobiyal etki gözlenmemiştir.



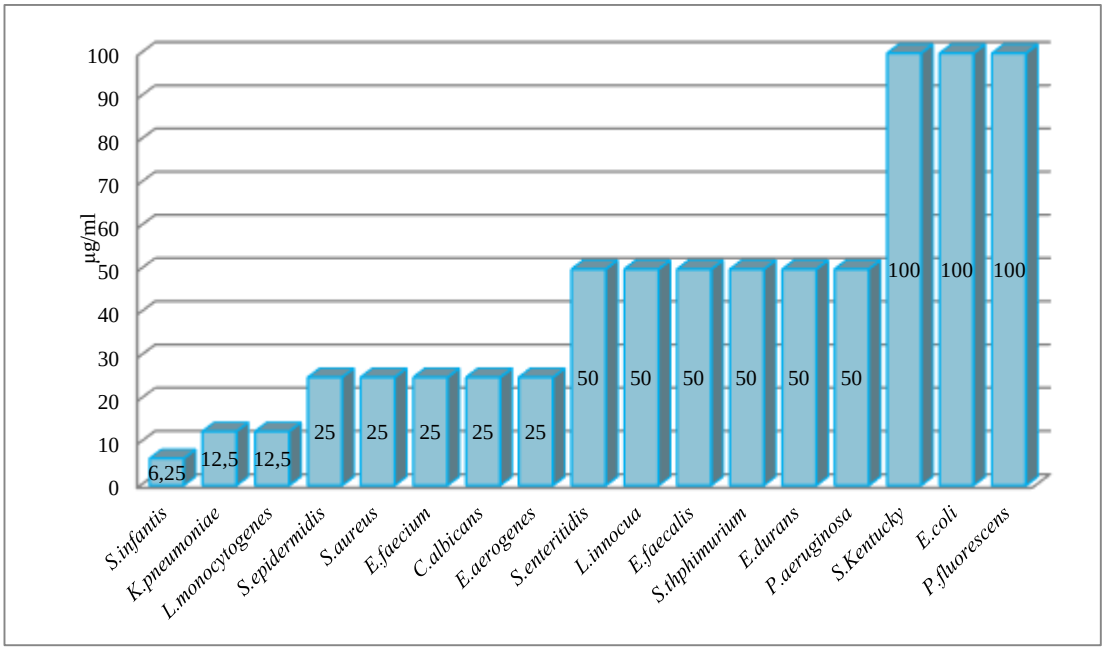
Grafik 4.5. *Picea abies*'e ait MİK sonuçları



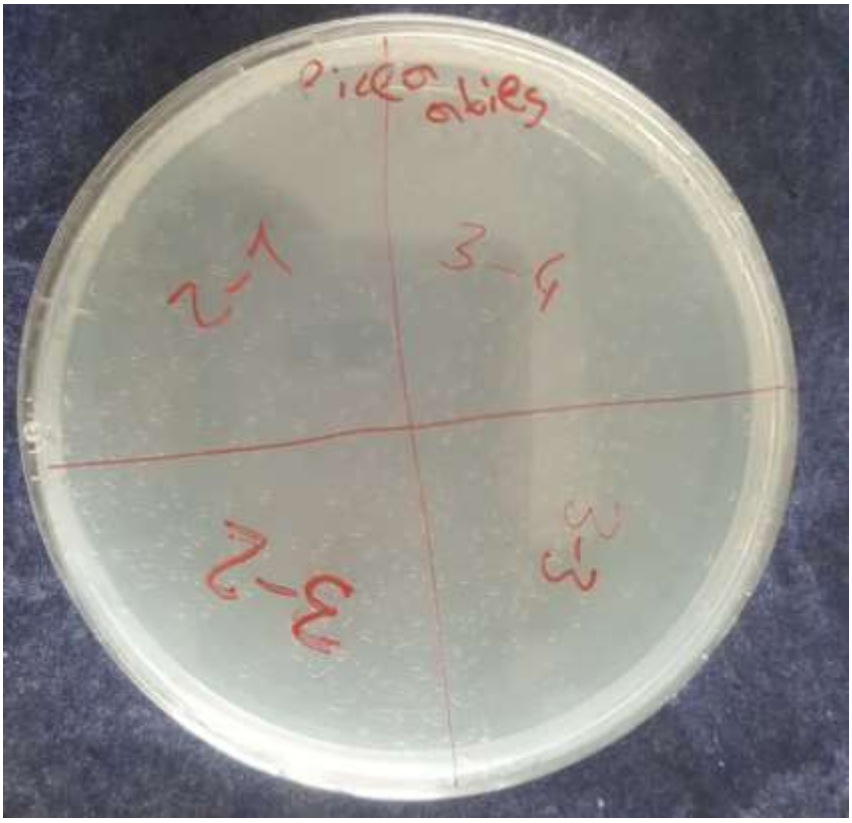
Fotoğraf 4.3. *Picea abies* MİK uygulaması

4.2.6. *Picea abies*'e ait MBK, MFK Değerleri

E. coli - 100 µg/ml, *P. fluorescens* - 100 µg/ml, *S. Kentucky* - 100 µg/ml, *P. aeruginosa* - 50 µg/ml, , *E. faecalis* - 50 µg/ml, *L. innocula* - 50 µg/ml, *S. enteritidis* - 50 µg/ml, *E. durans* - 50 µg/ml, *S. typhimurium* - 50 µg/ml, *C. albicans* - 25 µg/ml, *E. faecium* - 25 µg/ml, *S. aureus* - 25 µg/ml, *S. epidermidis* - 25 µg/ml, *L. monocytogenes* - 12,5 µg/ml, *K. pneumoniae* - 12,5 µg/ml, *S. infantis* - 6,25 µg/ml etkisi gözlemlenmiştir. *S. marrescens* ve *B. subtilis'*e karşı ise antimikrobiyal etki göstermemiştir.



Grafik 4.6. *Picea abies*'e ait MBK, MFK sonuçları



Fotoğraf 4.4. *Picea abies* MBK, MFK uygulaması

5. TARTIŞMA

5.1. GC-MS Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Bu çalışmada kullanılan *Picea orientalis* ve *Picea abies*'den elde edilen uçucu yağların GC-MS analizi sonuçlarına göre ilk 6 bileşenleri Tablo 5.1.'de gösterilmiştir. İki türde bulunan ortak olan bileşenler d1-Limonene ve 2-.Beta.-Pinene, Camphene'dir. *Picea orientalis*'te %21,89 Ecobornyl Acetate, %18,94 D1-Limonene, %10,71 Camphene, %10,66 2,Beta.-Pinene, %10,46 Delta.3Carene ve %9,9 Cis-Ocimene'dir. *Picea abies*'te %18,13 d1-Limonene, %16,97 Acetic acid, 1,7,7-trimethyl-, %13,01 2-.Beta.-Pinene, %9,40 .gamma.-Terpinene-, %8,99 Camphene ve %4,49 .beta.-Myrcene'dir. Uçucu yağ içeren aynı bitkilerin farklı coğrafi bölgelerde yayılış gösteren popülasyonlarında uçucu yağların çeşitleri, oranları ve kimyasal bileşenleri belirgin bir şekilde değişmektedir. Bitkinin yetiştiği ortamdaki ekolojik koşullar ve mevsimsel iklim değişimlerin etkin faktör olduğu düşünülmektedir. Ayrıca kimi zaman analiz sonuçları içinde kimi bileşenlerin bulunmayışı ya da yerine farklı bileşenlerin bulunuşu GC-MS veri bankasından kaynaklanan farklılıklar olabileceği tahmin edilmektedir.

Tablo 5.1. *Dominant benzerlikler ve farklılıklar*

Takson Adı	**%Kimyasal Bileşen**					
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**
Picea orientalis (L.)	%21,89 Exobornyl acetate	%18,94 d1-Limonene	%10,71 Camphene	%10,66 2,Beta.-Pinene	%10,46 Delta.3Carene	%9,9 Cis-Ocimene
Picea abies	%18,13 d1-Limonene-	%16,97 Acetic acid,1,7,7-trimethyl	%13,01 2-.Beta.-Pinene	%9,40 .gamma.-Terpinene-	%8,99 Camphene	%4,49 .beta.-Myrcene

5.2. Antimikrobiyal Sonuçların Değerlendirilmesi

Picea orientalis (Doğu Ladini) uçucu yağının MİK değerlerine bakıldığında, *S. marcescens 100* µg/ml, *E. aerogenes - 50* µg/ml, *S. infantis* - 25 µg/ml, *L. monocytogenes* - 25 µg/ml, *K. pneumoniae* - 25 µg/ml, *P. aeruginosa* - 25 µg/ml, *P. fluorescens* - 25 µg/ml, *E. durans* - 25 µg/ml, *S. typhimurium* - 25 µg/ml, *C. albicans* - 25 µg/ml, *E. faecium* - 25 µg/ml, *S. aureus* - 12,5 µg/ml, *S. epidermidis*-12,5 µg/ml, *S. marcescens*-100 µg/ml etkisi gözlemlenmiştir. *B. subtilis, E. coli, S. kentucky, L. innocua, E. faecalis ve* S. *enteritidis'*e karşı antimikrobiyal etki gözlemlenmemiştir.

Picea orientalis (Doğu Ladini) uçucu yağının bakterileri ve fungusu öldüren en düşük konsantrasyon değerleri (MBK, MFK)'e bakıldığında ise ; *S. marcescens* - 100 µg/ml, *P. fluorescens* 100 µg/ml, *E. aerogenes - 50* µg/ml, *S. infantis* - 50 µg/ml, *E. durans* - 50 µg/ml, *S. typhimurium* - 50 µg/ml, *C. albicans* - 50 µg/ml, *E. faecium*-50 µg/ml, *S. aureus* - 50 µg/ml, *S. epidermidis* - 50 µg/ml *L. monocytogenes* - 50 µg/ml, *K. pneumoniae* - 50 µg/ml, *P. aeruginosa* - 50 µg/ml etkisi gözlemlenmiştir. *S. kentucky, E. faecalis, L. innocula, S. enteritidis, B. subtilis, E. coli* bakterileri üzerine ise etkisi gözlemlenmemiştir.

Picea abies'e (Avrupa Ladini) ait MİK değerlerine bakıldığında ise *E. coli* - 100 µg/ml, *B. subtilis* - 100 µg/ml, *P. fluorescens* - 100 µg/ml, *S. Kentucky* - 100 µg/ml, *P. aeruginosa* - 50 µg/ml, *E. faecalis* - 50 µg/ml, *L. innocula* - 50 µg/ml, *S. enteritidis* - 50 µg/ml, *S. typhimurium* - 50 µg/ml, *E. durans* - 25 µg/ml, *C. albicans* - 25 µg/ml, *S. epidermidis* - 25 µg/ml, *E. aerogenes* - 12,5 µg/ml, *L. monocytogenes*-12,5 µg/ml, *K. pneumoniae* - 12,5 µg/ml, *E. faecium* - 12,5 µg/ml, *S. aureus* - 12,5 µg/ml, *S. infantis* - 12,5 µg/ml etkisi gözlemlenmiştir. *S. marcescens'e* karşı ise antimikrobiyal etki gözlenmemiştir.

Son olarak *Picea abies*'e (Avrupa Ladini) ait MBK/MFK değerlerinde ise *E. coli* - 100 µg/ml, *P. fluorescens* - 100 µg/ml, *S. Kentucky* - 100 µg/ml, *P. aeruginosa* - 50 µg/ml, *E. faecalis* - 50 µg/ml, *L. innocula* - 50 µg/ml, *S. enteritidis* - 50 µg/ml, *E. durans* - 50 µg/ml, *S. typhimurium* - 50 µg/ml, *C. albicans* - 25 µg/ml, *E. faecium* -

25 µg/ml, *S. aureus* - 25 µg/ml, *S. epidermidis* - 25 µg/ml, *L. monocytogenes* - 12,5 µg/ml, *K. pneumoniae* - *1*2,5 µg/ml, *S. infantis* - 6,25 µg/ml etkisi gözlemlenmiştir ve *S. marcescens* ve *B. subtilis* bakterilerine karşı ise antimikrobiyal etki göstermediği araştırma sonucunda bulunmuştur.

Picea orientalis ve *Picea abies* bitki taksonlarının Dünya genelinde antimikrobiyal etkileri ile ilgili yapılan bazı çalışmalar sonucunda tablo 5.2.'de gösterilen veriler elde edilmiştir. Genel olarak bakıldığında uçucu yağlarının mikroorganizmalar üzerindeki bakterisit ve fungisit etkilerinin en fazla etki ettikleri mikroorganizmalar; *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis* (DSMZ 20044), *Salmonella infantis'*dir.

Bu çalışmada en çok etki gösteren mikroorganizmalar dünya genelinde yapılan çalışmalar ile benzerlik göstermektedir. Ladin ağacı, ormanlara ve endüstriye olan katkılarının yanı sıra, insan sağlığı için de son derece faydalı bir ağaçtır. Ayrıca yurt dışında ladin türleri; boğaz enfeksiyonları gribal enfeksiyonlar ve özellikle Avrupa ladini'nin uçucu yağı nezle hastalıklarının tedavisinde sıcak su ile karıştırıldığında oluşan buharın solunması halinde özellikle çocukların üzerinde rahatlatıcı etkisinin olduğu gözlenmiştir (Popescu, 2009).

Boğaz enfeksiyonları ve gribal enfensiyon tedavilerinde kullanılan tariflerde içerisine ladin ibrelerinin konulduğu karışımların öksürüğü azaltarak şikayetlerin azalmasında yardımcı olduğu görülmüştür. Bir diğer yönden boğaz temizleyici olarak balgam söktürücü etkileride olduğundan grip, nezle ve öksürük tedavisinde kullanılan şifalı bir antiseptik yani mikrop öldürücü bitkidir. Ayrıca bazı dönemlerde dizanteri rahatsızlığının tedavisindede kullanılmıştır. Aynı zamanda güzel kokulu bir ağaç olduğundan değişik misk ve parfümlerde kokusu kullanılır.Ladin her anlamda kullanılabilen çok maksatlı bir orman ağacıdır.

Tablo 5.2. *Dünya genelinde yapılan bazı çalışmaların antimikrobiyal etkileri*

***Picea orientalis* ve *Picea abies* Bitki Taksonlarının Antimikrobiyal Etkileri ile İlgili Yapılan Çalışmaların Sonuçları**					
Mikroorganizma	Eryılmaz vd., 2016	Siren vd., 2014	Radulescu vd., 2011	Tanase vd., 2018	Salem vd., 2016
E. aerogenes					
S. infantis					
L. monocytogenes		+			+
K. pneumoniae	+				
P. aeruginosa	+				+
P. fluorescens					
S. kentucky					
E. faecalis					
L. innocula					
S. enteritidis					
E. durans					
S. typhimurium					
C.albicans			+		
E. faecium					
S. aureus	+	+	+		+
S. epidermidis					
B. subtilis					
E. coli	+			+	+
S. marcescens					

6. ÖNERİLER VE SONUÇ

Türkiye'de yayılış gösteren Pinaceae (Çamgiller) familyasından *Picea orientalis* ve *Picea abies*'in su buharı distilasyonu ile elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal etkinliklerinin test edildiği bu araştırmada, belli değerlerde antimikrobiyal etkinliğin olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak; *Picea orientalis*'nin Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) değerlerine bakıldığında en fazla antimikrobiyal etkiyi *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (DSMZ 20044) 12,5 µg/ml göstermiştir. *P. abies'in* Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) değerlerine bakıldığında en fazla antimikrobiyal etkiyi *Salmonella infantis* 6,25 µg/ml göstermiştir.

Picea orientalis Minimum Bakterisidal/Fungisidal Konsantrasyon (MBK, MFK) değerlerine bakıldığında en fazla antimikrobiyal etkiyi; *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048), *Salmonella infantis*, *Listeria monocytogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* (DSMZ 50071), *Enterococcus durans*, *Salmonella typhimurium, Candida albicans* (DSMZ 1386), *Enteroococcus faecium, Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (DSMZ 20044) 50 µg/ml göstermiştir. *P.abies* ise *Salmonella infantis* 6,25 µg/ml göstermiştir.

Picea orientalis için bakterilerinin tümünde 50 µg/ml gibi yüksek bir değerde öldürücü ya da durdurucu etkisi olduğu MİK, MBK/MFK testlerinde bulunmuştur. Antimikrobiyal etkinlikleri genellikle 50 µg/ml, 100 µg/ml gibi değerlerde tespit edilmiş olup bu uçucu yağlardan temizlik sektöründe yüzey temizleyici olarak ya da parfümeri sektöründe uçucu yağların güzel kokularından değişik esanslar ve kokular da elde edilebileceği belirlenmiştir. *P. abies, Picea orientalis* göre belirgin bir farkla bakteriler üzerinde daha etkin antibakterial etkiye sahiptir. Bu çalışmada yağ verimliliği de göz önüne alındığında özellikle Avrupa Ladininin uçucu yağının etkin olduğu bakteri gruplarına karşı bitkisel preparatların hazırlanabileceği tespit edilmiştir. Çalışılan türlerin herdem yeşil olması örneklerin toplanma zamanını sınırlamamıştır. Uçucu yağ verimliliğinin düşük olması, bu türlerden yapılacak preparatlar için bir dezavantajdır.

KAYNAKLAR

Anşin, R. (2001). *Tohumlu Bitkiler, Gymnospermae (Acık Tohumlular),* 1.cilt, 3.Baskı, KTU Orman Fakültesi Yayın No: 122/15, ISBN: 975-6983-16-7, KTU Basımevi, Trabzon, 296 s.

Atalay, İ.(1984) Doğu Ladini *(Picea orientalis))*Tohum Transfer Rejiyonlaması Yayın No:2 Çağ Matbası, 25 S.

Berk, A. (1953). *Esanslar (Eterik Yağlar)*, İstanbul Hüsnü Tabiat Matbaası

Çalışkan, T. (1998). Hızlı gelişen türlerle yapılan ağaçlandırma çalışmalarının değerlendirilmesi ve yapılacak çalışmalar. *Orman Bakanlığı Yayın No: 83*, 109-130, Laser offset.

Eckenwalder, J. E. (2009). *Conifers of the World: The Complete Reference*. Timber Press, London.

Evans, W. C. (1996). *Trease and Evans Pharmacognosy*, 14 th edition, University of Nottingham, WB. Sanders Company, Notthingam, UK.

Eyüboğlu, A. K., Doğu Ladininin Yapay Gençleştirilmesi, Doğu Ladini El Kitabı Dizisi 5, Orm. Arş. Enst. Yayını, Muhtelif Yayınlar Seri No: 28, Editör Ö. S. Erkuloğlu, Ankara, 1989.

Farjon, A. (2010). A *Handbook of the World's Conifers*, V.1-2. Brill Academic Publishers, Leiden-Boston

Ghimire, B., Lee, C., Yang, J., & Heo, K. (2015). Comparative leaf anatomy of some species of Abies and Picea (Pinaceae). *Acta Botanica Brasilica, 29* (3), 346-353.

Gokmen, H. (1970). *Açık Tohumlular (Gymnospermae)*, T.C. Orman Bakanlığı Orman Genel Müdürlüğü Yayınları, Sıra No:523, Ankara.

Hammer K. A., Carson C. F., & Riley T. V. (1999). Antimicrobial Activity of Essential Oils and Other Plant Extracts, *Journal of Applied Microbiology 86*, 985-990.

Hosseinzadeh, S., Jafarikukhdan, A., Hosseini, A., & Armand, R. (2015). The Application of Medicinal Plants in Traditional and Modern Medicine: A Review of *Thymus vulgaris*. *International Journal of Clinical Medicine*, *6* (9), 635.

Karapınar, M., & Aktuğ, Ş. E. (1986). Baharatların Antimikrobiyal Etkileri I. Bitkinin Yaprak veya Çiçek Kısmından Köken Alan Baharatlar, *Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi*, *B4* (2), 115-126.

Kırbağ, S., & Bağcı, E. (2000). *Picea abies (L.) Karst* (L.) Karst. Ve *Picea orientalis (L.)* (L.) Link Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Aktivitesi Üzerine Bir Araştırma, *Journal of Qafqaz University, III* (I): 183-190.

Korukluoğlu, M., Sertel, S., & Karakaş, R. (2005). *Salmonella* ve *Shigella*'nın Gelişmesini Engelleyen Tıbbi Bitkiler ve Esansiyel Yağlar, *Gıda Kongresi*. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, İzmir, 19-21 Nisan, s. 334-337.

Mouhssen, L. (2004). Methods to Study the Phytochemistry and Bioactivity of Essential oils. *Phytother. Res. 18,* 435-448.

Orman Genel Müdürlüğü, (OGM). (2018). Ormanlarımızda Yayılış Gösteren Asli Ağaç Türleri Dergisi, 8.Baskı Sy12-Ankara .

Popescu, G. H. (2009). Introducere in Botanica Filogeneticã, Craiova, p. 353.

Sarıbaş, M. (2008). *Dendroloji I Gymnospermae,* Ankara: Donmez Ofset, ISBN: 9789753871013.

Sarıboğa, B., & Korkmaz, H. (2002). Bazı Tıbbi Bitkilerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin İn Vitro İncelenmesi XVI. *Ulusal Kimya Kongresi, Konya,* Harran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, Şanlıurfa.

URL-1. 25/03/2019 tarihinde https://acikders. ankara.edu.tr/ pluginfile.php/6 3155 / mod_resource/content/0/1.Ders.%20TIBB%C4%B0%20B%C4%B0TK%C4%B0LER%C4%B0N%20TAR%C4%B0H%C3%87ES%C4%B0.pdf adresinden alınmıştır.

URL-2. 27/03/2019 tarihinde http://www.ktu.edu.tr/dosyalar/15_01_01_dd78e.pdf adresinden alınmıştır.

URL-3. 27/03/2019 tarihinde http://content. lms.sabis.sakarya. edu.tr/Uploads/ 4444727/34305/ibreliler_picea_ladin.pdf adresinden alınmıştır.

Yaltırık, F. (1988). *Dendroloji Ders Kitabı I, Gymnospermae.* İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi. Yayınları, Yayın No: 3443, OF Yayın No:386, İstanbul.

Yaltırık, F., & Efe, A. (1988). Trakya Vejetasyonuna Genel Bakış ve İğneada subasar (Longos) Ormanları. *İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi. 38* (1): 69-75.

Yıldız, B., & Aktoklu, E. (2010). *Bitki Sistematiği, İlkin Karasal Bitkilerden Bir Çeneklilere,* Ankara: Palme Yayıncılık.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Yasemin KOCA

Doğum Yeri ve Yılı : Kastamonu / 1992

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

E-posta : yaseminteksen32@gmail.com



Eğitim Durumu

Lise : Aytaç Eruz Lisesi

Lisans : Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi/Orman Mühendisliği (2011-2015)

Mesleki Deneyim

İş Yeri : Samatlar Orman İşletme Müdürlüğü Aksudere İşletme Şefliği (2017-2018)

İş Yeri : Küre Orman İşletme Müdürlüğü Ağlı Orman İşletme Şefliği (2018-Halen)