

1. GİRİŞ

İnsanlardan önce hastalık etmenlerinin yeryüzünde bulunduğu bilinmektedir. Bu düşünce çok eski devirlere ait bazı kemik ve fosil gibi kanıtlarla da desteklenmektedir. İlk insandan itibaren hastalık etmenlerine karşı korunma çareleri aranmaya başlanmıştır. Bu korunma başlangıçta içgüdüleri yardımı ile olsa da aradan geçen uzun süre içinde bilinçli bir çabaya dönüşmüş ve insanlar çevrelerinde bulunan hem abiyotik (hava, su v.b.) hem de biyotik (mikroorganizmalar, bitkiler, hayvanlar v.b.gibi) faktörleri kendi tedavilerinde yararlandıkları obje ve araçlar olarak kullanmaya başlamışlardır [1].

Özellikle bitkilerin iyileştirici etkilerinin bulunduğu inancı insanlığın çok eski devirlerine kadar gitmektedir. Erişilebilen ilk yazılı kaynaklardan elde edilen bilgilere göre ilk insanlar, çeşitli hastalıkların tedavisi için bitkilerden yararlanmışlardır. Kullanım biçimleri ise asıl etken madde olan doğal ürünlerden çok, bitkinin kendisine veya değişik yollarla elde edilen özütlerine dayanmaktaydı [1, 2].

Yontmataş (paleolitik) çağından (M.Ö. 50000–7000) günümüze kadar Anadolu’da yaşamış olan “Anadolu insanı” çevresindeki bitkilerden yararlanmıştır. Bunları gıda, yakacak, silah, ilaç veya mesken yapımı için kullanmıştır. Hakkari’nin güneyinde yer alan Şanidar Mağarası’nda ortaya çıkartılan 50000 yıllık Neanderthal mezarı içinde bulunan ve halen bu bölgede, tıbbi amaçlı kullanılan bitki örnekleri (*Achillea*, *Alchemilla*, *Althea*, *Centaurea*, *Ephedra*, *Muscari* ve *Senecio* türlerine ait örnekler) bu varsayımın sağlam kanıtlarındandır [3, 4, 5].

Nivona kitaplığında saklanan tabletlerin çözülmesiyle M.Ö. 3000 yılına kadar uzanan Sümer, Akad ve Asur uygarlıkları döneminde de tedavinin önemli bir kısmının bitkilerden elde edilen ilaçlarla yapıldığı öğrenilmektedir [4, 6].

19. yüzyılın ortalarında Eski Mısır dönemine ait tıbbi papirüslerin bulunması, bu dönem tıbbı ve ilaçları hakkında bilgilerimizi çok genişletmiştir. Bunların en önemlisi olan Ebers papirüsünde yazan reçetelerde en çok adı geçen bitki ve bitki kısımları; acımarul, adasoğanı, ardıç meyvesi, banotu, çiğdem, hardal, hintyağı, incir, keten tohumu, kişniş, mürver, nar kabuğu, pelin otu, safran, sakız, sarısabır, soğan, tarçın ve üzümdür [4, 6].

Ayrıca Boğazköy’de bulunmuş olan Hitit tabletlerinden, insanların ilaç yapmak için genellikle yabani bitkisel drogların kullanıldığı ve drog elde etmek için bazı önemli bitkileri yetiştirdikleri anlaşılmaktadır. Bununla birlikte Hitit ve Bizans döneminde Anadolu’da elde edilen bazı drogların diğer ülkelere satıldığı da bilinmektedir [4].

Elde edilen diğer bazı kanıtlardan da insanların ilaç bileşenlerini içeren bitki lapalarını yara üzerine koymak suretiyle uzun uygulamalar yaptıkları ve bu sayede yüzlercesinin nasıl bir arada kullanılacağını öğrendikleri anlaşılmaktadır [7, 8].

Günümüzde 150000’den fazla bitki türü bilimsel olarak çalışılmış ve bunların birçoğunun tedavi edici maddeler içerdiği saptanmıştır. Bu maddeler izole edilip ilaçların hazırlanmasında kullanılabildiği gibi bitkinin kendisi de bir tedavi edici olarak kullanılabilir [9, 10, 11].

Bilindiği gibi bitkilerde fotosentez ve metabolizmaları sonucu sentezlenen ve metabolit olarak adlandırılan düzinelerce madde karışım halinde bulunmaktadır. Aslında “son derece yetenekli bir bilim adamı” olan doğanın, ustalıklarla tasarladığı kimyasal moleküllerin çoğu gelişmiş laboratuvarlarda, çağımızın gelişen teknik ve olanaklarına karşın hala sentezlenememektedir. Tıbbi bitkilerin sentezledikleri toksik maddeler, aslında doğada enfeksiyonlara, böceklere ve herbivorlara karşı koruyucu bir rol oynamaktadır. Tıbbi bitkilerin bu denli kimyasal yapı zenginliğinden, sitotoksik ve mutajenik potansiyellerinden yeni etkin ilaç molekülleri geliştirilebilmesi amacıyla yararlanılması ilaç araştırmacılarının başlıca çalışma alanını oluşturmaktadır. Bu zengin içerikten tedavi amacıyla yararlanılmasında bir diğer yaklaşım ise fitoterapidir [9, 12].

“Fitoterapi” terim olarak ilk kez Fransız hekim Henri Leclerc (1870–1955) tarafından kullanılmıştır. Leclerc’e göre fitoterapi; hastalıkların tedavi edici özellikleri olan bitkisel droglarla ya da ekstraksiyon ürünleri kullanılarak elde edilen çay, damla, kapsül, şurup, draje, tablet gibi ürünlerle iyileştirilmesidir [13].

Tüm dünyada bitkisel ilaçlarla tedavi giderek artmakta ve şimdikiye kadar görülmemiş bir popülerite kazanmaktadır [13]. Bu uygulama özellikle gelişmiş ülkelerde daha yaygındır [9]. Bitkisel ilaçlara yönelmenin başlıca nedenleri:

—Yeterli düzeyde kimya endüstrileri gelişmemiş, kalkınma yolundaki ülkelerin, memleketlerindeki bitkilerden yararlanarak kolay ve ucuz bir tedavi olanağı elde etmeleri,

—Tedavi alanına sokulan yeni sentetik bileşiklerin bazılarında görülen tehlikeli yan etkiler (Bitkisel droglar çok uzun zamandan beri kullanıldıkları için yan etkileri çok iyi bilinmektedir),

—Bazı ilaç etken maddelerinin, bitkisel drogların sentetik olanlardan daha ucuz ve daha kolaylıkla elde edilebilmeleri,

—Bitkisel drogların birkaç etkiye birden sahip olmaları, buna karşın sentetik bileşiklerin ise genellikle tek bir etkiye sahip olmaları,

—Bazı sentetik ilaçların (antibiyotikler gibi) yan etkilerini önleyebilmek için diğer bazı ilaçlarla birlikte kullanılma ihtiyacı göstermeleri (bitkisel droglarda böyle bir durumun bulunmaması) [4].

Dünya Sağlık Örgütü (WHO)’nün 91 ülkenin farmokopedilerine ve tıbbi bitkileri üzerine yapılmış olan bazı yayınlara dayanarak hazırladığı bir araştırmaya göre tedavi amacıyla kullanılan bitkilerin toplam miktarı 20000 civarındadır [13].

Ancak P. Genso’nun yaptığı bir araştırmaya göre ise Türkiye’de 140 kadar tıbbi bitki kaydedilmiştir. Bunlar 1948 ve 1974 yıllarındaki kayıtlardır. Halbuki

halen Türkiye’de tedavi amacıyla kullanılan tıbbi bitkilerin çeşidi en az 500 civarındadır. Bu örneğin diğer ülkeler içinde de geçerli olabileceği düşünülürse gerçekte tıbbi bitki sayısının 100000 civarında olması gerekmektedir [4].

Dünya Sağlık Örgütü, dünya nüfusunun % 60’nın sentetik ilaçları hiç kullanmadığını, 3/4’nün ise kendi geleneksel kültürlerindeki, bitkisel kaynaklı olan ilaçlara güvendiğini ve bunları kullandığını saptamıştır. Amerika’da halen ticari olarak bitkilerden ekstre edilen ilaçların % 75’i etnobotanik bilgiler sonucunda elde edilmiştir. Yine Amerika’da reçetelenmemiş ilaçların % 25’i doğal ürünlerken, % 25’i de doğal ürünlerden hareketle türevlenen maddelerden oluşmaktadır. Rusya’da kullanılan ilaçlardan 1/3’ünden fazlası bitkisel kökenli olup sentetik birçok ilacın elde edilmesine karşılık bu oran değişmemektedir [13].

Tıbbi bitki ürünleri sadece genel sağlık ve yaygın olan küçük rahatsızlıkları önlemek için değil, aynı zamanda ciddi kronik özellikteki hastalıkların tedavisinde de tercih edilmektedir. Son zamanlarda birçok hasta, çok yönlü ilaçları, vitaminleri ve şifalı bitkileri aynı anda kullanmaktadır. Fakat burada asıl dikkat edilmesi gereken konu; bu birlikte kullanım sırasında ilaç ve şifalı bitkinin birbiri üzerine olası etkisidir. Bu etkileşim sinerjik veya antagonistik olabilmekte ve tedavi sırasında olumlu sonuçlar beklenirken ciddi olumsuz sonuçlara da sebep olabilmektedir [14].

Bitkisel kökenli moleküller tedavide kullanılırken, her maddenin yararlı fizyolojik etkilerinin yanı sıra toksik bir etkisinin de bulunabileceği unutulmamalıdır. Ünlü bilim adamı Paracelsus’un (17.yy.) “bir maddenin tedavi edici ve zehir etkileri arasındaki fark miktardır, dozudur” sözü bu moleküllerin fizyolojik etkilerinden yararlanma koşullarını çok güzel bir şekilde anlatmaktadır. Basit bir örnek olarak atropini göz önüne aldığımızda aslında son derece zehirli bir madde olmasına karşın, tedavilerde önemli bir ilaç etken maddesi olarak kullanılmaktadır [12].

Bu yüzden bitkisel ilaçların ve uygulamalarını iyi anlayabilmek için onların botaniklerinin, kimyasının, farmakolojisinin, toksikolojisinin ve klinik etkilerinin iyi bilinmesi gerekmektedir [13].

Aromatik ve tıbbi bitkilerin uçucu terpen hidrokarbonları (alifatik, siklik) ile onların yerini tutan oksijenik izoprenoid türevleri ve analogları geniş bir çeşitlilik göstermektedir. Bu maddelerin karışımları uçucu yağ olarak bilinmektedir [15]. Uçucu yağlar başlıca monoterpen, seskiterpen ve diterpenlerden meydana gelmektedir [16].

Uçucu yağlar hemen hemen bütün kokulu bitkilerden distilasyonla izole edilebilen, genellikle oda sıcaklığında sıvı ve yeni distile edildiğinde renksiz, yağ kıvamında, uçucu karışımlardır. Çiçek, meyve, tohum, yaprak, kök, gövde gibi değişik organların değişik dokularında bulunabilmektedirler [17, 18, 19].

Bitki kimyasalları arasında yer alan uçucu yağlar uzun yıllardan beri tedavide kullanılan droglar arasında yer almaktadır. Halk tıbbında kullanılma amaçları esas alınarak bu droglar üzerinde yapılan farmakolojik araştırmalar sonucunda biyolojik etkilerinin bazıları bilimsel olarak da açıklanmıştır [20].

Etken maddelerine göre etkileri değişmekle birlikte birçok uçucu yağın karminatif, koroletik, sedatif, diüretik, antiseptik gibi etkileri olduğu kanıtlanmıştır [21, 22, 23]. Bunun yanında uçucu yağların bazı bakteri ve mantar türleri üzerinde antibakteriyal ve antifungal etkilerinin de olduğu yıllardan beri bilinmektedir [24, 25, 26, 27, 28, 29]. Bu yüzden farmakolojide, eczacılıkta, fitopatolojide, tıbbi ve klinik mikrobiyolojide, koruyucu madde olarak da yiyeceklerde kullanılmaktadırlar [15]. Bu özelliklerinden dolayı birçok tıbbi bitki arasına uçucu yağ taşıyan bitkilerde girmiştir. Fakat bazı yan etkilerinin de olduğu bilinmektedir [20, 30].

Bitkilerin uçucu yağ içermeleri veya buna benzer sekonder metabolizma ürünleri sentezlemeleri iklimle yakından ilişkilidir. Genel iklim koşullarında meydana gelen ekstrem değişiklikler bu ürünlerin miktarında da değişikliklere neden olmaktadır [31]. Bununla birlikte toplama periyodu, dehidrasyon prosedürü, depolama şartları ve izolasyon metotları gibi parametrelerin birkaçı da uçucu yağın varlığını ve miktarını etkileyen diğer etmenlerdendir [15].

Aromatik taksonlar içinde yer alan Apiaceae, Asteraceae, Lamiaceae, Myrtaceae ve Rosaceae, gibi bazı familyalara ait türlerde bulunduğu bilinen uçucu yağlar, yaygın olarak çalışma konusu olmuşlardır [30].

Chalabian ve arkadaşları çalışmalarında Asteraceae, Capparidaceae, Dipsacaceae, Lamiaceae ve Poaceae, familyalarına ait *Achillea wilhelmsii* C. Koch'de dahil olmak üzere birçok türün hidrodistilasyonla uçucu yağını izole etmişler ve *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri* ve *Escherichia coli* üzerinde antimikrobiyal özelliklerini araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlarda *A. wilhelmsii* uçucu yağının güçlü antimikrobiyal etkileri olduğunu gözlemlemişlerdir [32].

Asteraceae (Compositae) kozmopolit bir familyadır fakat daha çok ılıman ve subtropik bölgelerde yaygındır [33]. 1100'den fazla cinsi ve 23000'den fazla türü ile çiçekli bitkilerin en büyük familyasıdır. Ülkemizde 133 cinsi ve 1156 kadar türü bulunur. Çoğu seskiterpen içerir. Türleri genellikle her dem yeşil, çalı, yarı çalı veya çok yıllık otsudur [34, 35, 36]. Asteraceae familyasına ait 7 cins ki bunlardan *Achillea*'nın 7, *Anthemis*'in 6 türü olmak üzere toplam 20 türü, halk ilacı olarak kullanılmaktadır [37].

Achillea 120'ye yakın türüyle yabani olarak yetişen ve tıbbi bitki familyaları arasında yer alan Asteraceae'nin önemli bir cinsidir [38, 39, 40]. Kuzey yarımkürede geniş bir dağılım gösterir [41, 42]. İlıman kuşakta da yetişir [38], Akdeniz iklim bölgelerinin tipik bitkisidir [15]. Avrupa ve Asya'da yaklaşık 85, Güney Amerika'da ise birkaç tür ile temsil edilir [43, 44]. Türkiye'de toplam 42 *Achillea* türü (48 takson) bulunmaktadır ve bunlardan 22'ü endemiktir [40, 45, 46].

1994 yılında Maffei ve arkadaşları 10 *Achillea* türünün uçucu yağ kompozisyonlarını GC/MS analizi ile belirlemişlerdir. Söz konusu türlerin uçucu yağlarının temel bileşen analizleri sonucunda, bu türlerin orijinleri ile ilgili bir ayırım sunmuşlardır. Buna göre; Balkan türleri olan *Achilla clypeolata* Sm., *A. crithmifolia* Waldst. & Kit. ve *A. tenuifolia* Lam. açıkça Batı ve Orta Avrupa türlerinden (örneğin; *A. macrophylla*, *A. pannonica*, *A. pyrenaica* ve *A. taygetea*), Kuzey Asya

türlerinden *A. sibirica*'nın ise *A. biserrata* ve *A. filipendulina*'dan ayrıldığını belirlemişlerdir [47].

Çeşitli etkileri nedeniyle halk ilacı olarak kullanıldığı bilinen farklı *Achillea* türlerinin bazı ekstraktlarının ve uçucu yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri rapor edilmiş ve birçok araştırmanın konusu olmuştur.

İsrail'de Barel ve arkadaşları 2002 yılında yaptıkları çalışmada *Achillea fragrantissima*'dan elde edilen uçucu yağın farklı gram (+), gram (-) bakteriler ve *Candida albicans* üzerine etkisini araştırmışlardır. Elde edilen yağ, silika jel kolonda petrol eterinde (30°C–40°C) eter gradiyenti aracılığı ile fraksiyonlamışlardır. Daha az polar bileşik içeren iki fraksiyon sadece *Candida albicans* üzerinde, daha fazla polar bileşik içeren fraksiyonların ise test edilen bütün mikroorganizmaların gelişimini inhibe ettiğini belirtmişlerdir. Bu bileşiklerden birini de terpinen-4-ol olarak tanımlamışlardır. Ticari olarak elde edilen terpinen-4-ol'ünde de aynı antimikrobiyal aktiviteyi gösterdiğini kaydetmişlerdir [48].

Barbour ve arkadaşları, Lübnan'da yabani yetişen ve halk ilacı olarak kullanılan 27 bitki türünün farklı kısımlarından elde edilen su ve metanol ekstraktlarının *in-vitro* koşullarda antimikrobiyal özelliklerini araştırmışlardır. İki farklı lokaliteden toplanan *Achillea damascena*'nın su ekstraktı test mikroorganizmalarından sadece *Staphylococcus aureus* üzerinde etkili olurken, metanol ekstraktının *E. coli* hariç tüm test mikroorganizmaları üzerinde etkili olduğunu tespit etmişlerdir [7].

Achillea mitolojik bir geçmişe de sahiptir. Günümüze kadar gelen bilgilere göre; İlyada Destanı kahramanlarından Achilles'in savaşıdan sonra kanamalarını durdurmaları ve yaralarını iyileştirmeleri için bu bitkilerden askerlerine dağıttığı bilinmektedir. O zamanlardan beri bu cins Achilles'den dolayı *Achillea* adı ile anılmıştır. Günümüzde de hala yara iyileştirici özelliğinden dolayı halk arasında tedavide kullanılmaktadır [44].

Yapılan kimyasal çalışmalar sonucunda *Achillea* uçucu yağlarının monoterpen [25], seskiterpen [39, 49], alkan [39], germakren ve flavonoidlerden [39, 50] meydana geldiği saptanmıştır.

1997 yılında Vieira ve arkadaşları *Achillea agregatum*'un flavonoidlerini ve germakrenlerini araştırmışlardır. Toprak üstü kısımlarıyla yaptıkları çalışmada ageratriol 9-*O*-asetilageratriol, 1-dehidroageratriol, 1 (10)-epoksigermacra-5,9-diol ve 5,4-dihidroksi-3,7-dimetoksiflavon, krisosplenetin, penduletin, hispidulin, sirsileol gibi monoasetatları ortaya çıkarmışlardır [50].

Todorova ve arkadaşları çalışmalarında; Bulgaristan'nın farklı bölgelerinden toplanan *Achillea clypeolata* türüne ait 6 örnek kullanmışlardır. Bunlardan Güney-Batı Bulgaristan'dan toplanan örnekte yeni bir seskiterpen alkol izole etmişlerdir. Bu yeni seskiterpen alkolü eudesm-4 (15)-en-3a,7a,11-triol olarak tanımlamışlar ve clypeotriol olarak isimlendirmişlerdir [51].

Simic ve arkadaşları, *Achillea asplenifolia*'nın hidrokarbon fraksiyonunu GC ve GC/MS ile analiz etmişlerdir. Bu analiz sonucunda n-alkan homologu (C₂₁-C₃₃) olan tek karbonlu bileşiklerin baskın olarak dağıldığını, ana bileşenin ise nonakosan (C₂₉ % 25.5) olduğunu bulmuşlardır [52].

Werner ve arkadaşları *Achillea pannonica*'nın çiçek başlarının diklorometan ekstraktlarından üç seskiterpen izole etmiş ve yapılarını MS, IR, NMR spektroskopik analizleri ile tanımlamışlardır. Bununla birlikte GC/MS ve GC/FTIR teknikleri kullanılarak uçucu yağın bir bileşeni olan spatulenol'ü belirlemişlerdir [53].

Achillea türleri etnofarmakolojik öneme de sahiptir [54]. Bu bitkilerin toprak üstündeki bazı kısımları, uçucu yağları ve ekstraktları farmakolojide, kozmetikte, solunum, sindirim, üreme, boşaltım ve dolaşım sistemleri düzensizliklerinde kullanılmaktadır [15, 55].

Çeşitli *Achillea* türleri;

—Kronik hazımsızlık, Gastrit, gastrik ve duodenal Ülser, anoreksia (kilo kaybı), gibi sindirim sistemi düzensizliklerinde, sindirim sistemi mukozası için genel bir tonik ve gaz giderici olarak,

—Kan basıncını düşürücü olarak; kasların etrafındaki damarların rahatlamasında, damarlarda meydana gelen şekil bozukluklarının ve damar tıkanıklıklarının giderilmesinde, varisli ve kan dolaşımının yavaşladığı toplardamarların iyileştirilmesinde ve inatçı hipertansiyonların tedavisinde,

—Mensurasyon periyodunun düzenlenmesinde, kadın üreme sisteminde meydana gelen iltihapların tedavisinde, hatta fibroid ve uterus tümörlerinde,

—Üriner sistemde meydana gelen tüm enfeksiyonlarda, böbrek ve mesanede antiseptik olarak ayrıca hemoroit tedavisinde,

—Soğuk algınlığı ve grip gibi üst solunum yolu enfeksiyonlarında; öksürük, ateş ve fazla mukus salgılanmasının giderilmesinde,

—Ayrıca bunların yanında iltihaplı ağır yaraların iyileştirilmesinde ve enfeksiyon veya kaşıntı gibi bazı durumlarda göz gibi organların temizlenmesinde cilt yıkayıcı olarak kullanılmaktadır [55, 56, 57].

Karamenderes ve Apaydın çalışmalarında *Achillea nobilis* L. subsp. *sipylea* (Schwarz) Bassler'den elde edilen toplam ekstraktların fare duodenumları üzerinde antispazmotik etkisi olduğunu kaydetmişlerdir [9].

Achillea üyeleri arasından en çok bilinen tür *A. millefolium* (civanperçemi)' dur. Gerek ekonomik değeri gerekse iyileştirici özelliklerinden dolayı uçucu yağlarının kimyasal kompozisyonu ve antimikrobiyal aktivitesi en fazla çalışılmış olan türdür [4, 43, 58]. Türkiye'de endemik olan 22 *Achillea* türünden yedi tanesi **Millefolium** seksiyonuna aittir [45].

Candan ve arkadaşları 2003 yılında yaptıkları çalışmada *A. millefolium* subsp. *millefolium* Afan.'un metanol ekstraktlarının ve uçucu yağlarının *in-vitro* şartlarda antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerini araştırmışlardır. Uçucu yağının GC/MS analizi sonucunda ana bileşenleri; 1,8-sineol, kamfor, α -terpineol ve β -pinen olmak üzere, 36 bileşik tanımlamışlardır. Çalışma sonucunda; ekstraktların polar fazının antioksidan aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. Bunun yanında metanolik ekstraktların suda çözünmeyen kısımlarının ya çok düşük ya da hiç aktivite gösterememesine rağmen uçucu yağın altı mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal özellik gösterdiğini belirlemişlerdir [43].

Kubelka ve arkadaşları *A. millefolium* grubunun seskiterpenoidlerinin kemotaksonomik ilgilerini morfolojik, anatomik, sitolojik ve fitokimyasal veriler aracılığıyla değerlendirmişlerdir. *Achillea setacea*, *A. asplenifolia*, *A. roseoalba*, *A. collina*, *A. ceretanica*, *A. pratensis*, *A. distans* subsp. *styriaca*, *A. millefolium*, *A. pannonica*'nın seskiterpen örneklerini tanımlamışlar ve her bir tür için karakteristik özelliklerini ortaya koymuşlardır [42].

A. nobilis (ayvadane, bayır pelini, kurt otu), *A. wilhelmsii*, *A. aleppica* (yılan otu, yılan çiçeği), *A. armenorum* (baytaran), *A. biebersteinii* (pire otu, sarı civanperçemi), *A. kotschyi*, *A. multifida* (ebülmülk), *A. setacea* (tilkikuyruğu, yilandili) *A. coarctata* ve *A. oligocephala* (çortuk) da halk ilacı olarak kullanılan türler arasındadırlar [4, 54, 59].

Tanker ve Küsmenoğlu Anadolu'da geniş yayılış gösteren *A. wilhelmsii* C. Koch'den elde ettikleri uçucu yağ gaz kromatografisi ile incelemişler ve uçucu yağın α -pinen, kamfor, β -pinen, sabinen, γ -terpinen, terpinolen, borneol, linalool, limonen gibi bileşiklerden meydana geldiğini belirlemişlerdir [60].

Palic ve arkadaşları (2000), Yugoslavya'dan toplanan üç *Achillea* türünün sabit yağlarının kimyasal kompozisyonunu ve bileşenlerini çalışmışlar, GC analizleri sonucunda *A. ligulata*, *A. nobilis*, *A. critmifolia*'dan elde edilen sabit yağların ana bileşenlerinin palmitik ve linoleik asit olduğunu bulmuşlardır [39].

Karamendenderes ve arkadaşları, Türkiye'nin 7 farklı lokalitesinden topladıkları *A. setacea* çiçeklerinden hidrodistilasyonla elde edilen uçucu yağların GC ve GC/MS analizleri sonucu ana bileşenleri saptamışlar ve bu uçucu yağların *in-vitro* şartlarda antimikrobiyal aktivitelerini incelemişlerdir. Mikrodilüsyon tekniğini kullanarak uçucu yağların % 5'lik konsantrasyonlarda, *Proteus vulgaris*, *Salmonella thyphimurium* ve *Candida albicans* üzerinde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduklarını saptamışlardır [59].

Bader ve arkadaşları Ürdün'den toplanan iki *Achillea* türünün uçucu yağ kompozisyonunu çalışmışlar ve iki yağın birbirinden çok farklı bileşenleri içerdiğini gözlemişlerdir. *A. santolina* uçucu yağının ana bileşenleri; 1,8 sineol, 4-terpineol ve *trans*-karveol, *A. biebersteinii* uçucu yağının ana bileşenleri; *cis*-askaridol, *p*-simen ve karvenon oksit olduğunu tespit etmişlerdir. Her iki türde de ortak olarak yüksek oranda kamfor gözlemişlerdir [61].

Tzakou ve Laukis 1993 yılında Yunanistan'da *A. crithmifolia* çiçeklerinden izole ettikleri uçucu yağı GC/MS ile analiz etmişler ve ana bileşiklerin α -terpineol (% 25) ve kamfor (% 19.89) olduğunu rapor etmişlerdir [62].

Weyerstahl ve arkadaşları *A. eriophora* türünün çiçek ve yapraklarının uçucu yağlarının % 98'ini tanımlamışlardır. Temel bileşenleri 1,8 sineol (% 34) ve pinenler (% 13) olarak belirlemişlerdir[63].

Shawl ve arkadaşları, *A. millefolium*' un uçucu yağını izole ederek GC ve GC/MS analizleri ile 86 bileşen tanımlamışlardır. Ana bileşenlerin ise kamfor (% 28), 1,8 sineol (% 2) ve germakren-D (% 12) olduğunu tespit etmişlerdir [64].

Litvanya'da Mockute ve Judzentiene'nin yaptığı bir çalışmada, 21 habitattan toplanan 40 *A. millefolium ssp. millefolium* örneklerinin yaprak ve çiçeklerinden elde edilen uçucu yağların GC ve GC/MS analizleri ile kimyasal kompozisyonlarını belirlemişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre; örneklerin uçucu yağ kompozisyonlarındaki farklılıklara göre, aynı ana bileşenleri içeren örnekleri dört ana grup altında toplamışlardır. I. grup (4 örnek içerir) ağırlıklı olarak borneol ve

kamfor, II. grup (4 örnek içerir) kamazulen, β -pinen, III. grup (7 örnek içerir), *trans*-nerolidol, β -pinen ve IV. grup (25 örnek içerir) β -pinen ve 1,8 sineol içerdiğini gözlemlemişlerdir [65].

Puerta ve arkadaşları *A. ageratum* uçucu yağı üzerinde yaptıkları çalışmada ana bileşenler olarak artemisia keton, artemisia alkol, β -karyofillen oksit ve 1,8 sineol'ü tespit etmişlerdir. Uçucu yağı gram pozitif *Bacillus* sp. ile *Staphylococcus aureus* ve gram negatif *Escherichia coli* üzerinde etkili bulmuşlardır [66].

Achillea türleri tedavi edici özelliklerinin yanında çiçeklerinin güzelliği ile de dikkatleri çekmiştir. Bu özelliklerinden dolayı kültür ve süs bitkiciliği konularında ekonomik açıdan oldukça önemlidirler [55].

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 hayat devrelerinin belirli bir zamanında oluşturulmakta ve miktarı da belirli zamanlarda en yüksek düzeye erişmektedir. Drogun etkili bileşikler bakımından mümkün olduğu kadar zengin olması istendiği için, bitkisel materyaller, bu maddelerinin en yüksek olduğu dönemlerde toplanmalıdır [4].

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 [4].

1.1.2 Kurutma

Toplanan bitkisel materyal, nadiren taze halde kullanılır. Bitkisel materyallerin içerdikleri etkin maddelerin değişime uğraması, bozulması veya yok olmasını önlemek için 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.

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 olduğu düşünülerek kurutma sırasında materyalin bu ısıda çok az bir süre kalmasına özellikle dikkat edilmelidir [4].

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 kurutulur. 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 [4].

1.2 Uçucu Yağlar

Uçucu yağlar bitkisel droglardan distilasyonla elde edilen, sıvı ve oda sıcaklığında buharlaşabilen, karakteristik kokulu, keskin veya acı tatlı, yağimsi karışımlardır. Uçucu yağlar su ile karışmadığından ve su yüzeyinde bir tabaka oluşturduğundan “yağ” adı ile anılmaktadırlar. Açıkta bırakıldıklarında buharlaşabildiklerinden dolayı “uçucu ya da eterik yağ” adı ile anılırlar. Ayrıca genellikle güzel kokulu olduklarından bunlara “esans” da denilmektedir.

Uçucu yağlar bazen bitkinin tamamında bazen de sadece belirli kısımlarında bulunur. Yaprak, çiçek, meyve, tohum, kök ve rizomlar bitkinin uçucu yağ taşıyan kısımlarındandır. Uçucu yağ gövdenin daha çok odunsu kısmında yoğun olarak bulunurken, çiçek sapı ve kabuklarında ise nadiren bulunur[17, 67].

Uçucu yağlar bitkilerde en çok epidermanın salgı tüylerinde, iç dokulardaki uçucu yağ hücrelerinde, şizogen, lizigen, veya şizolizik yolla meydana gelen büyük salgı ceplerinde, salgı kanallarında ve nadiren parankima dokusu içinde yayılmış olarak bulunur [19, 67]. Uçucu yağlar ışığı fazla kırdığından sitoplazma içerisinde parlak damlacıklar şeklinde görülür [17].

Uçucu yağların drogdaki miktarları çok değişiktir. Tipik uçucu yağ içeren droglar en az % 0.01, genellikle % 1–2, bazı durumlarda ise % 20’ye varan oranlarda uçucu yağ taşırlar. Bugüne kadar araştırılan yaklaşık 300 familyadan % 30’unda uçucu yağa rastlanmıştır. Uçucu yağlara genellikle tohumlu bitkilerde rastlanmaktadır. Önemli uçucu yağ taşıyan familyalar Apiaceae, Asteraceae, Coniferae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Rosaceae ve Rutaceae, dir [67, 68, 69].

Uçucu yağlar çeşitli bileşiklerin karışımlarıdır. Uçucu yağlarda bulunan bileşiklerin % 90’nı terpenlerdir. Diğer bileşikler ise fenilpropan türevleri, basit fenoller ve onların eterleri, fenol karbonik asitler, dallanmamış hidrokarbürlar ve bunların türevleri, kısa zincirli asitler, kükürt içerikli bileşikler ve azot içeren bileşiklerdir [67].

1.2.1 Uçucu Yağların Genel Özellikleri

—Uçucu yağlar genellikle oda sıcaklığında sıvıdır. Fakat sıvı olmayanları da vardır (gül yağı, anason yağı gibi). Kağıt üzerine damlatıldığında bıraktıkları leke, sabit yağlarda olduğu gibi iz bırakmaz, zamanla kaybolur.

—Uçucu yağlar yeni distile edildiğinde çoğunlukla renksizdir. Bazıları kahverengi, kırmızı, yeşil veya mavi olabilir (karanfil esansı kırmızı-kahverengi, papatya esansı mavi).

—Uzun süre depolama veya ışık ve oksijen etkisi ile reçineleşirler. Bu durum özellikle bir koku değişimi ve yağın kalitesinde azalışa neden olur.

—Uçucu yağların yoğunlukları 0.84 ile 1.18 g/ml arasında değişir. Uçucu yağların çoğu sudan hafiftir. Bazı uçucu yağlar ise (tarçın yağı, karanfil yağı gibi) sudan ağırdır.

—Uçucu yağların kaynama noktaları yüksektir (150 °C' den 300'ün üzerine kadar). Normal basınç altında ve distilasyon sırasında bir kısım bileşik parçalanır.

—Petrol eteri, kloroform, benzen, eter, etanol ve sabit yağlar gibi lipofilik çözücülerde kolayca çözülür. Sudaki çözünürlüğü azdır (1/200 veya daha az oranda).

—Uçucu yağların keskin kokusu ve tadı vardır. Koku-tat keskinliği ile nüansları, molekül yapısına (stero kimyasal yapı, dipol momenti v.s.), buhar basıncı ve uçucu yağ içindeki bileşiklerin karışım oranına bağlıdır.

—Uçucu yağlar optikçe aktiftir. Optik çevirme derecesi ve büyüklüğü aynı bitkinin değişik zaman ve bölgelerden elde edilen uçucu yağlarında bile varyasyon gösterebilir.

—Uçucu yağların irritan (uyarıcı), rubefiyen (deriyi kızartan), nervinatik (sinir yatıştırıcı), antiromatizmal, ekspektoran (balgam söktürücü), antitussif (öksürüğü kesen), diüretik (idrara söktürücü), emmenagog (adet söktürücü), karminatif (gaz giderici), stomasik (mideyi), koleretik (safra sökücü), antihelmentik (solucan düşürücü), antienflamatuar, antiseptik, antibiyotik ve sedatif etkileri tespit edilmiştir [67, 68, 69].

—Bitkisel bir dokunun uçucu yağ ihtiva edip etmediğini anlamak için dokudan alınan kesitlere Sudan III adı verilen bir boya uygulanır. Eğer yağ damlacıkları varsa, boyayı eriterek turuncu bir renk alır [17, 35].

1.2.2 Uçucu Yağların Elde Edilişi

1.2.2.1 Distilasyon

Sıvılar sabit bir basınç altında ısıtılacak olursa, buhar basıncı dış atmosfer basıncına eşit olduğu anda kaynamaya başlar. Buhar basıncının dış atmosfer basıncına eşit olduğu sıcaklığa sıvının “kaynama noktası” denir. Kaynama noktasının da üzerinde ısı verilmeye devam edilirse sıvının sıcaklığı artmaz ancak buharlaşmaya başlar. İşte, sıvıların ısı yardımı ile buhar haline dönüşmesi ve bu buharın da tekrar yoğunlaştırılarak sıvı haline dönüştürülmesi işlemine “distilasyon (damıtma)” denir. Özellikle uçucu yağlar distilasyonla elde edilirler ve uçucu yağların elde edilmesinde başlıca üç tip distilasyon yönteminden faydalanılır [69, 70].

1.2.2.1.1 Su Distilasyonu

Kaynamaya dayanıklı olan kurutulmuş bitkisel materyalin damıtılmasında tercih edilen bir yöntemdir. 100 °C kaynayan su yardımıyla, kaynama noktası çok yüksek olan maddelerin su molekülleri tarafından sürüklenmesi sağlanır. Geleneksel olarak uçucu yağ üretiminde kullanılan imbikler ve laboratuvar tipi Clevenger aygıtı

bu yöntem esasına göre çalışır. Uçucu yağ içeren bitkisel materyal suyla birlikte kaynatılır. Genelde 1 hacim materyal için 3 su materyal kullanılır. Kaynama sırasında su buharı ile birlikte uçucu yağlar soğutucuya sürüklenir ve burada yoğunlaşarak toplama kabına (florentin) birikir. Sudan hafif olan uçucu yağ su yüzeyinde toplanarak, ayrı bir kaba alınır [69, 70].

1.2.2.1.2 Su ve Buhar Distilasyonu

Özellikle kaynamaya dayanıklı olmayan, hem kuru hem de taze bitkisel materyalin damıtılmasında tercih edilen bir yöntemdir. İçinde bitkisel materyal olan suyun (maseratın) içine direkt buhar verilerek hem çabuk kaynaması sağlanır hem de distilasyon işlemi kısaldır. Materyal içinden geçen buharın aşırı sıcak ve basınçlı olması önemli bir husustur. Su buharı ile sürüklenerek soğutucu ünitesine gelen uçucu yağlar yoğunlaşarak damıtık su ile birlikte florentin kabında birikir [69, 70].

1.2.2.1.3 Buhar Distilasyonu

Daha çok taze bitkisel materyallerin damıtılmasında kullanılan bu yöntemde; damıtma kazanının ızgarası üzerine konan materyalin içerisinden doğrudan sıcak su buharı geçirilir. Buhar, damıtma kazanının dışında tesis edilen bir buhar kazanından veya basit olarak kazanın altında yakılan ateşle üretilir. Damıtma işlemi çok hızlı yapıldığından çok tercih edilen bir yöntemdir. Sıcak su buharı materyalde bulunan yağ keseciklerini patlatır ve uçucu yağı alarak soğutucu ünitesine kadar sürüklenir. Orada yoğunlaştıktan sonra florentin kabında aromatik su (hidrosol) altta, uçucu yağ üstte kalacak şekilde toplanır. Çoğunlukla aromatik suda uçucu yağ tamamen ayrılmadığı için, bu sular ayrı bir kazanda ikinci bir defa damıtılarak uçucu yağın tamamı alınmaya çalışılır [69, 70].

Distilasyonla uçucu yağ elde edilirken şunlara çok dikkat edilmelidir:

—Distilasyon kazanı uçucu yağın niteliklerine ve özelliklerine uygun olan malzemelerden (bakır, krom veya çelik) imal edilmelidir.

—Distilasyon süresi ve bu süreçte uygulanan sıcaklık uçucu yağın miktarını ve kalitesini azaltmayacak şekilde olmalıdır.

—Distilasyon yöntemi uçucu yağın elde edileceği bitki türüne ve organına uygun olmalıdır.

—Genellikle çiçekler doğrudan, yapraklar hafif ufalandıktan sonra, kök ve rizomlar küçük parçalara ayrıştırıldıktan sonra damıtılmalıdır.

1.2.2.2 Ekstraksiyon

Bitkisel droglardan istenilen kokulu veya organik maddeleri elde etmek için çözücüler kullanılarak uygulanan bir yöntemdir. Ekstraksiyon yöntemi kullanılan çözücü maddenin cinsine göre 3 farklı şekilde yapılabilmektedir:

1.2.2.2.1 Organik Çözücü İle Ekstraksiyon

Bu ekstraksiyon yönteminde, uygun organik çözücüler yardımıyla bitki materyalinden etken maddenin ayrıştırılması sağlanır. Distilasyon yönteminde su ve buhar kullanılırken, ekstraksiyon yönteminde organik çözücüler olarak petrol eteri, benzen, kloroform, hekzan gibi solventler kullanılır. Etkin bir ekstraksiyon için en fazla başvurulan yöntemlerden birisidir. Bu yöntem, endüstriyel olarak ekstraktör denilen ekstraksiyon cihazlarında uygulanmaktadır. Laboratuvarlarda ise çoğunlukla soxhlet cihazında ekstraksiyon yapılmaktadır. Organik çözücü ile ekstraksiyon tekniğinde temel ilke; ekstrakte edilecek bitkisel materyalin sürekli olarak bir solventten (hekzan, petrol eteri, dietileter, kloroform, metanol, aseton gibi)

geçirilmesine dayanır. Materyaldeki etken maddeyi en iyi çözen solventler seçilmelidir. Uygun bir solvent bitkisel materyaldeki bütün etken maddeyi(örneğin uçucu yağlar) çözerek bünyesine katar. Solvent, uçucu yağdan evaporatör yardımıyla uzaklaştırıldığında geride konkret adı verilen katı bir madde üretilir. Konkret, önce saf bir alkolle muamele edilir ve sonra vakum distilasyonu ile alkol uçurulursa bu defa absolü (absolute) adı verilen değerli bir sıvı üretilir. Absolü, ana koku bileşenlerince (örneğin gül absolünde fenil etil alkol) zengin olduğu için parfümeri üreticileri tarafından çok tercih edilir [69, 70].

1.2.2.2.2 Sabit Yağ İle Ekstraksiyon (Soğurma)

Uçucu yağ miktarının az olduğu ve buna bağlı olarak diğer distilasyon ve ekstraksiyon yöntemlerinin uygun olmadığı durumlarda uçucu yağ elde etmek için başvurulan bir yöntemdir. Bu yöntemde bitkisel materyal kokusuz, renksiz, yumuşak bir sabit yağ karışımı ile belli bir süre temasta bırakılır. Bu işlem için en çok iç yağı ve saf domuz yağı kullanılmaktadır. Bu işlemin soğuk yağ ile yapılmasına anforaj, sıcak yağ ile yapılmasına ise maserasyon denir [69, 70].

1.2.2.2.1 Anforaj

Özellikle parfümeri endüstrisinde, parfüm ve pomat ekstraktlarını elde etmek için uygulanan eski bir yöntemdir. Gül, yasemin, çuha çiçeği ve sümbül gibi uçucu yağları çok az ancak çok değerli olan çiçeklerden uçucu yağ elde etmek için tercih edilmektedir. Anforaj yöntemi, çiçeklerdeki uçucu yağın katı yağlara soğurulmasına dayanır. Ahşap çerçevelere (5 cm yükseklikte, 50 cm uzunluğunda ve 40 cm genişliğinde) oturtulmuş cam levhaların üzeri saf don yağı, domuz yağı veya mumsu madde karışımları ile kaplanır. Bunun üzerine çiçek taç yaprakları serilir. Kullanılan uçucu yağlara doyuncaya kadar bu işlem yeni taç yapraklarıyla tekrarlanır. Katı yağların uçucu yağlarla doymuş haline pomat adı verilir. Pomat, etil alkol gibi uçucu solventler yardımıyla distile edilir, daha sonra düşük sıcaklık ve

düşük basınç altında etil alkol buharlaştırılır ve geride sadece saf uçucu yağ bırakılır [69, 70].

1.2.2.2.2 Maserasyon

Aromatik bitki materyalinin, uygun sıcaklığa getirilmiş bir sıvı yağ içinde ekstrakte edilmesi işlemidir. Fransız gülü, portakal çiçeği, mimoza ve sümbül gibi değerli çiçeklerden maserasyon yoluyla uçucu yağ elde edilebilmektedir. Emici olarak kullanılacak olan sıvı yağlar (eritilmiş koyun ve sığır böbrek yağları, domuz yağı, iç yağı, zeytinyağı, badem yağı, parafin ve gliserin gibi) renksiz ve kokusuz olmalıdır. Porselen veya emaye kaplı bir varil içine eritici yağ doldurulur. Bu varil, içi su dolu daha büyük bir varil içine yerleştirilir ve 40–50 °C' ye kadar ısıtılır. Aromatik çiçekler bir tülbende sarılarak yağa daldırılır ve bu şekilde birkaç gün bekletilir. Daha sonra, iç yağı filtre presle süzülerek içindeki eski materyal alınır ve yenisiyle değiştirilir. Bu işlem defalarca tekrar edilirse geride uçucu yağlara doymuş bir kokulu yağ elde edilir. Bu kokulu yağ önce etil alkol distilastonu ve sonra vakum distilasyonu uygulanacak olursa uçucu yağ elde edilmiş olur [69, 70].

1.2.2.2.3 Sıvılaştırılmış Gaz Ekstarksiyonu (Süper Kritik Ekstraksiyon)

Gazlar, belirli bir basınç altında, özellikle süper kritik evre bölgesinde önemli bir çözücü özellik kazanırlar. Gazlar bu sayede rafinerasyon ve ekstraksiyon amaçlı olarak da kullanılırlar. Süper kritik ekstraksiyon tekniği oldukça yeni bir uygulamadır. Bu yöntemde uygulanabilecek pek çok gaz vardır ancak en çok CO₂ gazı tercih edilmektedir. Çünkü CO₂ patlama tehlikesi ve toksik etkisi olmayan, oldukça saf ve ucuz olarak elde edilebilen bir gazdır. CO₂'in kritik noktası 31°C' de 73 kg/cm² basınçtır. Yüksek basınç altında CO₂ gazı sıvılaşır ve bitki materyalinden uçucu yağları absorbe edecek forma dönüştürür. Uçucu yağları taşıyan sıvı CO₂, bitki materyalinden alınarak farklı bir kazana aktarılır. Burada, basınç azaltılarak CO₂ tekrar gaz formuna dönüştürülür ve geride saf uçucu yağlar kalır. Hiperbarik olarak da adlandırılan bu yöntem, oldukça pahalı ekipmana ihtiyaç gösterir. Ancak,

bazı önemli avantajları vardır; daha yüksek verim elde edilir, düşük sıcaklıkta çalışıldığından enerji tasarrufu sağlar ve yasemin gibi çok hafif uçucu yağların ekstraksiyonunu sağlar [69, 70].

1.2.2.4 Sıkma ve Diğer Mekanik Yöntemler

Bazı droglardan damıtma yoluyla uçucu yağ elde edilmesi durumunda, elde edilen uçucu yağlar hızla bozulmaktadır. Bu tip droglardan mekanik yöntemle uçucu yağ elde edilmeye çalışılır. Mekanik yöntemde presleme (sıkma) esastır. Bu yöntem limon, portakal, bergamut ve mandalina gibi turunçgil meyve kabuklarından uçucu yağ elde etmeye çok uygundur. Meyveler soyulduktan sonra elde edilen kabuklar kıyılır ve öğütülür. Daha sonra, uçucu yağların çıkartılması için hidrolik presten geçirilir. Presleme sonrası elde edilen usareler filtrelerden geçirilerek süzülür, santrifüj edilerek ayrıştırılır, alkol ilave edilerek veya ısıtılarak bulanıklık yapan maddeler uzaklaştırılır. Bu şekilde soğuk presle su ve uçucu yağ karışımı elde edilir. Bir süre bekletildikten sonra karışımdaki su ve uçucu yağlar ayrışır. Bu yöntemle elde edilen uçucu yağlar hızla okside olma eğiliminde olduklarından uygun koşullar da muhafaza edilmelidir. Sıkma yöntemiyle işlenen 400–500 kg turunç kabuğundan 2 kg kadar turunç yağı elde edilebilmektedir. Bunun yanında meyveler, üzeri yeterince keskin ve çıkıntılı bir kaseyin çeperinde yuvarlanır. Böylece uçucu yağ taşıyan salgı cepleri parçalanmış olur. Kaseye düşen yağ damlacıkları toplanır.

İyi bir kalite ve yüksek bir randıman elde etmek için materyal ve uçucu yağın özelliklerine uygun bir yöntem seçilmesi büyük önem taşımaktadır [69, 70].

1.2.3 Uçucu Yağların Rolü

Uçucu yağlar genellikle metabolizma artığı olarak kabul edilmektedir. Uçucu yağların yüzey gerilimi ve evaporasyon üzerindeki etkilerini göz önünde tutan araştırmacılar bunların bitkilerde su kaybını önleyici bir rolleri bulunduğu fikrini ileri sürmektedirler. Kurak ve sıcak bölgelerde yaşayan bitkilerin çoğunun uçucu yağ

taşımakta olması da bu fikri kuvvetlendirmektedir. Bunun yanında bitkiyi enfeksiyonlardan, böceklerden ve herbivorlardan korumakta da görevli oldukları düşünülmektedir [9].

1.2.4 Uçucu Yağların Teşhisi

Uçucu yağlar karmaşık bileşimli karışımlar olduklarından genel bir teşhis deneyi yoktur. Bununla beraber koku, etanoldaki çözünürlük, yoğunluk, kırılma indisi ve optik çevirme gibi özelliklerinden yararlanarak uçucu yağları birbirinden ayırmak mümkündür [68].

1.2.5 Uçucu Yağdaki Bileşiklerin Belirlenmesi

Bir karışımdaki organik bileşiklerin gaz kromatografisi ile kolayca ayrılarak tanınabilir. 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 karışımlardaki 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, hareketli 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 durucu fazdan taşıyıcı faza ve taşıyıcı fazdan durucu faza farklı hızlarla geç 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 iki 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 [71, 72].

1.3 Uçucu Yağların Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesinde Kullanılan Teknikler

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

1.3.1 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.

1.3.2 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 konsantrasyonunun 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 [73, 74].

1.5 Asteraceae (Compositae) Familyasının Genel Özellikleri

Bazıları lateks içeren, tek yıllık, iki yıllık veya çok yıllık otsu, bazen çalımı ya da bodur ağaçlar. Yapraklar; alternat ya da dekussat dizilişli, genelde stipülsüz (nadiren stipüllü), tam kenarlı, dişli, loblu ya da değişik şekillerde parçalanmış.

Tek çiçekler genellikle çok sayıda (nadiren 1), sapsız ve bir ya da çok sıralı koruyucu fillariler ile çevrilmiş kapitulumlarda toplanmış. Çiçekler aktinomorf ya da zigomorf simetrlili. Receptakulum çıplak ya da palealı, uzun tüylü, ya da kılçıklı. Çiçekler epigin, ya hepsi hermofrodit ve protandrous ya da dişi, erkek ya da verimsiz. Kaliks, ovaryumun ucunda kılçık ya da pullardan oluşan bir papus ya da korolla şeklinde; papus bazen tamamen yok. Korolla 4–5 birleşik petalli, tüpsü (alt kısımda daralmış yukarıya doğru çan şeklide). Petaller filiform, ligulat ya da nadiren bilabiata, genellikle 3 veya 5 dişli, nadiren yok. Stamenler (4) 5 petallere bağlı, filamentler genellikle serbest, anterler stilus etrafında silindir şeklinde yanlardan birleşik (singenezis), nadiren serbest. Ovaryum alt durumlu, tek lokuslu, bir bazal anatrop ovullü; sitilus genellikle yukarıda iki dala ayrılmış. Tüpsü çiçeklerin stilusları genellikle fırça şeklinde tüyler taşır. Meyve aken. Genellikle sapsız ya da bir gagadan çıkan kalıcı ya da düşücü papuslu [36, 45].

1.6 *Achillea* Cinsinin Genel Özellikleri

Çok yıllık otsu, genellikle tabanda odunlu. Yapraklar tam kenarlıdan 3-4 pinnat parçalıya kadar, alternat. Kapitula heterogam, radiat, saplı ya da \pm saplı, genellikle uçta koribus durumunda toplanmış, çok nadir olarak uçta tek. İnvölükrum oblong, silindirik, ovat, yarıküresel ya da basık. İnvölükrum oblong-silindirik, ovoid, yarıküresel veya basık. Fillariler çok sıralı, zarsı kenarlı. Çiçekler beyaz ya da sarı, dilsel çiçekler dişi, üç dişli; tüpsü çiçekler hermofrodit, düzenli, beş dişli, korolla tüpleri \pm basık, taban şişkin ve akenin ucunu sarmış. Receptakulum \pm düz ya da kubbemsi, palealı, palea lanseolat ya da oblong, zarsı, orta damar paleanın ucuna ulaşmaz. Aken tüysüz, düz, basık, kanatsız, oblong ya da obovat, ucu geniş, papus yok [36, 45].

1.7 Türkiye’de Yetişen *Achillea* Türleri ve Yayılışları [45]

Türkiye’de 22’ü endemik olmak üzere 42 *Achillea* türü yetişmektedir. Altı seksiyon altında toplanan bu türlerin listesi aşağıda verildiği gibidir. Endemik olan türler (*) ile işaretlenmiştir.

Seksiyon: **Ptarmica** (DC.) W. Koch.

1. *A. biserrata* Bieb. (Kuzey Anadolu)
- *2. *A. fraasii* Schultz Bib. var. *troiana* Aschers. & Heimerl. (Kuzey-Batı Anadolu)
- *3. *A. multifida* (DC) Boiss. (Kuzey-Batı Anadolu)

Seksiyon: **Artrolepis** Boiss.

4. *A. membranacea* (Lab) DC. (Doğu Anadolu)
- *5. *A. branchyphylla* Boiss. & Hausskn. (Doğu Anadolu)
6. *A. oligocephala* DC. (Doğu Anadolu)
- *7. *A. sipikorensis* Hausskn. & Bornm. (İç Anadolu)

Seksiyon: **Babounya** Boiss.

- *8. *A. sieheana* Stapf (İç Anadolu)

Seksiyon: **Santolinoidea** DC.

9. *A. wilhelmsii* C.Koch (İç Anadolu, Güney ve Doğu Anadolu)
10. *A. falcata* L. (Güney Anadolu)
- *11. *A. cucullata* (Houskn) Bornm. (Orta ve Doğu Anadolu sınırlarında)
12. *A. vermicularis* Trin (Doğu Anadolu)
- *13. *A. monocephala* Boiss. & Bal. (Adana)
- *14. *A. boissieri* (Hausskn.) Boiss. (Maraş)
- *15. *A. schischkinii* Sons. (Doğu Anadolu)
- *16. *A. lycaonica* Boiss. & Heldr. (Orta Anadolu)
- *17. *A. magnifica* Hub.–Mor. (Orta Anadolu)
18. *A. tenuifolia* Lam. (Doğu Anadolu)
- *19. *A. phrygia* Boiss. & Bal. (İç Anadolu)
- *20. *A. gypsicola* Hub.–Mor. (Orta Anadolu)
21. *A. aleppica* DC. (Orta Anadolu)

- *22. *A. pseudoaleppica* Hub. – Mor (Doğu Anadolu)
- *23. *A. teretifolia* Willd. (İç ve Güney Anadolu)
- 24. *A. cretica* L. (Kıyı Güney ve Batı Anadolu, Adalar)
- *25. *A. armenorum* Boiss. & Hausskn. (Maraş)
- *26. *A. sintenisii* Hub.–Mor (İç Anadolu)
- *27. *A. goniocephala* Boiss. & Bal. (Güney ve Doğu Anadolu)
- *28. *A. spinulifolia* Fenzl ex Boiss. (Güney Anadolu)
- *29. *A. milliana* H. Duman (Osmaniye)
- *30. *A. ketenoglui* H. Duman (Ankara)

Seksiyon: **Millefolium** (DC.) W. Koch.

- 31. *A. latiloba* Ledeb. ex Nordm. (Kuzey Doğu Anadolu)
- 32. *A. grandifolia* Friv. (Çoğunlukla Anadolu'nun dış kısımları)
- 33. *A. millefolium* L. (Genelde Kuzey ve Doğu Anadolu)
- 34. *A. setacea* Waldst. & Kit. (Geniş dağılımlı fakat Doğu Anadolu'da az)
- 35. *A. crithmifolia* Waldst. & Kit. (Trakya)
- *36. *A. kotschyi* Boiss. (İç ve Kıyı Anadolu dağlarında)
- *37. *A. nobilis* L. (Güney Doğu Anadolu dışında geniş dağılımlı)

Seksiyon: **Filipendulinae** (DC.) Boiss.

- 38. *A. filipendulina* Lam. (Güney Doğu Anadolu)
- 39. *A. clypeolata* Sm. (Trakya)
- 40. *A. coarctata* Poir. (Geniş dağılımlı fakat lokal)
- 41. *A. biebersteinii* Afan. (Batı Anadolu dışında geniş dağılımlıdır)
- *42. *A. cappadocica* Hausskn. & Bornm. (İç Anadolu'da seyrek dağılımlıdır)

1.8 *Achillea* Türlerinin Teşhis Anahtarı [45]

1. Yapraklar bölmesizden 3–4-pinnatisekte kadar, linear, lanseolat ve oblongtan genişçe ovata kadar; segmentler ne transvers ne imbrikat **A Grubu**

2. Yapraklar 1–2-pinnatisekt, filiform ya da linear, nadiren daha geniş (linear-oblong; *A. armenorum*); segmentler küçük, transvers, imbrikat ya da biraz ayrı

B Grubu

A Grubu

1. Yapraklar tam, oblongdan linear-lanseolata kadar

2. Dilsî çiçekler 7–8 (-10), dilsî çiçekler beyaz, 4–8 mm

1. biserrata

2. Dilsî çiçekler 4–5 (-9), dilsî çiçekler sarı, 1–1.5 mm

8. sieheana

1. Yapraklar pinnatifitten pinnatisekte kadar

3. Gövdenin orta kısmındaki yapraklar oblongdan geniş ovata kadar 8–20 × 3–7 cm

4. Birincil segmentler her kenarda 10–15 adet; dilsî çiçekler 2–4, sarı, 0.7–1 mm

36. filipendulina

4. Birincil segmentler her kenarda 4–6 tane; dilsî çiçekler 4–5, beyaz, 1.5–2,5 mm

30. grandifolia

3. Gövdenin orta kısmındaki yapraklar lineardan oblong-ovata kadar, 5×3 cm'den daha büyük değil

5. Korimbus seyrek; kapitulumlar 4–20 (*A. latiloba*'da 80'e kadar), pedunkul 2.5–15 mm, dilsî çiçekler beyaz, 2–5 mm

6. Gövdenin orta kısmındaki yapraklar segment çiftli, 1-pinnatifit, 15–20 ya da daha fazla, rakis 2–3 mm genişlikte **29. latiloba**

6. Gövdeye ait orta yapraklar 2–3-pinnatisekt, eksen 1mm'den daha geniş değil

7. Yapraklar seyrek, kalkık tüylü **3. multifida**

7. Yapraklar sık, basık, ipeksi-tomentos **2. fraasii var. troiana**

5. Korimbus sık, kapitula çok sayıda (20-) 50–150 ve daha fazla, pedinkul 1-4 mm, dilsî çiçekler beyaz ya da sarı, 0.5–2 mm

8. Yapraklar sık, basık ya da ± basık, yünsü ya da ipeksi-tomenyos; dilsî çiçekler sarı, 0.5–1 mm

9. Bazal yapraklar basık, yünsü-tomentos, birincil segmentler dişli ya da loblu, 1–2 x 0.5–1 cm **37. clypeolata**

9. Bazal yapraklar ± basık ipeksi-tomentos, birincil segmentler pinnatisekt, 0.2–0.7 x 0.1–0.4 cm **38. coarctata**

8. Yapraklar seyrek, basık ya da ± sık, kalkık, ipeksi ya da tomentos değil; dilsî çiçekler sarı ya da beyaz, 0.8–2 mm

10. Dilsî çiçekler altın sarısı

11. Yapraklar ± homomorfik, bazal yapraklar gövde yapraklarına benzer, uç segmentler kılçıklı ya da linear, 1–6 x 0.2–1 mm, rakis 1 mm kadar genişlikte **39. biebersteinii**

11. Yapraklar heteromorfik, bazal yaprakların son lobları 4 x 0.3–0.8 mm kadar genişlikte, gövdenin üst yaprakları geniş, loblu ya da 1-pinnatisekt, segmentler 10 x 1.5–4 mm kadar, rakis 2–4 mm genişlikte **40. cappadocica**

10. Dilsî çiçekler yüzde beyaz ya da alt yüzü beyaz, üst yüzü krem ya da soluk sarı

12. Dilsî çiçekler her iki yüzde beyaz

13. Yapraklar heteromorfik, bazal yaprakların uç segmentleri ve/veya rakis gövde yapraklarınkinden belirgin olarak dar

14. Gövde tabanda stolonlu; bazal yapraklar 2–3-pinnatisekt, rakis genellikle dişli; gövdenin orta kısmındaki yapraklar oblong-ovat, 2–3 x 1–2 cm **34. kotschy**

14. Gövde tabanda stalonsuz; bazal yapraklar 2-pinnatisekt, rakis dişli değil; gövdenin orta kısmındaki yapraklar linear-oblong, 3–7 x 1–2 cm **33. crithmifolia**

13. Yapraklar homomorfik, bazal yaprakların son lobları gövde yapraklarıinkine benzer

15. Yaprakların uç segmentleri akuminat, kılıksız, 0.1–0.3 (0,5) mm genişlikte, genellikle sık; dilsî çiçekler 1–1.2 mm; involukrum 3–4.5 x 1.5–3 mm **32. setacea**

15. Yaprakların uç segmentleri mukronat, dar oblong, 0.2–0.5 mm genişlikte, sık değil; dilsî çiçekler 1.5–2.5 mm; involukrum 4–5.5 x 2.5–4 mm **31. millefolium**

12. Dilsî çiçekler üst yüzeyde krem ya da soluk sarı

16. Gövdenin orta kısmındaki yapraklar linear-oblong, 3–7 x 1–2 cm, birincil segmentler düzensiz bölünmüş, rakis dişli değil **33. crithmifolia**

16. Gövdenin orta kısmındaki yapraklar oblong-ovate, 2–5 x 1–3 cm, birincil segmentler ± düzenli 1-pinnatifitten 1-pinnatisekte kadar, rakis genellikle dişli **35. nobilis**

B Grubu

1. Dilsiz çiçekler 8–15, 4–12 mm

2. Dilsiz çiçekler sarı

3. İnvolokrum 9–10 x 10–15 mm; fillariler geniş saydam kenarlı

4. membranacea

3. İnvolokrum 4–6 x 4.5–10 mm; fillariler dar saydam kenarlı

6. oligocephala

2. Dilsiz çiçekler beyaz ya da krem rengi (genellikle kuruduklarında ise soluk sarı)

4. Gövde 1-kapitulalı; dilsiz çiçekler 6–8 mm

7. sipikorensis

4. Gövde 1–3-kapitulalı; dilsiz çiçekler 4–4.5 mm

5. brachypylla

1. Dilsiz çiçek 3–8, genellikle 4–6 (*A. armenorum*'da nadiren 10 ya da *A. monocephala*'da 14 kadar), 0.5–4.5 mm, genellikle 1–3 mm

5. İnvolokrum oblong-silindirik, boyu eninin yaklaşık 2 katı

6. En alttaki fillariler triangular-ovattan lanseolata kadar, basık tüylü

21. aleppica

6. En alttaki fillariler subulat, lineardan linear-lanseolata kadar, \pm kalkık tüylü
22. pseudoaleppica
5. İvolükre oblong-ovoidden yarıküresele kadar, boyu eninin 1,5 katından fazla değil
7. Gövde derin oluklu; dilsî çiçekler sarı
8. İvolükrum yarıküresel ya da biraz basık, 5–6 x 6–8 mm
17. magnifica
8. İvolükrum ovattan yarıküresele kadar, 3–4.5 x 2.5–4 (5) mm
9. Yapraklar seyrek düzenlenmiş, imbrikat değil, linear-lanseolat, basit ya da 3 parçalı, segmentler kuspîdat, tam kenarlı
18. tenuifolia
9. Yapraklar sık ya da seyrek, imbrikat, 3 parçalı, segmentler oblongdan lanseolata, kenarlar dentrikulate
16. lyconica
7. Gövde yuvarlak, boyuna çizgili, oluklu değil, dilsî çiçekler beyaz ya da sarı
10. Dilsî çiçekler beyaz ya da krem rengi (*A. spinulifolia*'da genellikle kurduğunda soluk sarı)
11. Dilsî çiçekler 8–10; yapraklar linear oblong, 0,5–1 cm
25. armenorum
11. Dilsî çiçekler 5–8; yapraklar linear, 1–4 cm
12. Korimbler genellikle 10–40 kapitulumlu; involükrum 3–6 mm genişlikte
13. Bitki narin, gövde tabanda 1.5 mm çapında; fillariler subakut ya da obtus, dar saydam kenarlı; dilsî çiçekler 1.5–3 mm
23. teretifolia

13. Bitkiler güçlü, gövdeler tabanda 2.5–4 mm çapında; fillariler obtus, saydam kenarlı değil; dilsî çiçekler 2.5–4.5 mm **24. cretica**

12. Korimler 1–12 kapitulumlu; involükrum 4–10 mm genişlikte

14. Kapitulum 1–4; involükrum 5–10 mm genişlikte, fillariler subakut **26. sintensisii**

14. Kapitulum 4–12; involükrum 4–7 mm genişlikte, fillariler akut ya da obtus

15. Dilsî çiçekler 2.5–4.5 mm; fillariler obtus, kahverengimsi yarısaydam kenarlı **27. goniocephala**

15. Dilsî çiçekler 1–3 mm; fillariler akut, yarısaydam kenarsız **28. spinulifolia**

10. Dilsî çiçekler sarı

16. Gövde 1–8 kapitulumlu, 7–12 cm, pedinküllerin ucunda **13. monocephala**

16. Kapitulumlar daha fazla sayıda, eğer kapitulum sayısı az ise pedinküller 2 cm'den uzun değil

17. Gövdeler ve involükrum sık, uzun, kalkık, yünsü tüylü

18. Gövde kısa, 5-10 cm; korimler 1.5–2.5 cm genişlikte, kapitulumlar 1–6, pedinkul 3–16 mm; orta fillariler geniş ovattan yuvarlağa kadar, 2.5–3.5 mm genişlikte **20. gypsicola**

18. Gövde uzun, 10–40 cm; korimbler 2–8 cm genişlikte, kapitulumlar 8–40, pedunkul yok ya da 5 mm'ye kadar; orta fillariler lanseolat-oblong, 2–2.5 mm genişlikte

19. *phrygia*

17. Gövdeler ve involükrum kısa, genellikle basık, nadiren kalkık, seyrek ya da sık tüylü

19. İnvolükrum eliptikten oblonga kadar, yarıküresel değil, 2.5–4 mm genişlikte, tabanda dar

20. Bitkiler narin, 30–70 cm uzunlukta; yapraklar 0.5–1 mm genişlikte; involükrum 2.5–3 mm genişlikte, 3.5 mm uzunlukta; dilsî çiçekler 1 mm

14. *boissieri*

20. Bitkiler güçlü, 15–35 cm uzunlukta; yapraklar 1.5–3.5 mm genişlikte; involükrum 3–4 mm genişlikte, 4.5–6 mm uzunlukta; dilsî çiçekler 2–3.5 mm

15. *schischkinii*

19. İnvolükrum yarıküreselden basığa kadar, nadiren genişçe ovat, 2,5–8 mm genişlikte, tabanda geniş, yuvarlak

21. İnvolükrum yarıküreselden basığa kadar, kısa kalkık tüylü; fillariler geniş zarsı kenarlı

12. *vermicularis*

21. İnvolükrum geniş ovattan yarıküresele kadar, ± basık tomentos; fillariler zarsı kenarlı değil

22. Korimbler sık, pedunkul 1–4 (-7) mm; dilsî çiçekler 1–1.5 mm; gövde yaprakları ± eşit uzunlukta, gövde boyunca eşit olarak düzenlenmiş; en üstteki korimbus kadar ulaşır

9. *wilhelmsii*

22. Korimbler ± seyrek, pedunkul 2–20 (-40) mm; dilsî çiçekler 1.5–3.5 mm; üst gövde yaprakları daha kısa, seyrek düzenlenmiş, genellikle korimbe ulaşmaz

23. Fillarileri subakut; palea lanseolat, genellikle akut, yalnız üst kısım tüylü **10. falcata**

23. Fillariler obtus; palea lanseolat, genellikle obtus ve kukulatalı, uç kısmında daha sık olmak üzere her yer tüylü **11. cucullata**

1.9 Çalışmada Kullanılan *Achillea* Türleri

Bu çalışmada **Filipendulinae** seksiyonundan; *A. cappadocica* Hausskn. & Bornm., *A. clypeolata* Sm., *A. coarctata* Poir. ve **Santolinoidea** seksiyonundan *A. gypsicola* Hub.-Mor., *A. spinuifolia* Fenzl ex Boiss., *A. teretifolia* Willd., *A. vermicularis* Trin. türleri kullanılmıştır. Bu örneklerden elde edilen uçucu yağların kimyasal kompozisyonları belirlenmiş ve antimikrobiyal aktivite özellikleri araştırılmıştır.

Sekt. Filipendulinae

Dilsi çiçekler (2-) 4–6, her iki yüzü sarı, yapraklar segmentli, ne transver ne de imbrikat. Bu seksiyon bir tanesi endemik olmak üzere 5 türü içerir. Hemen hemen Türkiye'nin her bölgesinde **Filipendulinae** seksiyonu üyelerine rastlanmaktadır.

***A. cappadocica* Hausskn. & Bornm.**

25–50 cm boyunda. Gövdeler yuvarlak, boyuna çizgiliden yuvarlak-köşeliye kadar, \pm sık kalkık pubescent. Yapraklar yeşil, seyrek pilose, 1–3-pinnatisekt, gövde yaprakları bazal yapraklardan farklı (yapraklar heteromorfik). Bazal yapraklar kısa spetiollü, oblong-linear, $7-10 \times 1.5-2$ cm, 3-pinnatifid, linear setamsı \pm sık segmentli, uç loblar kısa mukronat, $1.5-4 \times 0.3-0.8$ mm, rakis $0.5-1$ mm. Gövdenin orta kısmındaki yapraklar 2-pinnatifid, lanseolat, birincil segmentler 1–3 parçalı, lineer-lanseolat loplu, uç loblar ve rakis $1-1.5$ mm genişlikte; gövdenin üst kısmındaki yapraklar 1 (-2)-pinnatifid ya da pinnatisekt, $2-4 \times 0.5-2$ cm, uç loplar $3-10 \times 1.5-4$ mm, rakis $2-4$ mm. Kapitulum $50-150$ ya da daha fazla, korimbler $4.5-12$ cm genişlikte, pedunkul $4-8$ mm. İnvolükrum genişçe ovat, $4 \times 3-3.5$ mm. Fillariler soluk yeşil, orta damarlı, pubescent, zarsı kenarlı, dıştakiler oblong kadar ovat, subakut, içtekiler genişçe ovat kadar oblong, obtus. Dilsî çiçekler 4–7, altın sarısı, 1.5 mm; tüpsü çiçekler 20–40. Kuru yamaçlar, stepler ve ekin tarlalarında; $1200-2100$ m yükseklikte yetişirler [45].



Şekil 1.1 *Achillea cappadocica* (Fotoğraf: Turan ARABACI)
(A: Genel görünüm B: Dip yapraklar C: Gövde yaprakları D: Korimbus alttan
E: Korimbus üstten)

***A. clypeolata* Sm.**

12–70 cm boyunda. Gövde yuvarlak, boyuna çizgili, beyaz tomentos. Yapraklar sık, kısa, basık, yünsü-tomentos; bazal yapraklar linear-lanseolat, petiolsüz (2–11 cm) 10–18 × 1.5–4 cm, 1-pinnatipartit, segmentler 20–25 çift, oblongdan oblong-lanseolata kadar, 1-2 x 0.5-1 cm, akut, ± ince dişli; gövde yaprakları daha küçük, daha az akut. Kapitulum 50–150 veya daha fazla, korimbler 3–6 cm genişlikte, pedunkul 1–2 (-3) mm. İnvölükrum oblong, 3–4 × 2–3 mm. Dıştaki fillariler linear-setamsı'dan linear lanseolata kadar, akut, içtekiler oblongdan ovata kadar, ± obtus, zarımsı kenarlı ya da değil, tomentos. Dilsî çiçekler 2–4, sarı, 0.5–1 mm; tüpsü çiçekler 10–20. Ormanlık ve kayalık yamaçlarda yetişir [45].



Şekil 1.2 *Achillea clypeolata* (Fotoğraf: Turan ARABACI)
(A: Genel görünüm B: Gövde yapısı C: Korimbus alttan D: Korimbus üstten)

***A. coarctata* Poir.**

15–70 cm boyunda. Gövde yuvarlak, boyuna çizgili, kalkık, yünsü-tomentos. Yapraklar sık, ipeksi-tomentos; bazal yapraklar linear-lanseolat, kısa petiollü, 4–10 (-30) × 0,4–1.5 (-3) cm, 2- pinnatisekt, 20–50 ya da daha fazla çift segmentli, oblong, pinnatifid, 2–7 × 1–4 mm; gövde yaprakları daha küçük ve daha dar. Kapitulum 20–150 ya da daha fazla, korimbler 3–7 cm genişlikte, pedunkuller 1–3 mm. İnvölükrum geniş ovat 3–4 × 2–4 mm. Dış fillariler linear-setamsı, akuminat ya da akut, içtekiler linear-lanseolat, ± obtus, kenarları zarsı değil, tomentos. Dilsî çiçekler 5–6, sarı, 1mm; tüpsü çiçekler 15–30. Bozkırlar, volkanik yamaçlar, kumlu topraklar, buğday tarlalar ve 450–2500 m yükseklikte yetişir.



Şekil 1.3 *Achillea coarctata* (Fotoğraf: Turan ARABACI)

Sekt. Santolinoidea

Yapraklar genellikle linear, pinnatisekt, segmentler çok az transvers, imbrikat ya da bir dereceye kadar ayrı. Fillariler kalıcı, tabanda bağlı değil. *Achillea* cinsinin en geniş seksiyonudur. Son yıllarda tanımlanan iki endemik türüyle birlikte toplamda 16'sı endemik olmak üzere 22 türü kapsar. Bu seksiyonun yayılım merkezi İç Anadolu'dur.

A. gypsicola Hub.–Mor.

5–20 cm boyunda. Gövde yuvarlak, boyuna çizgili, yünsü, sık, uzun tüylü. Yapraklar sık kalkık tüylü, linear, gövdenin orta kısmındaki yapraklar 1.5–2 × 0.15–0.2 cm, pinnatisekt, segmentler sık imbrikat, 3 parçalı, loplara ± dairesel, dentikulat. Kapitulum 1–6, korimbus 1.5–2.5 cm genişlikte, pedunküller 3–16 mm. İnvolutrum 5–6×3.5–4 (-6) mm ovattan subgloboza kadar. Fillariler ovata kadar orbikular, obtus, sık, kalkık-yünsü, bazen tüysüz, geniş zarsı kenarlı. Dilsel çiçekler 4–6, altın sarısı, 2–2.5 (-4) mm; tüpsü çiçekler 15–35. Step, kireç, cipsli yamaçlar ve *Artemisia* steplerinde, 670–800 m yüksekliklerde yetişir [45].



Şekil 1.4 *Achillea gypsicola* (Fotoğraf: Turan ARABACI)
(A: Genel görünüş B: Kapitulum)

***A. spinulifolia* Fenzl ex Boiss.**

25–35 cm boyunda. Gövde yuvarlak, boyuna çizgili, basık beyaz tomentos. Yapraklar sık ya da seyrek yünsü kalkık tüylü, linear, gövdenin orta kısmındaki yapraklar 1.5–2.5 × 0.1–0.2 cm, pinnatisekt, segmentler gençken sık imbrikat, tam, nadiren 3 loplular ya da 3 parçalı, triangular akuminat ya da suborbikular loplular, loplular 0.5–1 mm, dentikulattır. Kapitulum 5–12, korimbler 1.5–5 cm genişlikte, pedunkuller 0.5–7 cm. İnvolutrum yarıküreselden başığa kadar, 3.5–5 × 4–6.5 (8-) mm, tabanda daire şeklinde. Fillariler lanseolattan ovata kadar, akut, kenarları zarsı değil, karinalı ve gençken tomentos, daha sonra tüysüz olabilir. Dilsî çiçekler 6–8, beyaz (genellikle kurduğunda soluk sarı), 1–2.5 (-3) mm, disk çiçekler 20–60. Kalkerli kayalıklar ve taşlık dağ etekleri, *Cedrus* ormanları ve 900–2000 m yükseklikte yetişir [45].



Şekil 1.5 *Achillea spinulifolia* (Fotoğraf: Turan ARABACI)

***A. teretifolia* Willd.**

(10-) 20–35 boyunda. Gövde yuvarlak, boyuna çizgili, basık-tomentos, ± tüysüz. Yapraklar ± basık-pilose, linear-filiform. Gövdenin orta kısmındaki yapraklar (1-) 1.5–3 × 0.05–0.1 (-0.15) cm, pinnatisekt, segmentler sık imbrikat, tam ya da nadiren 3 loplu, 0.5 × 0.3 mm, dentikulat. Kapitulum (6-) 10–40, korimbler 1.5-(3–7) mm genişlikte, pedunkuller (2-) 4–13 (-30) mm. İnvolutrum yarıküresel, 3–5 mm genişlikte ve uzunlukta. Fillariler ovattan lanseolata kadar, subakut ya da obtus, basık ya da ± basık, seyrek, içtekiler dar zarımsı kenarlı. Dilsî çiçekler 5–7, beyaz, (1-) 2–3 mm; tüpsü çiçekler 20–45. Step, kayalık yamaçlar, Konifer ormanları, subalpin çayırlar ve 900–2150 m yükseklikte yetişir [45].



Şekil 1.6 *Achillea teretifolia* (Fotoğraf: Turan ARABACI)

***A. vermicularis* Trin.**

20–60 boyunda. Yapraklar sık, kısa kalkık tüylü, linear, gövdenin orta kısmındaki yapraklar $1-2.5 \times 0.15-0.3$ cm, \pm içe dönük, pinnatisekt, segmentler sıkı imbrikat ya da kısmen ayrı, 0.5–1 mm, 3 loplu ya da 3 parçalı, loplar oblong, dentikulat, gövdenin üst kısmındaki yapraklar kısa, korimbosa ulaşmaz. Kapitulum 2–30 (-45), korimbler 2–8 (-10) cm genişlikte, pedunküller (3-) 5–18 mm. İnvolutrum yarıküreselden başığa kadar, $2-6 \times 2.5-8$ mm tabanda yuvarlak. Fillariler lanseolattan ovata kadar, obtus, \pm kaburgalı, dar zarsı, bazen kahverengimsi kenarlı, kalkık tüylü ya da tüysüz. Dilsî çiçekler (3-) 6–8, altın sarısı, 1–2.5 mm; tüpsü çiçekler (20-) 40–90. Step, kayalık, taşlık yamaçlar, alpin çayırlar ve 1200–3500 m yükseklikte yetişir [45].



Şekil 1.7 *Achillea vermicularis* (Fotoğraf: Turan ARABACI)

2. MATERYAL VE METOT

2.1 Materyal

2.1.1 Bitkisel Materyal

Araştırmamızda *Achillea* cinsinden **Filipendulinae** ve **Santolinoidea** seksiyonlarına ait farklı lokalitelerden toplanan 7 ayrı türün toprak üstü kısımları kullanılmıştır. Araziden toplanan bitki örnekleri gölgede ve oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Kuruma işlemi gerçekleştikten sonra bitki örnekleri 3 saat süreyle hidrodistilasyona tabi tutularak uçucu yağları izole edilmiştir. Kullanılan türlerin herbaryum örnekleri İnönü Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesinde Biyoloji Bölümü Herbaryumu'nda bulunmaktadır. Çalışmada kullanılan *Achillea* türlerine ait genel bilgiler Tablo2.1'de verilmektedir.

Tablo2.1 Çalışmada Kullanılan *Achillea* Türlerine Ait Genel Bilgiler

Toplayıcı Adı ve Bitki No	Tür Adı ve sekiyonu	Yağ verimi (%)	Lokalite	Toplama Zamanı
T.A.1560	<i>A. gypsicola</i> Hub.-Mor. (Santolinoidea)	0.03	Çankırı: Çankırı-Kalecik arası, 3.km, jipsli alanlar, 850m	20.06.2003
T.A.1586	<i>A. spinulifolia</i> Fenzl ex Boiss. (Santolinoidea)	0.019	Adana: Pozatlı-Ankara arası, 19.km kayalık yamaçlar, 100m	05.07.2003
T.A.1598	<i>A. teretifolia</i> Willd. (Santolinoidea)	0.03	Kayseri: Bakırdağ (Taşçı)-Saimbeyli arası, 23–25.km, Gebzeli geçidi, 1900m	05.07.2003
T.A. 1621	<i>A. vermicularis</i> Trin. (Santolinoidea)	0.02	Van: Ahlat-Adilcevaz arası, 10.km,1700m	02.08.2003
T.A.1567	<i>A. cappadocica</i> Hausskn. & Bornm. (Filipendulinae)	0.008	Karaman: Gülnar-Ermenek arası, Bereketli köyü çevresi, 1100m	03.07.2003
T.A.1541	<i>A. clypeolata</i> Sm. (Filipendulinae)	0.006	Kırklareli: Kırklareli-Dere köy arası, 1.km, tarla kenarları,75m	19.06.2003
T.A.1591	<i>A. coarctata</i> Poir. (Filipendulinae)	0.02	Kayseri: Develi, Soyaldı köyü, Sultan sazlığı yol ayırımı, 1100m	05.07.2003

2.1.2 Antimikrobiyal Aktivite Testlerinde Kullanılan Mikroorganizmalar

Çalışmada maya formundaki insan patojeni *Candida albicans* (klinik izolat), *Enterobacter aerogenes* NRRL 3567, *Escherichia coli* ATCC 25292, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* NRRL 123 bakterileri ve *Alternaria brassicola*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* ve *Penicillium expansum* mikrofungusları kullanılmıştır. Saprofitik mikrofunguslar

Doç. Dr. Ayşe Dilek Azaz tarafından topraktan izole edilmiştir. Tüm mikroorganizma stokları Balıkesir Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesin Biyoloji Bölümü'nde saklanmaktadır.

Enterobacter aerogenes: Dışkı florasının temel elemanlarıdır. *Enterobacter* cinsindeki bakteriler toprak ve sulara bulunan düzgün gram-negatif basillerdir. Hareketlidirler ve kolay ürerler. Laktoz içeren besiyerinde (Örn: EMB) ortası koyu olan pembe renkli konveks hafif mukoid koloniler oluşturur. İnsan ve hayvan florasında bulunabilirler. Fırsatçı patojen özellik göstererek tehlikeye açık yeni doğan ve prematüre çocuklarda, bağışıklık sistemi zayıf ve baskılanmış hastalarda, başta idrar yolları, üst solunum yolları, yara ve yanık enfeksiyonları, menenjit ve sepsisler olmak üzere çeşitli hastalıklar oluştururlar. Son zamanlarda *Enterobacter*'lerin giderek artan oranlarda hastane enfeksiyonları yaptıkları bildirilmektedir. Aynı zamanda bu mikroorganizma çok yaygın olarak sebzelerde ve toprakta da bulunmaktadır. *Enterobacter*'ler ampisilin ve sefalosporin'lere dirençli, karbenisilin ve sefotaksim gibi antibiyotiklere nispeten duyarlıdır [75, 76, 77].

Escherichia coli: 2–6 µm boyunda, 1,0–1,5 µm eninde, düz, uçları yuvarlak, çomakçık şeklinde gram-negatif bakterilerdir. Genellikle hareketlidir. Glukozda gaz oluşturur, laktozu fermente eder. Buyyon ve jelöz gibi besiyerlerinde kolayca ürerler. EMB besiyerinde küçük koyu renkli ve metalik röfle veren, SS besiyerinde ise pembe renkli koloniler oluşturur. Fakültatif anaerop olarak bu organizma bulunduğu ortamdaki oksijenin tüketimine yardımcı olur ve böylece sindirim kanalının anaerop hale gelmesini sağlar. Optimum üreme sıcaklığı 37 °C'dir. Memelilerin ve kuşların bağırsak konuğudur. İnsan ve hayvanların doğumu takiben 1–2 saat veya gün içinde su ve gıdalar ile alınarak ince bağırsağın son kısmı ve kalın bağırsak mukozasına tutunurlar. Burada normal bağırsak florasını oluşturur ve burada diğer flora bakterileri ve organizma ile bir denge halinde kaldığı sürece hastalık yapmazlar. Normal koşullarda kokuşma (putrifikasyon) / mayalaşma (fermantasyon) dengesinin düzenlenmesine ve bulunduğu sindirim kanalında özellikle K vitamini olmak üzere birçok vitaminleri üretmek gibi beslenme ile de

ilgili bazı konularda, içinde yaşadığı canlıya yardımcı olurlar. Ancak bunun yanında *E. coli*'nin bazı ırkları ise patojendir. Enteropatojen olan bu ırklar K antijeni adı verilen bir antijene sahiptirler. Bu antijen sayesinde ince bağırsak yüzeyine yapışır ve burada kolonize olurlar. Ayrıca ürettikleri bir enterotoksinle de bebek ve çocuklarda dizanteri benzeri öldürücü bir ishale neden olurlar. Aynı zamanda yaşlı kimselerde veya vücut direnci düşmüş hastalarda idrar yolları, cerrahi yara veya alt solunum yolları enfeksiyonlarına da neden olabilirler. Bu enfeksiyonlarda genellikle çoklu antibiyotiklere dirençli (R plazmidi) olan suşları rol oynar. Ampisilin, tetrasiklinler, kloramfenikol, sefalosporinler ve amigoglikozitler'in koli basili üzerine değişik etkileri vardır [75, 76, 77].

***Proteus vulgaris*:** Bu gruptaki bakteriler gram-negatif, sporsuz, kapsülsüz, çok hareketli ve bağırsak bakterilerinin genel karakterini gösteren bakterilerdir. En önemli özelliği katı besiyerinde yayılarak üremesidir. *Proteus* insan dışkısında, 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 tetanos ve gazlı kangren etkenlerini üremesini kolaylaştırarak bunların enfeksiyonlarının gelişmesine yol açar. Özellikle yeni doğan çocuklarda göbek kordonu enfeksiyonlarından kaynak bulan sepsis ve menenjit bazen epidemiler halinde görülebilir. *Proteus* cinsi üyeleri genellikle üreaz enzimi üreten bakterilerdir. Genellikle insanlarda idrar yolları enfeksiyonlarına bazen de enteritise neden olurlar. Aktif şekilde üreyi parçaladıkları için böbrek enfeksiyonlarına da sebep olabilmektedirler. Neomisin, kanamisin ve gentamisine karşı genellikle duyarlıdırlar [75, 76, 77].

***Pseudomonas aeruginosa*:** 0,6–2 µm uzunluğunda, Gram negatif basillerdir. Polar konumlu flagelları ile hareketlidirler. Tek tek, çift veya kısa zincirler halinde bulunabilirler. Bakterinin çevresinde ekstrasellüler polisakkarit yapıda bir tabaka bulunur. Fermantasyon yapamaz, glikozu okside edebilir. Çok az miktarda besin maddesi içeren nemli ortamlarda aerop üreyebilen bir bakteridir. Üreme sıcaklığı optimum 37 °C' dir. Doğada oldukça yaygındır. İnsan ve hayvan bağırsağında

bulunmaktadır. *P. aeruginosa* karakteristik olarak mavi-yeşil bir pigment oluşturur ve mavi cerahat yaparlar. Fırsatçı patojen bir bakteri olduğundan uygun şartlar altında özellikle direnci kırılmış konakçılarda yanık ve yara enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, menenjit, göz enfeksiyonları, sepsisemi, bronşit ve bronkopnömoni gibi çeşitli hastalıklara yol açar. Ayrıca *P. aeruginosa*, önemli bir denitrifiye edici bakteri olarak doğadaki azot devrinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu mikroorganizma yaygın olarak kullanılan birçok antibiyotiğe karşı doğal olarak dirençlidir. Bu direnç bakterilerin hücrelerinde bulunan R plazmitleri üzerindeki genlerle sağlamaktadır. Hastane çevrelerinde yaygın olarak bulunan bu organizma tedavi gören hastalar da enfekte etmektedir [75, 76, 77].

Staphylococcus aureus: Küçük, yuvarlak, oval şekilli gram-pozitif koklardır. Bilinen basit besiyerlerinde ve optimum 37 °C’de üreyebilirler. Fakültatif anaerop türlerdendir. Doğada oldukça yaygındır; tozda, toprakta, eşya üzerinde, insan ve hayvan deri, burun mukozası, ağız ve nazofarink florasında bulunur. Gıdalarda geliştiğinde insan ve diğer sıcakkanlı hayvanlarda geniş çapta besin zehirlenmesine neden olmaktadırlar. *S. aureus* çok sayıda endotoksin oluşturur. Bunlardan biri koagülaz olup fibrinleri koagüle eder ve pıhtılaşmasına neden olur. Endotoksinler merkezi sinir sisteminde etkili olarak yoğun kusmalarla birlikte gastrointestinal hastalıklara neden olular. *S. aureus* sarı pigmentlidir. Çıban, sivilce gibi deri-mukoza lokalizasyonları ve zatürree, osteomyelit, menenjit, artritis gibi çok sayıda sistem ve organ enfeksiyonlarına neden olur. *S. aureus* bakterilerinin, günümüz için en önemli yönleri, kullanılmakta olan kemoterapötik maddelerin birçoğuna hızla dayanıklılık kazanmaları ve bu nedenle eskiye oranla enfeksiyonlarına daha sık rastlanmasıdır [75, 76, 77].

Candida albicans: 2–3 x 4–6 µm boyutlarında ovaldir ve tomurcuklanarak ürer. Sabouraud Dextrose Agar’ da oda ısısında yapılan kültürlerinde yumuşak krem rengi koloniler yapar. Glukoz ve maltozu hem asit hem de gaz oluşturarak fermente eder. Sukrozdan asit oluşturur, fakat laktozu etkilemez. Fırsatçı ve patojen bir tür mayadır. *Candida*’ lar, insan ve hayvan mukozalarında kommensal olarak bulunur.

Genital patojenlerin en yaygın olanlarından birisidir. Patojenin kaynağı kolon ve vajinanın kendisidir. Ancak sağlıklı insanlarda çok az miktarda bulunur. Bunun yanında ağız mukozası ve dilde, vücudun rutubetli olduğu bölgelerde, deri katlanmalarının olduğu bölgelerde kandidiyasis denen bir enfeksiyona yol açar. *C. albicans* kontaminasyonunun olduğu bölgelerden kan veya lenf yoluyla yayılarak, ulaştığı başka bölgeleri de etkisi altına alabilir. Genellikle antibiyotiklerin kullanılması, gebelik, oral olarak alınan doğum kontrol ilaçlarının kullanılması ve bunun yanında şeker, kanser veya AIDS gibi hastalıklar nedeniyle direnci zayıflamış, özellikle hücresel bağışıklık sistemi tahrip olmuş hastalarda görülür. Tedavi amacıyla nystatin ve imidazol kullanılır [75, 77, 78].

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 çeperindeki küçük deliklerden çıkmaktadır. Konidiler düz çeperli silindirik, genellikle uca doğru sivirmekte 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 büzölmeler görülmekte, soluk veya orta derecede yeşilimsi renkte, düz çeperli veya yaşlılıkta hafifçe şişilli hale gelmektedir [79].

Aspergillus flavus: Czapek Dox Agar besiyerinde koloniler 10 günde hızla gelişerek 6-7 cm 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 [79].

A. niger: Czapek Dox Agar besiyerinde koloniler yavaş gelişmekte, 10–15 günde oda sıcaklığında 2.5–3.0 cm 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 [79].

Penicillium expansum: Hifler bölmeli, dar, genellikle 2–3 µm 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'dan 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 [80].

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.....	1000 ml

Tüplere 10'ar ml paylaşırılarak 121 °C de 20 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

Mueller Hinton Agar (Merck)

Et ekstresi.....	4 gr
Agar.....	12 gr
Kazein hidrolizatı.....	17.5 gr
Nişasta.....	1.5 gr
Distile su.....	1000 ml

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

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 dakika otoklavlanarak steril edilmiş ve 90 mm çapındaki steril petri kaplarına 15'er ml dökülmüştür.

Czapek Dox Agar (Merck)

Sodyum nitrat (NaNO_3).....	2 gr
Potasyum hidrojen fosfat (K_2HPO_4).....	1 gr
Magnezyum sülfat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$).....	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 dakika otoklavlanarak steril edilmiş ve 90 mm çapındaki steril petri kaplarına 15'er ml dökülmüştür.

Sabouraud Dextrose Broth (Merck)

Bacto pepton.....	10 gr
Bacto dekstroz.....	40 gr
Distile su.....	1000 ml

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

McFarland No:0,5 Bulanıklılık Standardı

BaCl_2 (%1,175).....	0.5 ml
H_2SO_4 (0,36N).....	99.5 ml

BaCl_2 ve H_2SO_4 karışımı 15ml'lik kapaklı tüplere dağıtılmış, kapağı parafilm ile sıkıca kapatılarak karanlıkta ve oda sıcaklığında saklanmıştır.

2.2 Metot

2.2.1 Uçucu yağların Bileşenlerinin Belirlenmesi

2.2.1.1 Gaz Kromatografisi

Analiz koşulları

Sistem	:	Hewlett-Packart 6890 GC
Kolon	:	A HP-5 MS (30 m x 0.25 mm <i>i.d.</i> 0.25 µm)
Dedektör	:	FID
Taşıyıcı Gaz	:	Helyum (1.4 ml/dk)
Split Oranı	:	1:100
Sıcaklıklar		
Kolon	:	45 °C–5 dk // 3 °C/dk //220 °C–10 dk
Enjeksiyon	:	220 °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	:	Hewlett-Packartt 5970 A
Kolon	:	HP 6890 GC (30 m x 0.25 mm <i>i.d.</i> 0.25 µm)
Sıcaklık Programı	:	45 °C–5 dk // 3 °C/dk //220 °C–10 dk
Enjektör	:	220 °C
Taşıyıcı Gaz	:	Helyum (1.4 ml/dk)
Split Oranı	:	1:100
Elektron Enerjisi	:	70 eV
Kütle Aralığı	:	10-400 u
Kütüphane	:	Wiley ve NBS Kütüphane Tarama Yazılımları

Uçucu yağların bileşenleri kütle spektrumları ve retention indisleri, daha önceden yayınlanmış referanslarla karşılaştırılarak tanımlanmıştır [81, 82].

2.2.2 Uçucu Yağların Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler

Uçucu yağların antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesinde Agar Disk Difüzyon ve Mikrobroth Dilüsyon teknikleri kullanılmıştır [83, 84]

2.2.2.1 Agar Disk Difüzyon Metodu

Steril petrilere 15'er ml olacak şekilde Mueller Hinton Agar (MHA) dökülerek petrilere düz bir zeminde donmaya bırakılmıştır. Kullanılacak olan mikroorganizmalar 24 saat öncesinden çift kuvvet Mueller Hinton Broth (MHB) içerisinde 37 °C'de geliştirilmiştir. Gelişen mikroorganizmalar mikropipet yardımıyla buldukları tüpten alınarak Mc Farland No:0.5'e (yaklaşık 10^8 CFU/ml) göre bulanıklılık ayarı yapılmıştır. Test edilecek uçucu yağlar 4 mg olmak üzere steril flokonlara tartılmış ve üzerine 2 ml saf DMSO eklenerek tam olarak çözümleri ve homojen bir karışım haline gelmeleri sağlanmıştır. Steril kabin içerisinde petrilere alt kapakların üzerinden kalemle dört eşit parçaya bölünmüştür. Her birine 20 µl yağ çözeltisi emdirilen 3 adet ve 20µl standart kloramfenikol (*Candida albicans* için ketokonazol) emdirilen 1 adet 6 mm çapında steril kağıt diskler hazırlanmıştır. Mc Farland No:0.5'e göre hazırlanan mikroorganizmalar, petrideki besiyerinin üzerini tamamen kaplayacak şekilde transfer edilmiştir. Hazırlanan diskler petrilere her parçanın tam ortasına gelecek şekilde yerleştirilmiştir. Bu şekilde hazırlanan petri kapları 24 saat 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda üremenin görülmediği alanların (inhibisyon zonu) çapları milimetre olarak ölçülmüştür. Denemeler çift paralel olarak devam etmiştir.

2.2.2.2 Mikrobrotu Dilüsyon Metodu

Çalışmada kullanılan patojen bakterilerin geliştirilmesi için çift kuvvet Mueller Hinton Broth (MHB) ve patojen maya olan *Candida albicans* için ise Sabouraud Dextrose Broth (SDB) kullanılmıştır. Steril Mueller Hinton Broth ve Sabouraud Dextrose Broth bulunan tüplere mikroorganizmalar aşılanarak 37 °C’de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında gelişen kültürler, Mc Farland No:0.5 (yaklaşık 10^8 CFU/ml) tüpüne göre bulanıklılık ayarı yapılmıştır. Test edilecek uçucu yağlar, her birinden 4mg olmak üzere ayrı ayrı steril tüplerde tartılmış ve 2’şer ml steril saf Dimetil Sülfoksit (DMSO) eklenerek çözümleri, homojen bir karışım haline gelmeleri sağlanmıştır. Stok çözelti denemeler için 96 “U” tipi kuyucuklara sahip mikrodilüsyon petripleri (96 Well Plate) kullanılmıştır. Mikropipet yardımıyla kuyucuklara önce 100’er µl steril distile su ilave edilmiştir (1, 11, 12 inci sütunlar hariç). Daha sonra ilk sütundaki kuyucukların her birine hazırlanan stok çözeltilerden 200’er µl koyulmuştur. Bu sütundan alınan 100 µl’lik kısımlar ikinci sütuna transfer edilmiş ve bu şekilde seri olarak yapılan dilüsyonlar ile stok solüsyonların seyreltilmeleri sağlanmıştır. Yalnızca mikroorganizmasız antimikrobiyal ajanların seri dilüsyonlarını içeren sondan bir önceki sütun (11 inci) negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Son sütuna ise pozitif kontrol olarak bakteriler için bir antibiyotik olan kloramfenikol, *Candida albicans* için ise standart antifungal madde olan ketakonazol kullanılmıştır. Bu işlem tüm kuyucuklara uygulandıktan sonra mikroorganizmaların eklenmesi işlemine geçilmiştir. Bunun için önceden bulanıklığı Mc Farland No:0.5’e göre ayarlanan mikroorganizma kültürleriyarım saat 37°C’de bekletilerek her satıra bir mikroorganizma gelecek şekilde (11 inci sütun hariç) 100’er µl ilave edilmiştir. Bu işlemden sonra mikrodilüsyon petriplerinin kapakları kapatılarak 37 °C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda kuyucuklar da üremenin varlığı ya da yokluğunun tespit edilebilmesi amacıyla mikrodilüsyon petripleri üzerine tetrazolium violet çözeltisi püskürtülmüştür. Bu işlemin sonunda renklenmenin olması için 37 °C’de 30 dakika daha inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun sonunda renklenmenin olmadığı ilk kuyucukların sahip olduğu konsantrasyonlar MİK olarak değerlendirilmiştir. Deney çift paralel olarak tekrarlanmıştır.

2.2.2.3 Antifungal Aktivite

Antifungal aktivite çalışmaları için de agar disk difüzyon metodu kullanılmıştır. Konidi elde etmek amacı ile filamentöz funguslar 90 mm çapında petri kaplarında Czapek Dox Agar (CDA) besiyeri kullanılarak 25°C’ de 7–10 gün süreyle geliştirilmiş, her birinin çap ölçümleri alınmıştır. Konidi süspansiyonları % 5 (w/v) DMSO ihtiva eden % 1 (w/v) sodyum klorür karışımı kullanılarak hazırlanmıştır. Spor süspansiyonları filtre edildikten sonra -20 °C’ de muhafaza edilmiştir. Daha sonra ayrı ayrı birer öze dolusu alınan spor süspansiyonları Czapek Dox Agar ve Malt Ekstrakt Agar (MEA) besiyerini içeren petri kaplarının merkezine uygulanmıştır. Her uçucu yağın 20’şer µl olarak 6 mm çapındaki steril kağıt disklere emdirilmiş ve petri kabının merkezine uygulanan spor süspansiyonunun üzerine yerleştirilmiştir. Petri kapları 7–10 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda oluşan kolonilerin çap ölçümleri alınmıştır. Daha sonra her bir uçucu yağ için aşağıdaki formüle göre % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır [85].

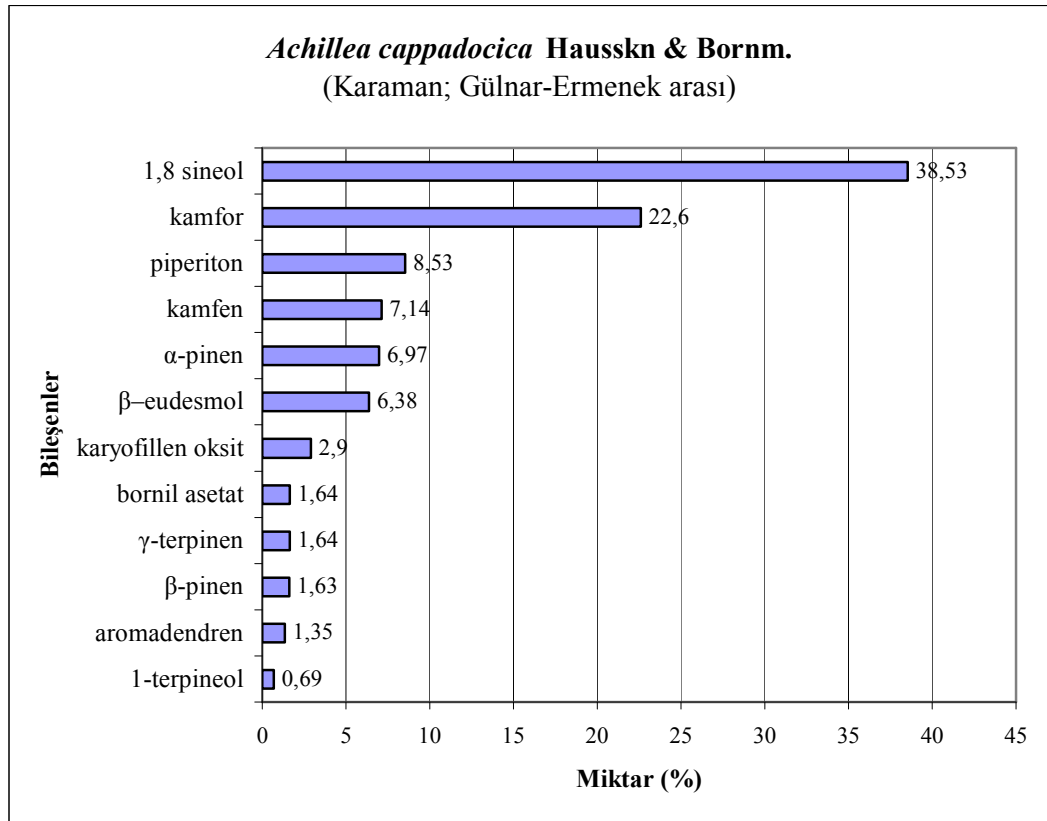
$$\% \text{ inhibisyon} = (C-T/C) \times 100$$

(C:Kontrol petrisinde oluşan koloninin çapı T:Test petrisinde oluşan koloninin çapı)

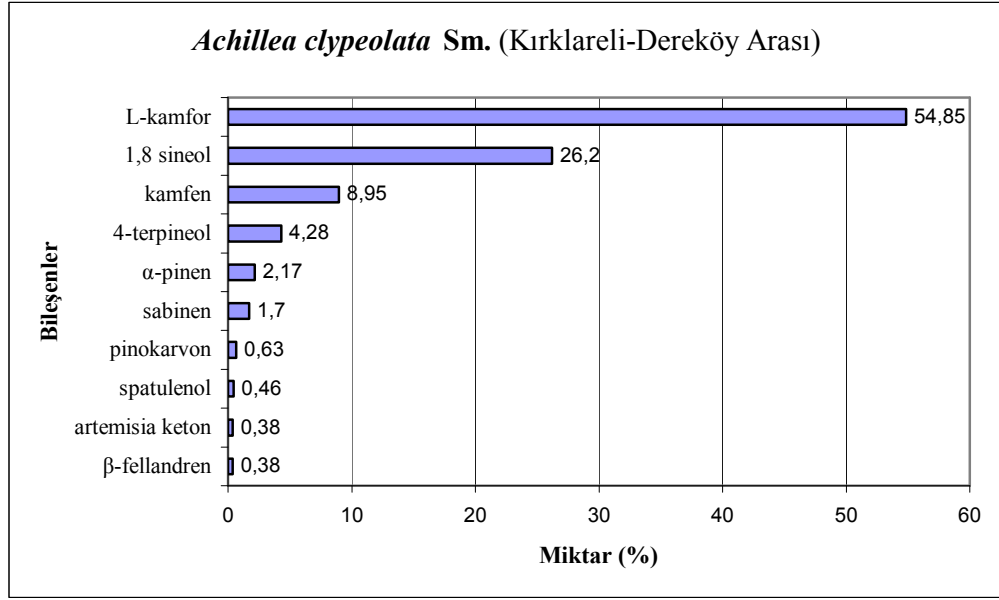
3. BULGULAR

3.1 Uçucu Yağların Kimyasal Kompozisyonları

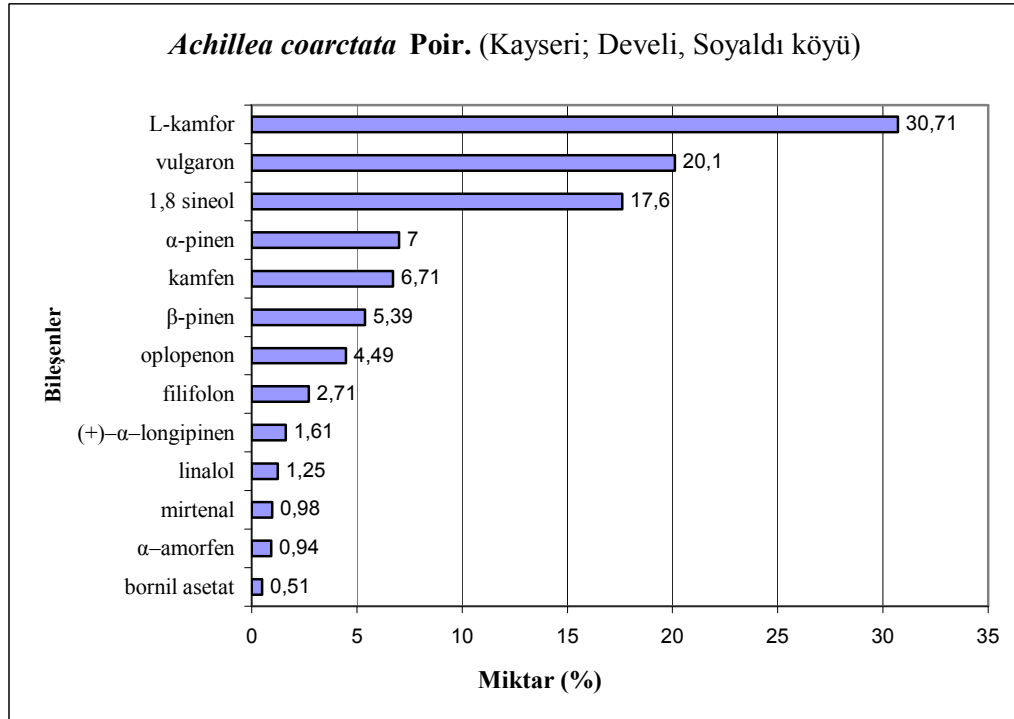
Uçucu yağların kimyasal kompozisyonları, Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi Analizi kullanılarak aydınlatılmıştır. Uçucu yağların kimyasal bileşenleri ve yüzde oranları aşağıda grafikler halinde verilmiştir.



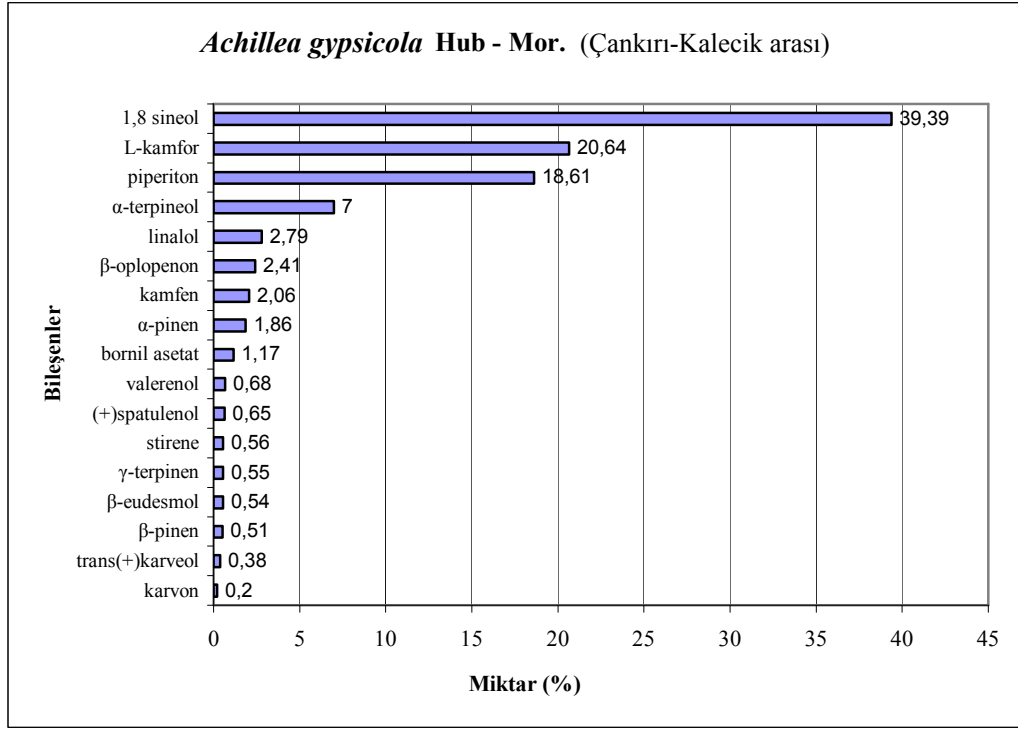
Şekil 3.1 *A. cappadocica* (Filipendulinae) Uçucu Yağının Bileşenleri



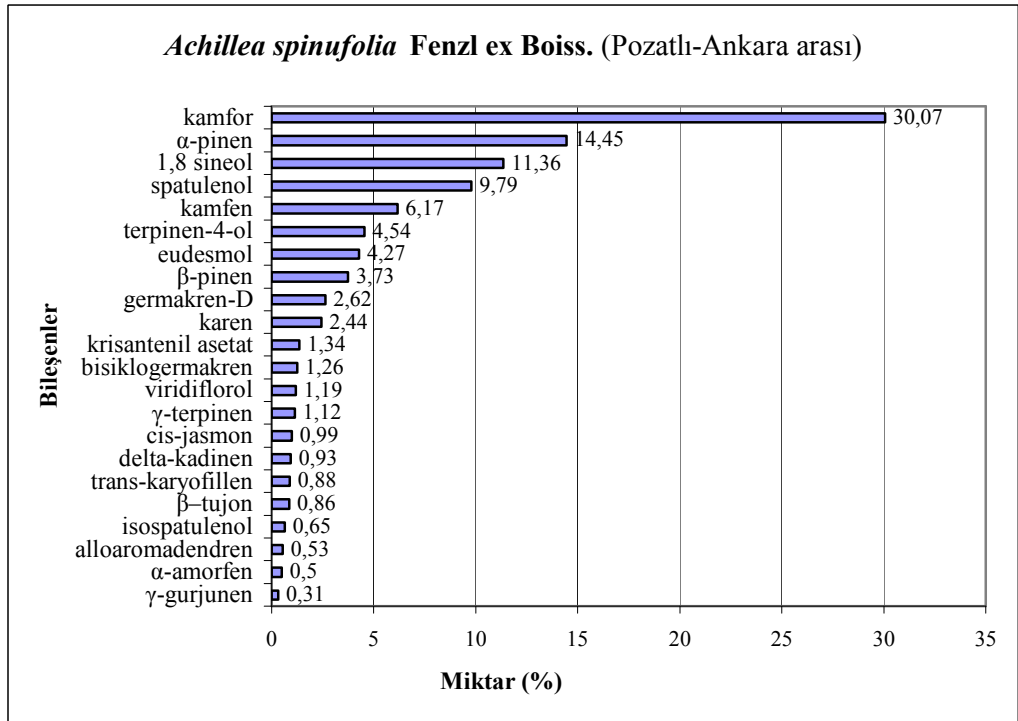
Şekil 3.2 *A. clypeolata* (**Filipendulinae**) Uçucu Yağının Ana Bileşenleri



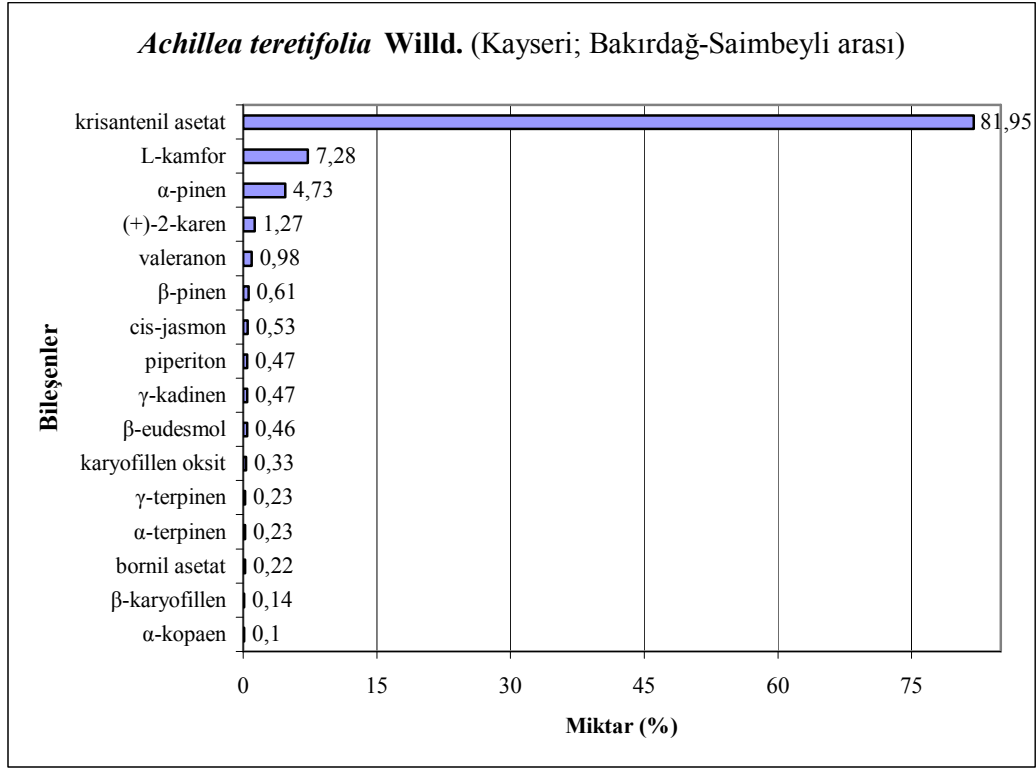
Şekil 3.3 *A. coarctata* (**Filipendulinae**) Uçucu Yağının Bileşenleri



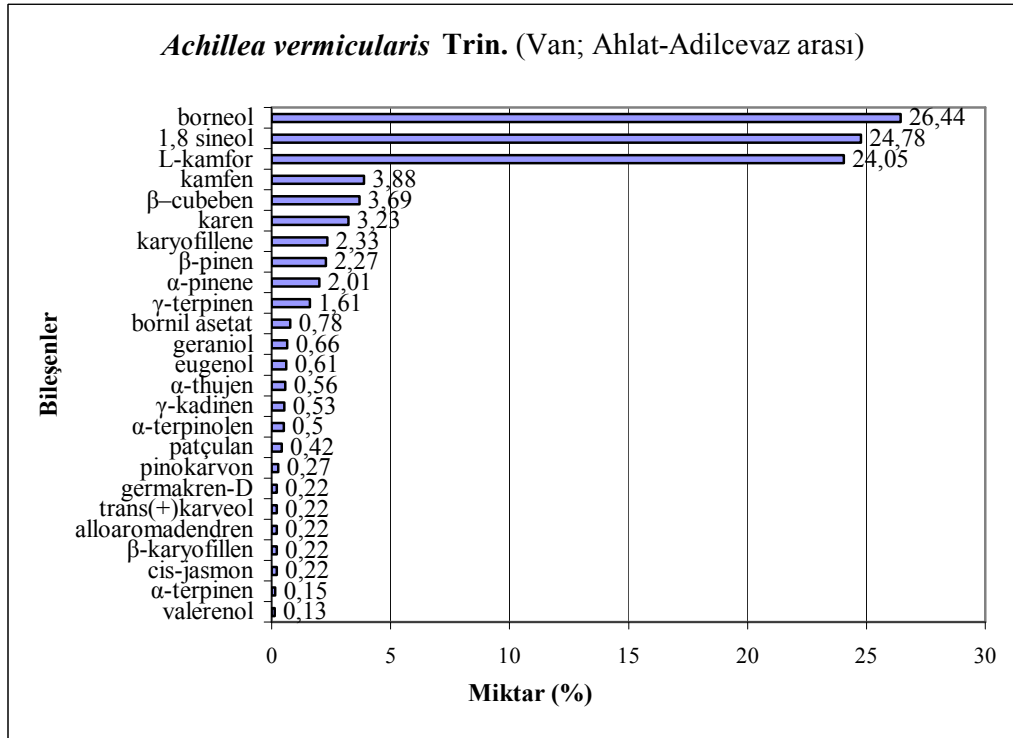
Şekil 3.4 *Achillea gypsicola* (Santolinoidea) Uçucu Yağının Bileşenleri



Şekil 3.5 *A. spinuifolia* (Santolinoidea) Uçucu Yağının Bileşenleri



Şekil 3.6 *A. teretifolia* (Santolinoidea) Uçucu Yağının Bileşenleri



Şekil 3.7 *Achillea vermicularis* (Santolinoidea) Uçucu Yağının Bileşenleri

3.2 Uçucu Yağların Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Araştırmamız sırasında bitki örneklerinin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal özelliklerinin araştırılmasında Disk Difüzyon, Mikrobroth Dilüsyon ve Fungal Spor İnhibisyonu metotları kullanılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen değerler sırasıyla Tablo 3.1, Tablo 3.2 ve Tablo 3.3’de verilmiştir:

Tablo 3.1 *Achillea* Uçucu Yağlarının Disk Difüzyon Metoduna Göre Antimikrobiyal Aktiviteleri (mm)

Bitki Adı	<i>E.aerogenes</i>	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>P.vulgaris</i>	<i>S.aureus</i>	<i>C.albicans</i>
<i>A.cappadocica</i>	9	10	9	8	10	11
<i>A.clypeolata</i>	7	8	8	10	7	8
<i>A.coarctata</i>	9	9	9	8	9	8
<i>A.gypsicola</i>	8	8	9	8	9	8
<i>A.spinulifolia</i>	9	8	8	8	8	9
<i>A.teretifolia</i>	9	9	9	8	8	10
<i>A.vermicularis</i>	8	7	8	8	8	10
Standart madde	22 ^C	22 ^C	23 ^C	24 ^C	22 ^C	0.9 ^K

C: kloramfenikol

K: ketakonazol

Tablo 3.2 *Achillea* Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri (MİK) (µg/ml)

Bitki Adı	<i>E.aerogenes</i>	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>P.vulgaris</i>	<i>S.aureus</i>	<i>C.albicans</i>
<i>A.cappadocica</i>	125	125	125	125	62.5	125
<i>A.clypeolata</i>	250	500	250	250	500	1000
<i>A.coarctata</i>	62.5	125	125	250	125	125
<i>A.gypsicola</i>	500	500	500	500	500	1000
<i>A.spinulifolia</i>	62.5	250	62.5	62.5	62.5	125
<i>A.teretifolia</i>	250	250	250	250	250	125
<i>A.vermicularis</i>	250	250	250	500	250	250
Standart madde	- ^C	- ^C	- ^C	- ^C	- ^C	- ^K
DMSO	+	+	+	+	+	+

C: kloramfenikol

K: ketakonazol

-: bulanıklık yok (aktivite var)

+: bulanıklık var (aktivite yok)

Tablo 3.3 *Achillea* Uçucu Yağlarının Antifungal Aktiviteleri (% İnhibisyon Değerleri)

Bitki Adı	<i>Alternaria brassicola</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium expansum</i>
<i>A.cappadocica</i>	-	-	34	14
<i>A.clypeolata</i>	-	12	83	-
<i>A.coarctata</i>	6	5	-	9
<i>A.gypsicola</i>	4.2	5.8	58	13.6
<i>A.spinulifolia</i>	54	7	2	-
<i>A.teretifolia</i>	58	-	2	9
<i>A.vermicularis</i>	-	-	-	-
Standart madde	100 ^K	100 ^K	100 ^K	100 ^K

K: ketakonazol

-: inhibisyon yüzdesi 0

4. SONUÇ VE TARTIŞMA

Araştırmada farklı lokaliteden toplanan *Achillea gypsicola*, *A. clypeolata*, *A. teretifolia*, *A. coarctata*, *A. cappadocica*, *A. spinulifolia* ve *A. vermicularis* türleri kullanılmıştır. Bu türlere ait bilgiler Tablo 2.1’de verilmiştir. Bu örneklerin uçucu yağları, bitkisel materyalin toprak üstü kısımlarından hidrodistilasyon ile elde edilmiş ve GC/MS tekniği kullanılarak da uçucu yağların bileşenleri belirlenerek grafikler halinde gösterilmiştir (Şekil 3.1, Şekil 3.2, Şekil 3.3, Şekil 3.4, Şekil 3.5, Şekil 3.6, Şekil 3.7). Kimyasal kompozisyonları belirlenmiş olan bu uçucu yağlar antimikrobiyal aktivite çalışmalarında da kullanılmıştır.

Araştırmada kullanılan *Achillea* türlerinden uçucu yağ verimlerinin oldukça düşük olduğu (% 0.006-% 0.03) belirlenmiştir (Tablo 2.1). Daha önce yapılan çalışmalarda da *Achillea* örneklerinin uçucu yağ verimlerinin düşük olduğu rapor edilmiştir [64, 86].

Test edilen tüm örneklerin uçucu yağlarında ana bileşenlerin ağırlıklı olarak terpenlerden oluştuğu gözlenmiştir. Monoterpenler oldukça yüksek oranlarda (% 75-% 99) görülmesine karşın seskiterpenler çok daha az oranlarda (% 0.46-% 20.4) tespit edilmiştir. Çeşitli araştırmacıların yaptıkları çalışmalarda da *Achillea* uçucu yağ bileşenlerini ağırlıklı olarak monoterpenlerin oluşturduğu, seskiterpenlerin ise oldukça düşük oranlarda bulunduğu rapor edilmiştir [25, 87, 88].

Monoterpenler bitkiler aleminde Asteraceae, Cupressaceae, Lamiaceae, Pinaceae, Poaceae ve Rosaceae gibi familyalarda yaygın olarak bulunur. Monoterpenler küçük moleküller olup, çok eski zamanlardan bu yana birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Yaygın olarak; rubefiyon (terementi yağı), kaşıntı (mentol), acı tonik, iştah açıcı, gastrointestinal rahatsızlıklarda, ekspektoral, sedatif, anestezi, analjezik, antitussif, antiakne, antiinflamatuvar gibi etkilerinden

dolayı tercih edilmektedirler [89]. Bunun yanında antibakteriyel, antifungal ve antiviral özelliklerinin bulunduğu da rapor edilmiştir [89, 90, 91].

Skocibusic ve arkadaşları, *Achillea clavennae*'nin uçucu yağının bazı solunum sistemi patojenlerine karşı antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. En fazla aktiviteyi *Klebsiella pneumoniae* ve *Streptococcus pneumoniae*'ye karşı saptamışlardır. Ayrıca yağın çalışılan mikroorganizmalar içinde, gram (-) *Haemophilus influenzae* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı kuvvetli aktivite gösterdiğini ve gram (+) *Streptococcus pyogenes*'nin ise yağa karşı en dirençli bakteri olduğunu belirtmişlerdir [25].

Senatore ve arkadaşları, *Achillea falcata* uçucu yağını GC/MS ile analiz etmişler ve ana bileşenleri siklobutan etanol izomerleri olan 1-metil-2-(1-metylenil), grandisol ve fragranol olarak belirlemişlerdir. Uçucu yağın özellikle gram pozitif bakteriler üzerinde etkili olduğunu tespit etmişlerdir [92].

Achillea uçucu yağlarının test bakterileri ve fırsatçı patojen bir maya olan *Candida albicans*'a karşı antimikrobiyal aktivitelerinin tespit edilmesinde "Disk Difüzyon Tekniği" kullanılmıştır. Disk Difüzyon Testlerinin sonucunda elde edilen zon çapları ölçülmüş ve mm cinsinden değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar Tablo 3.1'de gösterilmektedir. Disk Difüzyon tekniğine göre; tüm test bakterileri ve *C. albicans*'ın test edilen tüm uçucu yağlara karşı duyarlı oldukları gözlenmiş ve 7–11 mm arasında zonlar elde edilmiştir.

Boudoux'e göre; eğer inhibisyon zonu 2–3 mm ise uçucu yağ iyi bir antimikrobiyal etkiye sahip, 3 mm'den fazla ise çok etkilidir. Eğer hiç inhibisyon zonu yoksa bu uçucu yağın test edilen mikroorganizmalar üzerine hiçbir etkisinin olmadığı söylenebilir [93].

Achillea uçucu yağlarının Minimal İnhibisyon Konsantrasyonları'nın (MİK değeri) belirlenmesinde "Mikrobroth Dilüsyon Tekniği" kullanılmıştır. Mikrobroth Dilüsyon Tekniği'ne göre test bakterileri ve *Candida albicans*'a karşı antimikrobiyal aktivite değerleri Tablo 3.2'de gösterilmektedir. Test materyallerinin antifungal

aktivite özelliklerinin belirlenmesinde % inhibisyon değeri dikkate alınmıştır ve elde edilen bu değerler Tablo3.3’de verilmiştir.

Filipendulinae seksiyonuna ait örneklerden Kırklareli-Edirne arasından toplanan *A. clypeolata*’nın GC/MS verilerine göre; ana bileşenler L-kamfor (% 54.85) ve 1,8 sineol (% 26.20) olarak belirlenmiştir (Şekil 3.2). *Achillea clypeolata*’ya karşı en duyarlı bakteriler *Proteus vulgaris*, *Enterobacter aerogenes* ve *Pseudomonas aeruginosa* olarak tespit edilmiştir. Antifungal aktivite testlerinde ise *A. clypeolata* uçucu yağı *Aspergillus niger*’in üremesi üzerine % 83’lük inhibisyon etkisi göstermiştir. Bu oran tüm antifungal aktivite sonuçları incelendiğinde en yüksek yüzde inhibisyon değeri olarak belirlenmiştir. Aynı örnek *Aspergillus flavus*’a karşı % 12 oranında inhibisyon etkisi gösterirken, diğer funguslar üzerinde ise etkili olmadığı saptanmıştır.

Simic ve arkadaşları, *A. clypeolata* uçucu yağının kimyasal kompozisyonunu belirlemişler ve antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. GC/MS analizi ile ana bileşenleri; (E)- γ -bisabolone (% 17.9), 1,8 sineol (% 16.0), borneol (% 11.9) ve karyofillen oksit (% 11.5) olarak saptamışlardır. Aktivite çalışmaları sonucunda da *A. clypeolata* uçucu yağının *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* karşı aktivitesinin *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus*’a karşı olan etkisinden daha fazla olduğunu rapor etmişlerdir [87].

Daha önce yapılan çalışmalarda *Achillea clypeolata* uçucu yağının antimikrobiyal aktivitesinin nedeni 1,8 sineol, terpinen-4-ol, kamfor ve borneol gibi monoterenlerin uçucu yağın bileşiminde bulunmasına bağlanmıştır [48, 87].

Yine **Filipendulinae** seksiyonundan Kayseri; Develi, Soyadlı köyünden toplanan *A. coarctata* örneğinde ana bileşenler olarak L-kamfor (% 30.71), vulgaron (% 20.10), 1,8 sineol (% 17.60) belirlenmiştir (Şekil 3.3). *A. coarctata* en yüksek aktiviteyi *Enterobacter aerogenes*’ e karşı 62.5 μ g/ml, en düşük aktiviteyi ise 250 μ g/ml değeriyle *Proteus vulgaris*’e karşı göstermiştir. Aynı örnek funguslardan *Aspergillus niger*’in gelişmesi üzerinde etki göstermezken diğer funguslara karşı % 5 ile % 9 arasında değişen inhibisyon değerlerine sahip olduğu gözlenmiştir.

Toker ve arkadaşları Güneydoğu Anadolu'dan topladıkları *Achillea coarctata* örneğinin uçucu yağını izole etmişler ve GC, GC/MS analizleriyle kimyasal kompozisyonunu belirlemişlerdir. Ana bileşenler olarak; 1,8 sineol (% 20.1), kamfor (% 15.6) ve viridiflorol'ü (% 11.8) tespit edilmişlerdir [94].

Karaman; Gülnar-Ermenek arasından toplanan *A. cappadocica* (**Filipendulinae**) örneğinde ise ana bileşenlerin % 38.53 oranında 1,8 sineol ve % 22.60 oranında kamfor olduğu saptanmıştır (Şekil 3.1). *A. cappadocica* *Staphylococcus aureus*'a karşı 62.5 µg/ml, diğer tüm mikroorganizmalara karşı ise 125 µg/ml konsantrasyonda inhibisyon etkisi göstermiştir. *A. cappadocica*, *Aspergillus niger* (% 34) ve *Penicillium expansum* (% 14) üzerinde antifungal etki gösterirken diğer funguslara karşı etki göstermemiştir.

Santolinoide seksiyonuna ait olan Kayseri; Bakırdağ-Saimbeyli arasından toplanan *A. teretifolia* uçucu yağında ana bileşen olarak % 81.95 oranında krisantenil asetat tespit edilmiştir (Şekil 3.6). *A. teretifolia*'da krisantenil asetatın tek başına ana bileşen olarak belirlenmesi ve bu kadar yüksek oranda gözlenmesi araştırma sırasında dikkati çeken bir durum olmuştur. Krisantenil asetat çalışılan diğer örneklerden sadece *A. spinulifolia* türünde % 1.34 oranında görülmüştür. Yapılan değerlendirmeler sonucunda; krisantenil asetatın kamforun öncü molekülü olması nedeniyle, bitki örneğinin toplanma periyodu sırasında henüz kamfor hidrolizini tamamlamamış olduğu düşüncesini akla getirmiştir. *A. teretifolia* tüm patojen bakterileri 250 µg/ml, *Candida albicans*'ı ise 125 µg/ml değeri ile inhibe ettiği gözlenmiştir. Funguslarda ise; *Alternaria brassicola*'ya karşı % 58, *Penicillium expansum*'a karşı % 12 ve *Aspergillus niger*'e karşı % 2 inhibisyon etkisi gösterirken, *Aspergillus flavus*' a karşı antifungal etkisi gözlenmemiştir.

Ünlü ve arkadaşları, Sivas'dan topladıkları *A. teretifolia* ile yaptıkları bir araştırmada; ana bileşenler olarak 1,8 sineol (% 19.9), kamfor (% 11.1) ve borneol'ü (% 11.9) belirlemişlerdir. *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes* ve *Candida albicans*'ın *A. teretifolia* uçucu yağına karşı duyarlı, *Pseudomonas aeruginosa*'nın ise dirençli olduğunu tespit etmişlerdir. Bu

araştırmacılar *Achillea* uçucu yağlarında görölen önemli kantitatif farklılıkların başlıca nedeninin, çevresel faktörler olabileceğini belirtmişlerdir [95].

Santolinoidea seksiyonuna ait olan örneklerden, Van; Ahlat Adilcevaz arasından toplanan *A. vermicularis* örneğinin GC/MS verilerine göre ana bileşenler olarak, borneol (% 26.44), 1,8 sineol (% 24.78) ve L-kamfor (% 24.05) belirlenmiştir (Şekil 3.7). *A. vermicularis*, *Proteus vulgaris*'e karşı 500 µg/ml, diğerk bakteriler ve *Candida albicans*'a karşı ise 250 µg/ml'lik konsantrasyonda üremeyi durdurucu etki gösterirken test edilen hiçbir mikrofungusa karşı antifungal etki göstermemiştir.

Daha önce Rustaiyan ve arkadaşları 1998 yılında yaptıkları bir çalışmada *A. vermicularis* türünün uçucu yağında % 32 oranıyla kamforu ana bileşen olarak tespit etmişlerdir [58].

Santolinoidea seksiyonuna ait olan Adana; Pozatlı-Ankara arasından toplanan *A. spinulifolia* örneğinin ana bileşenleri; kamfor (% 30.07), α-pinen (% 14.45) ve 1,8 sineol (% 11.36)'dür (Şekil 3.5). Patojen bakterilere karşı genel olarak en yüksek aktivite *A. spinulifolia*'da tespit edilmiştir. Bu türün uçucu yağı, *Escherichia coli* hariç diğerk tüm test bakterilerine karşı 62.5 µg/ml ve *E. coli* için ise 250 µg/ml, *Candida albicans*'a karşı ise 125 µg/ml' lik konsantrasyonda üremeyi durdurucu etki göstermiştir. *A. spinulifolia*, *Penicillium expansum* üzerinde etkili değil iken diğerk funguslar üzerinde % 54-% 2 arasında inhibisyon etkisi göstermiştir.

Aynı seksiyona ait olan *A. gypsicola* örneği Çankırı-Kalecik arasından toplanmıştır. GC/MS analizi ile ana bileşenleri; 1,8 sineol (% 39.39), L-kamfor (% 20.64) ve piperiton (% 18.61) olarak belirlenmiştir (Şekil 3.4). En düşük antimikrobiyal aktivite tüm test bakterilerine karşı 500 µg/ml ve *Candida albicans*'a karşı ise 1000 µg/ml MİK değeriyle *A. gypsicola*'da tespit edilmiştir. *A. gypsicola* mikrofunguslara karşı % 58 ile % 4.2 arasında değışen inhibisyon değerkleri göstermiştir.

Genellikle uçucu yağların aktiviteleri aktif ve inaktif bileşenlerinin birlikte etkisinin sonucudur. Bu inaktif bileşenler, aktif bileşenlerin biyolojik geçerliliklerini

ve reaksiyonların değerini belirleyebilir. Farklı aktif bileşenler sinerjik bir etkiye sahip olabilir. Uçucu yağların kimyasal bileşimleri ve dolayısıyla biyolojik aktiviteleri üzerinde bitkilerin toplanma zamanının etkisinin olduğu da bilimsel olarak kanıtlanmıştır. Bunun yanında genotip, kemotip, coğrafik orijin, çevre ve toprak şartlarının hepsi son oluşan doğal ürünün kompozisyonu üzerinde etkili olan diğer parametrelerdir [96, 97].

Literatürlerde yer alan bilgilere göre 1,8 sineol, borneol ve kamfor'un antimikrobiyal özelliklere sahip oldukları belirlenmiştir [98, 99, 100]. Yine daha önce yapılan çalışmalarda; kamfen, α -pinen ve piperitonun da antimikrobiyal aktivite gösterebileceği ile ilgili bilgilere de rastlanmaktadır [101, 102, 103]. Bu bileşiklerin antimikrobiyal aktivitelerinin olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir. Bu bileşiklerden özellikle kamfor, 1,8 sineol, borneol, kamfen, piperiton ve α -pinen bizim araştırmada da *Achillea* türlerinin ana bileşenleri olarak belirlenmiştir (Şekil 3.1, Şekil 3.2, Şekil 3.4, Şekil 3.5, Şekil 3.6, Şekil 3.7). Dolayısı ile araştırmamızda elde edilen, özellikle antibakteriyel aktivite sonuçları bu bileşiklerden birinin ya da birkaçının etkisi sonucu ortaya çıkmış olabilir.

Stajonovic ve arkadaşları, *A. holosericea* ve *A. clavennae* ile yaptığı bir çalışmada; her iki türün gram (+) ve gram (-) bakteriler üzerine olan etkisinin yaklaşık olarak birbirine eşit olduğunu görmüşlerdir [104]. Bizim araştırmamızda da gram (+) ve gram (-) bakterilerin, test edilen bitki örneklerine karşı duyarlılıklarında büyük bir farklılık görülmemektedir.

Deney sonuçlarına göre *Achillea* uçucu yağlarının bakteriler üzerine etkisinin funguslar üzerine olan etkisinden daha fazla olduğu gözlenmiştir. Boudoux'a göre; alkoller ve seskiterpen laktonlar antifungal aktiviteden sorumlu olan moleküllerdir [93]. Test edilen uçucu yağlarda bu moleküllerin oranlarının düşük olması, antifungal aktiviteden nispeten daha düşük olmasına neden olabilir

Ulubelen ve arkadaşları bir araştırmalarında, kamfor ve 1,8 sineol'den sonra antimikrobiyal olarak en etkili maddenin karyofillen oksit olduğunu belirtmişlerdir

[105]. Test örneklerinden *A. cappadocica* uçucu yağında % 2.9 oranında, *A. teretifolia*'da % 0.33 oranında karyofillen oksit tespit edilmiştir.

Barel ve arkadaşları, *A. fragrantissima* uçucu yağı'nın antibakteriyal etkisini terpinen-4-ol molekülüne dayandırmışlardır [48]. Ünlü ve arkadaşları da *A. setacea* ve *A. teretifolia* örneklerinin GC/MS analizi ile kamfor, borneol, 1,8 sineol gibi anabileşenlerin yanında düşük oranlarda terpinen-4-ol (% 3.5 ve % 3.4) gibi antimikrobiyal özelliği olan maddeleri belirlediklerini rapor etmişlerdir [95]. Araştırmamızda terpinen-4-ol molekülü % 4.54 oranıyla *A. spinulifolia* örneğinde belirlenmiştir.

Antimikrobiyal ilaçlar ilk keşfedildiğinde bakteriyel enfeksiyonların kontrolünde olağanüstü etkilerinin olduğu kanıtlanmıştır. Fakat son bilimsel gelişmelere göre bakteriyel patojenlerin kullanılan etkili ilaçlara karşı çok hızlı bir şekilde direnç kazandığını göstermiştir [7]. Her geçen gün mikroorganizmaların üremelerini inhibe eden birçok yeni bileşik (benzoin ve emetin gibi) bitkilerden izole edilmektedir [106]. Bilim adamları belki bitkilerden yeni izole edilen bu antimikrobiyal bileşiklerin, ilk kullanılan antimikrobiyal ajanlardan farklı bir mekanizmayla bakteri gelişimini inhibe edebileceğini ve belki de dirençli patojen ırklarının tedavisinde önemli bir klinik değere sahip olabileceklerini düşünmektedirler [107].

Uzun yıllardan beri halk arasında tedavide kullanılan *Achillea* türlerinde de antimikrobiyal özelliği olan böyle moleküller belirlenmiştir.

Başer ve arkadaşları, Türkiye'nin iki endemik türü olan *A. lyconica* Boiss. & Heldr. ve *A. ketenoglui* H. Duman'nin uçucu yağlarını hidrodistilasyon metodu ile elde etmiş ve GC/MS analizi sonucunda ana bileşenlerini belirlemişlerdir. Analizler sonucunda antimikrobiyal özellikleri daha önceden bilinen bileşiklerin varlıklarını tespit etmişlerdir. **Santolinoidea** seksiyonuna ait olan bu iki türden *A. lycaonica*'da *trans*-sabinen hidrat (% 9.3), terpinen-4-ol (% 9.0) ve karyofillen oksiti (% 7.2) *A. ketenoglui*'de ise borneol (% 14.1) ve terpinen-4-ol (% 14.5)'ü ana bileşenler olarak tespit etmişlerdir [58].

Azadbakht ve arkadaşları, İran'nın kuzeyindeki Neka bölgesinin dışından toplanan *A. wilhelmsii* örneklerinin yaprak ve çiçeklerinden izole edilen uçucu yağların GC ve GC/MS ile analizlerini yapmışlardır. Bu analizler sonucunda yapraklardan elde edilen uçucu yağın temel bileşenleri kamfor (% 24.1), 1,8-sineol, (% 22.3), borneol (% 11.1) ve mirtenol (% 8.5) olarak bulmuşlardır. Çiçeklerden elde edilen de ise kamfor (% 21.2), mirtenol (% 14.4), mirtenil asetat (% 8.9), yomogi alkol (% 8.7) ve borneol (% 8.2) olduğunu tespit etmişlerdir [108].

Kürkçüoğlu ve arkadaşları iki farklı lokaliteden toplanan *A. falcata* örneklerinin uçucu yağlarını hidrodistilasyonla izole etmişler ve GC/MS analizi sonucunda her iki örnekte de 1,8 sineol, kamfor ve α -pineni ana bileşen olarak tespit etmişlerdir [109].

Javidnia ve arkadaşları İran'dan toplanan *A. wilhelmsii* C. Koch (**Santolinoidea**) türünün uçucu yağının kimyasal kompozisyonunu GLC ve GC/MS analizleriyle belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda ana bileşenleri antimikrobiyal özellikleri olduğu bilinen; karvakrol (% 25.1), linalol (% 11.0), 1,8-sineol (% 10.3), E-nerolidol (% 9.0) ve borneol (% 6.4) olarak saptamışlardır [96].

Bezić ve arkadaşları, *A. clavennae*'den elde ettiklerin uçucu yağlarının ana bileşenlerini; kamfor (% 29.5), myrcene (% 5.5), 1,8 sineol (% 5.3), β -karyofillen (% 5.1) ve linalol (% 4.9) olarak belirlemişlerdir. Antimikrobiyal aktivitesinin araştırılmasında Disk Difüzyon metodunu uygulamışlardır. Gram pozitif (*Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*), Gram negatif (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*) ve fungal organizmalara (*Aspergillus niger*, *A. fumigatus*, *Candida albicans*) karşı antimikrobiyal aktiviteleri denemişlerdir. Gram negatif ve fungal organizmalara karşı olan inhibisyon etkisinin gram pozitif bakterilere karşı olan etkiden daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir [110].

Magiatis ve arkadaşları, Yunanistan'dan topladıkları *A. holosericea*, *A. taygeta* ve *A. fraasii*'den elde edilen uçucu yağın GC/MS analizi sonucunda 95 bileşen tespit etmişlerdir. Bu uçucu yağların *in-vitro* koşullarda antimikrobiyal

aktiviteleri 6 bakteriye karşı değerlendirildiğinde *A. holosericea* inaktifken diğer ikisinin özellikle gram (-) türlere olmak üzere güçlü bir etkiye sahip olduğunu gözlemlemişlerdir. *A. fraasii*'nin uçucu yağının ayrıca test edilen patojenik funguslara karşı da aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir [15].

2003'de Sökmen ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, *A. sintenisii* Hub. Mor.'un uçucu yağının, metanol ekstraktının suda çözünebilir ve çözünemez kısımlarının 12 bakteri ve iki mayaya karşı antimikrobiyal aktivitelerini ayrı ayrı denemişlerdir. Metanol ekstraktının suda çözünebilir fraksiyonunda aktivite gözlenmezken suda çözünemeyen fraksiyonun ve uçucu yağın antimikrobiyal aktivitesinin olduğunu rapor etmişlerdir. Uçucu yağın aktivitesinin suda çözünemeyen fraksiyondan fazla olduğunu belirlemişlerdir. GC/MS analiziyle kimyasal kompozisyonunu aydınlatmışlar elde edilen sonuçlara göre ana bileşenlerin aktivitelerini de ayrıca araştırmışlardır [101].

Özellikle insan patojeni olan birçok mikroorganizmanın, günümüzde kullanılan antimikrobiyal ilaçlara karşı direnç kazanmaları, yeni ve etkin ilaç moleküllerinin araştırılmasını gerekli hale getirmiştir. Son zamanlarda bu etkili moleküllerin keşfedilmesinde, kullanım kolaylıklarından dolayı bitkisel materyaller önem kazanmıştır. Tıbbi bitki ürünlerinden olan uçucu yağların tedavi konusunda dikkati çeken özelliklerinin bulunmasından dolayı, bu ürünlerin değerlendirilmesinin bilimsel ve ekonomik açıdan oldukça önemli olduğunu düşünmekteyiz. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar; *Achillea* uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitelerinin olduğunu göstermiştir. Bu uçucu yağların farmakolojik ve toksikolojik özelliklerinin kapsamlı bir şekilde araştırılmasıyla tıp, kozmetik ve endüstriyel alanlarda kullanım olanaklarının doğacağını düşünmekteyiz.

5. KAYNAKLAR

- [1] Tepe, B., Lamiaceae Familyasına Ait Bazı Bitki Türlerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Sivas, (2000).
- [2] Ceylan, A., Tıbbi Bitkiler I, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Atölyesi, Bornova, İzmir, (1995) 312.
- [3] Baytop, T., “Bitkiler Hakkında Anadolu Halkı Arasındaki Bilgilerin Kaynakları”, XII. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, Ankara, (1989).
- [4] Baytop, T., Türkiye’de Bitkiler İle Tedavi Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul (1999), 3.
- [5] Lietava, J., “Medicinal plants in a Middle Paleolithic Grave Shanidar IV?”, *Journal of Ethnopharmacology*, **35**, 3, (1992) 263.
- [6] Kara, A., Bazı Şifalı Bitkilerin *Helicobacter pylori*’nin İn-vitro Üremesi Üzerine Etkileri ve Antioksidant Özellikleri, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Erzurum, (2002).
- [7] Barbour, E. K., Sharif, M. A., Sagherian, V. K., Harbe, A. N. and Talhouk, S. N., “Screening of selected indigeneous plants of Lebanon for antimicrobial activity”, *Journal of Ethnopharmacology*, **93**, (2004) 1.
- [8] Cowan, M. M., “Plant products as antimicrobial agents”, *Clinical Mikrobiology Review*, **12**, (1999) 546.
- [9] Teixeira, R. O., Camparoto, M. L., Mantovani, M. S. and Vicentini, V. E. P., “Assessment of medicinal plants, *Psidium guajava* L. and *Achillea millefolium* L., *in vitro* and *in vivo* assays”, *Genetics and Molecular Biologi*, **26**, 4, (2003) 551.
- [10] Ishii, R., Yoshikawa, H., Minakata, N. T., Kamura, K. and Koda, T., “Specificity of bio-antimutagens in the plant kingdom”, *Agricultural and Biological Chemistry Journal*, **48**, (1984) 2587.

- [11] Hoyos, L. S., Au, W. W., Heo, M. Y., Morris, D. L. and Legator M. S., "Evaluation of the genotoksik effects of a folk medicine, *Petiveria alliacea*", *Mutation Research*, **280**, (1992) 29.
- [12] Yeşilada, E., "Hekim, Alternatif Tedavi ve Modern Tıp", *Sted*, **11**, 6, (2002) 223.
- [13] Çubukçu, B., Meriçli, A. H., Mat, A., Sarıyar, G., Sütlüpnar, N. ve Meriçli, F., Fitoterapi, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı, İstanbul, (2002), 1.
- [14] Sigaroodi, K., "Interactions of herbs with Conrentional Drugs", *J. of Medicinal Plants*, **6**, (2003).
- [15] Magiatis, P., Skaltsounis, A. L., Chinou, I. and Haroutounian, S. A., "Chemical composition and *in-vitro* antimicrobial activity of the essential oils of three Greek *Achillea* species", *Z.Naturforsch*, **57**, (2002) 287.
- [16] Başer, H. C. B., "Aromatic biodiversity among the flowering plant taxa of Turkey", *Pure Appl. Chem.*, **74**, 4, (2002) 527.
- [17] Yakar, N. ve Bilge, E., Genel Botanik, İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, Gençlik Basımevi, İstanbul, (1987) 25.
- [18] Sunam, G., Genel Farmakoloji, Kurtuluş Matbaası, İstanbul, (1968) 458.
- [19] Baytop, T., Farmakognazi Ders Kitabı, 1, İstanbul Üniversitesi Yayınları, Fatih Yayınevi Matbaası, İstanbul, (1980) 156.
- [20] Şarer, E., Kalaycıoğlu, A. ve Öner, C., "Uçucu Yağların Biyolojik Etkileri ve Tedavide Kullanılmaları", 9. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, Eskişehir, (1992) 455.
- [21] Hammer, K. A., Corsan, C. F. and Riley, T. V., "Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts", *J.Appl. Microbiol.*, **86**, (1999) 985.
- [22] Cosentino, S., Tuberosa C. I. G., Pisano, B., Sata, M., Mascia, V., Arzedi, E. and Palmas, F., "In- vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils", *Lett. Appl.Mikrobiol.*, **29** (1999) 130.
- [23] Kıvanç, M. ve Akgül, A., "Antibacterial activities of essential oils from Turkish spesies and *Citrus*", *Flovour and Fragrance Journal*, **1**, (1986) 175.

- [24] Kıvanç, M., Akgül, A. ve Kunduhoğlu, B., “Gülyağı ve Bazı Anabileşenlerin Antibakteriyel Etkileri” 9. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, Eskişehir, (1992) 16.
- [25] Skocibusic, M., Bezic, N., Dunkic, V. and Radonic, A., “Antibacterial activity of *Achillea clavennae* essential oil against Respiratory tract pathogens”, *Fitoterapia*, **75**, 7-8, (2004), 733.
- [26] Azaz, A., D., Demirci, F., Satıl, F., Kürkçüoğlu, M. and Başer, K. H. C., “Antimicrobial activity of *Satureja* essential oils”, *Z.Naturforsch*, **57**, (2002), 817.
- [27] Azaz, D. A., İrtem, H. A., Kürkçüoğlu, M. and Başer, K. H. C., “Composition and the *in-vitro* antimicrobial activities of the essential oils of some *Thymus* species”, *Z. Naturforsch*, **59**, (2004), 75.
- [28] Başer, H. C. B. and Kırimer, N., Progress in Essential Oil Research, Proceedings of The 28.International Symposium on Essential Oils, T.C. Anadolu Üniversitesi Yayınları, 1038, TBAM Yayınları No:1, Eskişehir, (1997).
- [29] Qamar, S. and Chaudhary, F.M., “Antifungal activity of some essential oils from local plants”, *Pak. J. Sci. Iind. Res.*, **34**, (1991) 30.
- [30] Kırdag, S. ve Bağcı, E., “*Picea abies*(L.) Karst. ve *Picea orientalis* (L.) Link uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitesi üzerine bir araştırma”, *Journal of Qafqaz University*, **3**,1, (2000) 183.
- [31] Box, E.O., Productivity of Aromatic Plants: Climatic Models, Aromatic plants Basicand Applied Aspects Proceeding an internal Symposium on Aromatic Plants organized by the Laboratory of Ecology, University of Thessolniki, London, (1982) 87.
- [32] Chabian, F., Norouzi, A. H. and Moosavi, S., “A study of growth inhibitory effect of essential oils of seven species from different families on kinds of microbes”, *J. of Medicinal Plants*, **7**, (2003).
- [33] Takhtajan, A., Diversity and Classification of Flowering Plants, Columbia University Pres, New York, (1997) 418.
- [34] Heinrich, G., Pfeifhofer, H. W., Stabentheiner, E. and Sswidis, T., “Glandular hairs of *Sigesbeckia jorullensis* Kunth (Asteraceae): Morfology, histochemistry and composition of Essential Oil”, *Annals of Botany*, **89**, (2002) 459.

- [35] Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat ve L., Lelebici E., Tohumlu Bitkiler Sistematığı, 116 Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir, (1995) 296.
- [36] Baytop, A., Farmasötik Botanik, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Baha Matbaası, İstanbul, (1972) 305.
- [37] Kırımer, N., Mat, A., Essential Oils in Honour of Prof Dr. K. Hüsnü Can Başer on His 50. Birthday, Anadolu Üniversitesi Basımevi, Eskişehir, (1999) 127.
- [38] Trifunovic, S., Vajs, V., Tesevic, V., Djokovic, D. and Milosavljevic, S., "Lignans from the plant species *Achillea lingulata*", *J.serb.Chem.Soc.*, **68**, (2003) 277.
- [39] Palic, R., Stojanovic, G., Randelovic, V. and Velickovic, J., "The fatty acids from plants of the genus *Achillea*", *Physics, Chemistry and Technology*, **2**, (2000) 101.
- [40] Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T. and Başer, K.H.C., Flora of Turkey and the East Aegean Islands, 11, University Press, Edinburg, (2001) 320.
- [41] Karamenderes, C. ve Apaydın, Ş., "Antispasmodic effect of *Achillea nobilis* L. subsp. *siplea* (O.Schwarz) Bässler on the rat isolated duodenum", *Journal of Ethnopharmacology*, **84**, (2003) 175.
- [42] Kubelka, W., Kastner, U., Glasl, S., Saukel, J. and Jurenitsch, J., "Chemotaxonomic relevance of sesquiterpenes within the *Achillea millefolium* groups", *Biochemical systematics and ecology*, **27**, (1999) 437.
- [43] Candan, F., Ünlü, M., Tepe, B., Deferera, D., Polissiou, M., Sökmen, A. and Akpulat, H. A., "Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae)", *Journal of Ethnopharmacology*, **87**, (2003) 215.
- [44] Könemen, E. W., Botanica: The Illustrated A-Z of Over 10000 Garden Plants and How to Cultivate Them, Gordon Cheers Publication, Hong Kong, (1999) 51.
- [45] Huber-Morath A., Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Davis, P. H., 5, University Press, Edinburg, (1975) 1.
- [46] Bremer, K. and Humphries, C. J. "Generic monograph of the Asteraceae-Anthemideae, Bulletin of the British Museum (Natural History)", *Botany*, **23**, 2 (1993) 71.

- [47] Maffei, M., Mucciarelli, M. and Scannerini, S., "Essential oils from *Achillea* spesies of different geographic origin", *Biochemical Systemayics and Ecology*, **22**, 7, (1994) 679.
- [48] Barel, S., Segal, R. and Yashphe, J., "The antimicrobial activity of the essential oil from *Achillea fragrantissima*", *Journal of Etnopharmacology*, **33**,1-2 (1991) 187.
- [49] Glasl, S., Kastner,U., Jurenitsch, J. and Kubelka, W., "Qualitative and quantitative determination of sesquiterpenoids in *Achillea* species by resersed-phase high-performance liquid chromatography, mass-spectrometry and thin-layer chromatography", *Journal of Chromatography B*, **729**, (1999) 361.
- [50] Vieira, L. M., Kijjoa, A., Pereira, J. A., Getris, T. E. and Herz, W., "Germacrenes and flovonoids from *Achillea ageratum*", *Phytochemistry*, **45**, 1, (1997) 111.
- [51] Todorova, M. N., Krasteva, M. L., Markova, M. M. and Tsankova, E. T., Taskova, R. M., Peev,D. R., "Terpenoids from *Achillea clypeolata*", *Phytochemistry*, **49**, 8, (1998) 2371.
- [52] Simic, N., Palic, R., Milosavljevic, S., Vajs, V., Djokovic, D. and Randjevic, N., "Alkanes from *Achillea asplenifolia* Vent.", *Physics, Chemistry and Tecnology*, **2**,1 (1999) 27.
- [53] Werner, I., Glasl, S., Presser, A., Haslinger, E., Jurenitsch, J., "Sesquiterpenes from *Achillea pannonica* Scheele", *Z. Naturforsch*, **58**, (2003) 303.
- [54] Baytop, T., Türkçe Bitki Adları Sözlüğü, **578**, Türk Dil Kurumu Yayınları, Ankara, (1997) 512.
- [55] Yarrow, www.gaiagarden.com/articles/healthnotes/hn_yarrow.php.30k
- [56] Glasl, S., Gunbilig, D., Narantuya, S., Ingrid, W., and Jurenitsch, J., "Combination of chromatography and spektroskopik methods fort he isolation and characterization of polar guaianolides from *Achillea asiatica*", *Journal of Chromatography A*, **936**, (2001) 193.
- [57] Acartürk, R., Şifalı Bitkiler Flora ve Sağlığımız, Orman Genel Müdürlüğü Mensupları Yardımlaşma Vakfı, No:12. Baskı Ankara (1997) 4.
- [58] Başer, K. H. C., Demirci, B. and Duman, H., "Composition of the essential oils of two endemic species from Turkey *Achillea lyconica* and *Achillea ketenoglui*", *Chemistry of Natural Compounds*, **37**, 3, (2001) 245.

- [59] Toker, Z., Özen, H. C., Clery, R. A. and Owen, N. E., “Essential oils of two *Achillea* species from Turkey”, *Journal of Essential Oil Research*, **Mar/Apr**, (2003).
- [60] Küsmenoğlu, Ş. ve Tanker, M., *Achillea wilhelmsii* C. Koch Uçucu Yağının Gaz Kromatografisi ile İncelenmesi, 5. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, Ankara, (1987) 115.
- [61] Bader, A., Flamini, G., Cioni, P. L. and Moelli, I., “Essential oil composition of *Achillea santolina* ve *Achillea bieberstenii* Afan. collected in Jordan”, *Flour and Fragrance J.*, **18**, (2002) 36.
- [62] Tzakou, O. and Loukis, A., “Volatile Constituent of *Achillea crithmifolia* flowers from Greece”, *J.Essent. Oil Res.*, **5**, (1993) 345.
- [63] Weyerstahl, P., Marschall, H., Seelmann, I. and Rustaiyan, A., “Constituents of the essential oil of *Achillea eriophora* DC.”, *Flovour and Fragrance Journal*, **12**, 2 (2003) 71.
- [64] Shawl, S., Srivastava, S. K., Syamasundar, K. V. and Raina, V. K., “Essential oil composition of *Achillea millefolium* L. growing wild in Kashmir, India” *Flovour and Fragrance Journal*, **17**, 3 (2002) 165.
- [65] Mockute, D. and Judzentiene, A., “Variability of the essential oils composition of *Achillea millefolium ssp.millefolium* growing wild in Lithuania”, *Biochemical Systemayics and Ecology*, **31**, (2003) 1033.
- [66] Puerta, R., Saenz, M. T. and Garcia, M. D., “Antibacterial activity and composition of the volatile oil from *Achillea ageratum* L.”, *Phytoterapy Research*, **10**, 3, (1998) 258.
- [67] Sakar, M. K. ve Tanker, M., Fitokimyasal Analizler Tanım, Miktar Tayini ve İzolasyon, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 67, Ankara, (1991) 189.
- [68] Zeybek, N., Farmasötik Botanik, Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No:1, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir, (1985) 340.
- [69] Ceylan, A., Tıbbi Bitkiler II (Uçucu Yağ İçerenler), **481**, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Basımevi, Bornova-İzmir, (1987) 1.
- [70] Baydar, H., Tıbbi, Aromatik ve Keyf Bitkileri Bilimi ve Teknolojisi, Süleyman Demirel Üniversitesi Yayınları, 51, SDÜ Basımevi, (2005), 77.

- [71] Erdik, E., Organik Kimyada Spektroskopik Yöntemler, Gazi Kitabevi, Ankara, 701.
- [72] Erdik, E., Obalı, M., Yüksekışık, N., Öktemer, A., Pekel, T. ve İhsanoğlu, E., Denel Organik Kimya, Erdik, E., Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Yayın., 145, 93.
- [73] Virella, G., Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları, Serter, D., Nobel Tıp Kitapevleri, İzmir, (1997), 85
- [74] Ustaçelebi, Ş., Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi, Ankara, (1999) 103.
- [75] Kılıçturgay, K., Gökırmak, F., Töre, O., Gedikoğlu, S., Göral, G., ve Helvacı, S., Klinik Mikrobiyoloji, Kılıçturgay, K., Bursa Güneş & Nobel Kitapevleri, Bursa, (1994).
- [76] Bilgehan, H., Klinik Mikrobiyoloji (Özet Bakteriyoloji), 10. Baskı, Barış Yayınları, İzmir,(2000).
- [77] Hasenekoğlu, İ. ve Yeşilyurt, S., Mikrobiyoloji, Erzurum (2002).
- [78] 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.
- [79] Hasenekoğlu, İ., Toprak Mikrofungusları, 1, Atatürk Üniversitesi Yayınları, 689, Erzurum, (1991) 107.
- [80] Hasenekoğlu, İ., Toprak Mikrofungusları, 5, Atatürk Üniversitesi Yayınları, 689, Erzurum, (1991) 118.
- [81] Massada, Y., Analysis of Essential Oil by Gas Chromatography and Mass Spectrometry, J. Wiley & Sons, New York, (1976).
- [82] Adams R., Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography / Mass Spectroscopy, Allured Publishing Co., Carol Stream, IL, (1995).
- [83] NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) Performance Standards for Antimicrobial Disc Susceptibility Test, 6th ed., Approved Standard, M2-A6. NCCLS, Wayne, PA., 1997.

- [84] Köneman, E. W., Allen, S. D., Janda, W. M., Schreckenberger, P. C. and Winn W. C., *Colour Atlas and Testbook of Diagnostik Microbiology*, Lippincott-Raven Publ., Philadelphia, (1997), 785.
- [85] Dharmaraj, N., “Ruthenium (II) complexes containing bidentate Schiff base and their antifungal activity”, *Transition Metal Chemistry*, **26**, (2001) 105.
- [86] Kovacevic, N. N., Ristic, M. S., Tasic, S. R., Menkovic, N. R., et al., “Comparative study of essential oil of three *Achillea* species from Serbia”, *Journal of Essential Oil Research*, **Jun/Feb**, (2005).
- [87] Simic, N., Palic, R., and Randjelovic, V., “Composition and antimicrobial activity of *Achillea clypeolata* essential oils”, *Flovour and Fragrance Journal*, **20**, 2, (2004) 127.
- [88] Palic, R., Stojanovic, G. And Naskovic, T., “Composition and antibacterial activity of *Achillea crithmifolia* and *Achillea nobilis* essential oils”, *Journal of Essential Oil Research*, **Nov/Dec**, (2003),
www.findarticles.com/p/articles/mi_ga4091/is200311
- [89] Demirci, F., *Biyoaktif Monoterpenlerin Mikrobiyal Transformasyonu, Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognozi Anabilim Dalı, Eskişehir, 2000.*
- [90] Crippa, A. and Bruno E., “Antifungal activity *in vitro* of phenols and other natural substances”, *Nat. Ecol.*, **7**, (1989), 29.
- [91] Sivropoulou, A., Papanikolaou, E., Nikolaou, C., Kokkini, S., Lanaras, T. and Arsenakis, M., “Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oils”, *J. Agr. Food Chem.*, **44**, (1996), 1202.
- [92] Senatore, F., Napolitano, F., Apostalides, A., Bruno, M. and Herz, W., “Composition and antimicrobial activity of the essential oil *Achillea falcata* L”, *Flovour and Fragrance Journal*, **20**, 3 (2004) 291.
- [93] Baudoux, D., “Antiviral and antimicrobial properties of essential oils”, <http://www.aromabar.com/articles/baud.55.htm> 28 July 2003.
- [94] Toker, Z., Özen, H. C., Clery, R. A. and Owen, N. E., “Essential oils of two *Achillea* species from Turkey”, *Journal of Essential Oil Research*, **Mar/Apr**, (2003).

- [95] Ünlü, M., Deferera, D., Dönmez, E., Polissiou, M., Tepe, B. and Sökmen, A., “Compositions and the *in vitro* antimicrobial activities of the essential oils of *Achillea setacea* and *Achillea teretifolia* (Compositae)”, *Journal of Ethnopharmacology*, **83**, (2002) 117.
- [96] Javidnia, K., Miri, R. and Sadeghpour, H., “Composition of the volatile oil of *Achillea wilhelmsii* C. Koch from Iran”, *Daru*, **12**, 2, (2004) 63.
- [97] Svoboda, K. P. and Hampson, J. B., Biyoactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, antiinflammatory and other related pharmacological activities, Speciality chemicals for the 21st century intermediary products, cosmetics and perfumes, medicinal applications, (1999) www.ienica.net/specchemseminar/svoboda.pdf.
- [98] Aligiannis, N., Kalpoutzakis, E., Chinou, I. B., Mitakou, S., Gikas, E., and Tsarbopoulos, A., “Composition and antimicrobial activity of the essential oils of five taxa of *Sideritis* from Greece”, *J. Agric. Food Chem.*, **49**, (2000) 811.
- [99] Prudent, D., Perineau, F., Bessiere, J. M., Michel, G. and Bravo, R., “Chemical analysis, bacteriostatic and fungistatic properties of the essential oil of the atoumau from Martinique (*Alpinia speciosa*)”, *J. Ess. Oil, Res.* **5**, (1993) 255.
- [100] Tabanca, N., Kırimer, N., Demirci, F. and Başer, K. H. C., “Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Micromeria cristata* subsp. *phrygia* and Enantiomeric Distribution of Borneol”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**, (2001) 4300.
- [101] Sökmen, A., Ünlü, G. V., Deferera, D., Sökmen, M. and Dönmez, E., “Antimicrobial activity of oil and methanol extracts of *Achillea sintenisii* Hub. Mor.”, *Phytotherapy Research*, **17**, 9, (2003) 1005
- [102] Alma, M. H., Nitz, S., Kollmannsberger, H., Digrak, M., Efe, F. T., Yilmaz, N., “Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from the gum of Turkish pistachio (*Pistacia vera* L.)”, *J.Agric. Food Chem.* **16**, 2 (2004) 3911.
- [103] Santoyo, S., Cavero, S., Jaime, L., Ibanez, E., Senorans, F.J., Reglero, G., “Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction”, *J.Food Prot.*, **68**, 4, (2005) 790.
- [104] Stajanovic, G., Asakawa, Y., Palic, R. and Radulovic, N., “Composition and antimicrobial activity of *Achillea clavennae* and *Achillea holosericea* essential oils”, *Flavour and Fragrance Journal*, **20**, (2005) 86.

- [105] Ulubelen, A., Topçu, G., Eriş, C., Sönmez, U., Kartal, M., Kurucu, S. and Bozok-Johansson, C., “Terpenoids from *Salvia sclarea*”, *Phytochemistry*, **36**, (1994), 971.
- [106] Cox, P.A., The Ethnobotanical Approach to Drug Discovery: Strengths and Limitations In, Prance G.T., *Ethnobotany and the Search for New Drugs*, Wiley, Chichester, (1994) 25.
- [107] Eloff, J. N., “Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants?”, *Journal of Ethnopharmacology*, **60**, (1988) 1.
- [108] Azadbakht, M., Morteza, S. K. and Khansari, N., “The essential oils composition of *Achillea wilhelmsii* C. Koch leaves and flowers”, *Journal of Medicinal Plants*, **6**, (2003).
- [109] Kürkçüoğlu, M., Demirci, B., Tabanca, N., Özerk, T. and Başer, K. H. C., “The essential oil of *Achillea falcata* L”, *Flavour and Fragrance Journal*, **18**, 3 (2003) 192.
- [110] Bezic, N., Skocibusic, M., Dunkic, V. and Rodonic, A., “Composition and antimicrobial activity of *Achillea clavennae* L. essential oil”, *Phytoterapy Research*, **17**, 9, (2002) 1037.