

**BALIKESİR YÖRESİNDE DOĞAL  
OLARAK YETİŞEN BİBERİYE VE  
FESLEĞEN BİTKİLERİNE AİT UÇUCU  
YAĞLARIN ANTIOKSİDAN VE  
ANTİMİKOTİK ÖZELLİKLERİNİN  
BELİRLENMESİ**

**Merve Nur ASLAN ÖZ**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı**

**Danışman: Yrd. Doç. Dr. HASAN MURAT VELİOĞLU**

**2017**

**T.C.**  
**NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BALIKESİR YÖRESİNDE DOĞAL OLARAK YETİŞEN BİBERİYE VE  
FESLEĞEN BİTKİLERİNE AİT UÇUCU YAĞLARIN ANTIOKSİDAN  
VE ANTİMİKOTİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**MERVE NUR ASLAN ÖZ**

**TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN: Yrd. Doç. Dr. HASAN MURAT VELİOĞLU**

**TEKİRDAĞ – 2017**

**Her hakkı saklıdır**

**Bu Çalışma Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından NKUBAP. 03.YL.16.028 nolu proje ile desteklenmiştir.**

Yrd. Doç. Dr. Hasan Murat VELİOĞLU danışmanlığı ile Merve Nur ASLAN ÖZ tarafından hazırlanan “Balıkesir Yöresinde Doğal Olarak Yetişen Biberiye Ve Fesleğen Bitkilerine Ait Uçucu Yağların Antioksidan Ve Antimikotik Özelliklerinin Belirlenmesi” isimli bu çalışma Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı tarafından Yüksek Lisans tezi olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

Juri Başkanı: Yrd. Doç. Dr. Hasan Murat VELİOĞLU

*İmza:*

Üye: Yrd. Doç. Dr. Sheida DANESHVAR ROYANDAZAGH

*İmza:*

Üye: Prof. Dr. İsmail Hakkı BOYACI

*İmza:*

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Prof. Dr. Fatih KONUKCU

**Enstitü Müdürü**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### BALIKESİR YÖRESİNDE DOĞAL OLARAK YETİŞEN BİBERİYE VE FESLEĞEN BİTKİLERİNE AİT UÇUCU YAĞLARIN ANTIOKSİDAN VE ANTIMİKOTİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

**Merve Nur ASLAN ÖZ**

Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Hasan Murat VELİOĞLU

Bu tez çalışmasında Balıkesir yöresinde doğal olarak yetişen Biberiye (*Rosmarinus officinalis* L) ve Fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) bitkilerinin antioksidan ve antimikotik özellikleri incelenmiştir. Bitkilerden hidrodistilasyon yöntemi ile elde edilen uçucu yağların antimikotik etkileri *Aspergillus parasiticus* (DSM 5771) ve *Zygosaccharomyces rouxii* ATCC 28253 üzerinde *in vitro* olarak araştırılmıştır. Uçucu yağların antioksidan özelliklerini belirlemek amacıyla toplam fenolik madde analizi ve toplam antioksidan yakalama kapasitesi tayini yapılmıştır. Çalışma kapsamında uçucu yağların ticari muadilleri de antimikotik ve antioksidan özellik açısından incelenmiştir. Araştırma bulguları Balıkesir yöresinde yetiştirilen biberiye ve fesleğen bitkilerinin değişen oranlarda antimikotik ve antioksidan özellikte olduğunu göstermiştir. Bitkilerin toplandığı lokasyonlara göre farklı şartlarda yetişen aromatik bitkilerin antimikotik ve antioksidan özellikleri arasında istatistiki olarak önemli ( $P < 0,05$ ) farklar ortaya çıktığı belirlenmiştir. Elde edilen tüm analiz sonuçları içerisinde en yüksek antimikotik etkiyi küf üzerine 68,83 mm'lik inhibisyon çapı ile Sındırgı ilçesinden toplanan fesleğene ait uçucu yağın gösterdiği ve bu ilçenin denizden en yüksek ve uzak konumda olan ilçe olduğu ortaya konmuştur. Fenolik madde içeriği sonuçlarına göre en

yüksek değer Bigadiç ilçesi menşekli fesleğen uçucu yağında 17.305,3 mg GAE/L, Altieylül ilçesi menşekli biberiye yağında 4.497,8 mg GAE/L olarak tespit edilmiştir. DPPH metodu ile tespit edilen antioksidan kapasite değerleri ise 0,91-18,65 µmol troloks/mL yağ aralığında değişmiştir. Çalışma kapsamında analiz edilen ticari uçucu yağların yaklaşık tamamında antimikotik etki, fenolik madde içeriği ve antioksidan kapasite değerleri laboratuvar ortamında üretilen uçucu yağlara göre düşük bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler :** *Rosmarinus officinalis L*, *Ocimum basilicum L.*, Biberiye, Fesleğen, Antimikrobiyal aktivite, Antioksidan aktivite.

**2017, 69 sayfa**

## **ABSTRACT**

M.Sc. Thesis

### DETERMINATION OF ANTIOXIDANT AND ANTIMYCOTIC PROPERTIES OF ESSENTIAL OILS OF ROSEMARY AND BASILICUM NATURALLY GROWN IN BALIKESIR REGION

**Merve Nur ASLAN ÖZ**

Namık Kemal University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Agricultural Biotechnology

Supervisor Yrd. Doç. Dr. Hasan Murat VELİOĞLU

In this study, we examined the antioxidant and antimycotic properties of the rosemary and basil plant that grows naturally in the Balıkesir region. Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and basil (*Ocimum basilicum* L.) herb plant species were used as study material. *Zygosaccharomyces rouxii* (ATCC 28253) and *Aspergillus parasiticus* (DSM 5771) were used to determine in vitro antimycotic effect of essential oils obtained from plants by hydrodistillation method. The total phenolic material analysis and the total antioxidant capture capacity were implemented to determine the antioxidant properties of fugacious / volatile oils. The research findings show antimycotic and antioxidant properties of rosemary and basil plants grown in Balıkesir region at varying ratios. According to the locations where the plants were collected, it was determined that there were differences ( $P < 0.05$ ) between the antimycotic and antioxidant properties of aromatic plants grown under different conditions. All the analysis results are gathered and it shows the volatile oil belonging to the basil collected from the Sındırgı district with the inhibition diameter of 68.83 mm and it is in the position that this branch is higher and far from the sea.

GAE / L was found to be 4.497,8 mg GAE / L in rosemary oil of Altieylül. The antioxidant capacity values determined by the DPPH method were changed in the oil range of 0.91-18.65  $\mu\text{mol trolox}$  / mL The appetite environment was found lower than the essential oils produced. The study proves the antioxidant and antimycotic properties of the rosemary and basil plant that grows naturally in the Balikesir region. Furthermore, it was also observed that there are some differences between antimycotic and antioxidant characteristics of aromatic plants that were grown in different conditions in different locations.

**Keywords :** *Rosmarinus officinalis* L, *Ocimum basilicum* L., Rosemary, Basil, Antimicrobial activity, Antioxidant activity.

**2017, 69 pages**



## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince gerek ders gerekse tez dönemim boyunca bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen, gelecek hayatımda insani ve ahlaki değerleri ile örnek alacağım, çalışmalarımız boyunca göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Hasan Murat VELİOĞLU'na,

Tez çalışmalarım ve laboratuvar çalışmalarım da her zaman yanımda olan değerli arkadaşım Süleyman BAYTUR'a,

Ve benden maddi manevi desteğini, sabrını hiçbir zaman esirgemeyen sevgili eşim Ozan ÖZ'e, eğitim-öğretim hayatım boyunca benden her türlü yardım ve desteklerini esirgemeyen annem ve babama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Merve Nur ASLAN ÖZ

Tekirdağ, 2017

## **SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ**

### **Simgeler:**

nm	: Nanometre
µL	: Mikrolitre
mL	: Mililitre
L	: Litre
Gr	: Gram
mM	: Milimolar
rpm	: Revolution per minute
°C	: Celsius derecesi
mm	: Milimetre
km	: Kilometre
m	: Metre
cm	: Santimetre
ppb	: Milyarda bir kısım
ppm	: Milyonda bir kısım
sn	: Saniye
dk	: Dakika
s	: Saat

**Kısaltmalar:**

HAT	: Hidrojen atomu transferine
ET	: Bir tek elektron transferine
DNA	: Deoksiribo Nükleik asit
HIV	: Human Immunodeficiency Virus
MIC	: Minimum inhibitör miktarı
FCR	: Folin-Ciocalteu reaktifi
PDA	: Potato Dextrose Agar
TEAC	: Trolox ekivalenti antioksidan kapasite
TRAP	: Toplam radikal tutma parametresi
FRAP	: Demir (III) iyonu indirgeme gücü
ORAC	: Oksijen radikalini absorblama kapasitesi
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
ABTS	: 2,2-azino-bis-3-etilbenzo-tiyazolin-6sülfonik asit
DPPH	: 1,1-difenil 2-pikril hidrazil
WHO	: Dünya sağlık örgütü
EMEA	: Avrupa İlaç Değerlendirme Ajansı
ROT	: Reaktif oksijen türleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
TBA	: Tiyobarbiturik Asit
GPS	: Global Positioning System
GC-MS	: Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi
PBS:	: Phosphate buffered saline
BHA	: Bütil hidroksi anisol
BHT	: Butil Hidroksi Toluen
PG	: Propilen Glikol

## İÇİNDEKİLER

Sayfa No

<b>ÖZET</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>iii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>v</b>
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>vi</b>
<b>ŞEKİL DİZİNİ</b> .....	<b>x</b>
<b>ÇİZELGE DİZİNİ</b> .....	<b>vi</b>
<b>1.GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ</b> .....	<b>2</b>
2.1. Kozmetik Alanda Kullanımları .....	4
2.2. Gıda Endüstrisinde Koruyucu Olarak Kullanımları .....	4
2.3. Anti-Helmintik Olarak Kullanımları .....	5
2.4. Zirai Mücadele Alanında Kullanımları .....	5
2.5. Türkiye Florası .....	5
2.6. Balıkesir Florası .....	6
2.7. Antioksidan Aktivite .....	7
2.7.1 Antioksidan Savunma Sistemleri .....	8
2.8 Antimikrobiyal Aktivite .....	9
2.9. Uçucu Yağlar İle İlgili Bilgiler Ve Özellikleri .....	10
2.9.1. Uçucu Yağların Eldesi .....	11
2.10. Antioksidan Aktivite Tayin Metodları .....	12
2.11. Antimikrobiyal Aktivite Tayin Metodları .....	12
2.12 Çalışmada Kullanılan Bitkiler .....	12
2.12.1. Lamiacea (Ballıbabagiller) Familyasının Genel Özellikleri .....	12
2.12.2. Biberiye ( <i>Rosmarinus officinalis</i> L.) .....	14
2.12.2.1. Biberiye Bitkisinin Kimyasal Özellikleri .....	15
2.12.2.2. Biberiye Bitkisi İle İlgili Yapılan Bazı Çalışmalar .....	17
2.12.3 Fesleğen ( <i>Occimum Basillicum</i> L.) .....	20
2.12.3.1. Fesleğen Bitkisinin Kimyasal Özellikleri .....	21
2.12.3.2. Fesleğen Bitkisi İle İlgili Yapılan Bazı Çalışmalar .....	22

2.13.Çalışmada Kullanılan <i>Zygosaccharomyces rouxii</i> ve <i>Aspergillus parasiticus</i> .....	24
2.14. Çalışma Alanı .....	25
2.15. Tezin Amacı .....	25
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM.....</b>	<b>27</b>
3.1. Materyal.....	27
3.1.1. Çalışmada Kullanılan Bitkilerin Toplanması ve Kurutulması .....	27
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Alet Ekipmanlar .....	29
3.2. Yöntem .....	29
3.2.1. Bitkisel Materyalin Hidrodistilasyonu .....	29
3.2.3. Besi Yerinin Hazırlanması (tartarik asit ekli yazılacak) .....	31
3.2.4. Aromatik bitkilerin in vitro ortamda antimikotik etki kapasitesi ölçümü .....	33
3.2.4. Küf – Maya Sayımı .....	36
3.2.5. Toplam Fenolik Bileşen İçeriği ve Toplam Antioksidan Kapasite Tayinleri.....	36
3.2.5.1. Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi .....	37
3.2.5.2. DPPH Süpürücü Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemi.....	42
3.2.5.3. TEAC (Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasite) Yöntemi .....	43
3.2.5.3.1. ABTS [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)]Hazırlanışı.....	44
3.2.5.3.2 PBS(Phosphate-buffered saline)Hazırlanışı .....	44
3.2.5.3.3 TEAC Yönteminin Hazırlanışı .....	44
3.2.6. İstatistik .....	45
<b>4.ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....</b>	<b>46</b>
4.1. Uçucu yağların antimikotik etkileri.....	46
4.1.1. Uçucu yağların <i>Z. rouxii</i> üzerindeki antimikotik etkisi.....	46
4.1.2. Uçucu yağların <i>A. parasiticus</i> üzerindeki antimikotik etkisi .....	48
4.2. Uçucu yağların fenolik bileşen içerikleri ve antioksidan özellikleri .....	51
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>56</b>
<b>6.KAYNAKLAR.....</b>	<b>57</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>69</b>

## ŞEKİL DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2.1. Biberiye bitkisi .....	14
Şekil 2.2. Fesleğen bitkisi.....	20
Şekil 3.1. Toplanan bitki örneklerinin alındığı ilçeler.....	29
Şekil 3.2. Toplanan bitki örnekleri .....	29
Şekil 3.3 a- Parçalanmış bitki örneği- Clevenger aparatında saf su ile bitki örneği .....	30
Şekil 3.4. Clevenger Su Buharı Distilasyonu Düzeneği .....	31
Şekil 3.5. Yatık agar besi yeri hazırlanması .....	32
Şekil 3.6. Besi yerinin hazırlanması ve dökülmesi.....	32
Şekil 3.7. Yatık agara <i>A. parasiticus</i> ve <i>Z. rouxii</i> şusunun yayılması .....	33
Şekil 3.8. Besiyeri üzerinde pipet ucu arkası ile çukur iz oluşturulması.....	35
Şekil 3.9. Örnek bir inhibisyon zonu ve dijital kumpas yardımı ile ölçüm işlemi .....	36
Şekil 3.10. <i>A. parasiticus</i> ve <i>Z. rouxii</i> ekiminden 48 saat sonra sayım .....	36
Şekil 3.11. Fenolik ve antioksidan analizi için hazırlanan ekstraksiyonlar.....	39
Şekil 3.12. Santrifüj işlemine hazırlanmış falkon tüpü içerisindeki ekstraksiyonlar .....	39
Şekil 3.13. Eppendorf tüplerindeki süpernatant ve alt faz görünümü .....	40
Şekil 3.14. Folin-Ciocalteu's yöntemi için materyallerin hazırlanması .....	41
Şekil 3.15. Shimadzu Uvmini-1240 tipi spektrofotometre.....	42
Şekil 3.16. Spektro küvetinin içerisine ekstrakt konularak üç ayrı paralel hazırlanması .....	43

## ÇİZELGE DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 2.1. Biberiye Bitkisinin Bilimsel Sınıflandırması .....	14
Çizelge 2.2. Fesleğen Bitkisinin Bilimsel Sınıflandırılması .....	20
Çizelge 3.1. Biberiye numuneleri alınan bölgelere ait bilgiler .....	27
Çizelge 3.2. Fesleğen numuneleri alınan bölgelere ait bilgiler .....	28
Çizelge 3.3. Toplanan Bölgelere Göre Bitki Miktarları ve Kullanılan Saf Su Miktarları.....	30
Çizelge 3.4. Laboratuvarda üretilen esansiyel yağların kodları .....	34
Çizelge 3.5. Toplanan bitki materyallerinden elde edilen saf yağların kullanılan miktarları ..	38
Çizelge 3.6. Ticari olarak alınan yağların kullanılan miktarları .....	38
Çizelge 3.7. Fenolik madde analizi için kullanılan malzemeler ve miktarları .....	40
Çizelge4.1. Uçucu yağların <i>Zygosaccharomyces rouxii</i> ATCC 28253 üzerine antimikotik etkisi.....	46
Çizelge4.2. Saf uçucu yağların <i>Aspergillus parasiticus</i> DSM 5771 küf suşu üzerine antimikotik etkisi.....	49
Çizelge 4.3. Metanol-uçucu yağ karışımının <i>Aspergillus parasiticus</i> DSM 5771 küf suşu üzerine antimikotik etkisi.....	50
Çizelge 4.4. Uçucu yağların fenolik bileşen içerikleri .....	52
Çizelge 4.5. Uçucu yağlara ait antioksidan kapasite değerleri .....	54

## 1.GİRİŞ

İlk çağlardan beri tıbbi bitkiler ve onların preparatları insanlar tarafından kullanılmaktadır. Bu bitkilerden elde edilen, modern ilaç formları kullanılarak yapılan preparatlar diğer ülkelerde geleneksel ilaç yada bitkiseller gibi farklı isimlerle adlandırılmaktadır. Ancak son zamanlarda Avrupa Birliği ülkelerinde Avrupa İlaç Değerlendirme Ajansı (EMA) tarafından ortak terim olarak Tıbbi Bitkisel Ürünler “Herbal Medicinal Products” teriminin kullanımı uygun bulunmuştur (Kartal 2004).

18. yüzyıldan sonra kimya biliminin gelişmesi ve ilerlemesi bitkilerle tedavi yöntemlerinin yerini saf, sentetik veya yarı sentetik ilaç hammaddelerinin kullanımını arttırmıştır. Ancak modern ilaçların istenmeyen birçok yan etkilere sahip olması son yıllarda tekrar doğal kaynaklardan elde edilen ilaçların tercihine neden olmuştur (Baytop 1984).

Bitkisel ürün veya bitkisel ilaç, işlenmemiş ya da işlenerek bir veya daha fazla bitkiden oluşturulan bileşim maddesi içeren tedavi edici özelliği olan veya diğer insanların sağlığına yararı olan bitkilerden türetilen maddeler veya ürünlerdir (WHO 1998). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından baharat ve tıbbi amaçlı kullanılan yaklaşık olarak 20.000 bitki türü olduğunu bildirilmiştir (Maregesi ve ark. 2008). Türk farmakopisine kayıtlı olarak görünen bitki sayısı 140 civarındadır. Oysa halk arasında tıbbi amaçlı olarak kullanılan bitkilerin sayısı çok daha fazladır (Yiğit ve Benli 2005, Çenet ve ark. 2006). Ayrıca, ihraç potansiyeli bakımından yaklaşık 200 tıbbi ve aromatik bitkinin olduğu da belirtilmektedir (Tarakçı 2006).

Son yıllarda tıbbi aromatik bitkiler üzerindeki çalışmalar ve bu bitkilere karşı olan ilgi oldukça artmıştır, bunun nedenlerini sıralarsak;

- Kalkınma aşamasındaki ülkelerin yeterli maddi olanaklarının ve kimya endüstrisinin olmaması dolayısı ile bu bitkilerle kolay ve ucuz tedavi yöntemi aramaları.
- Sentetik bileşiklerin bazılarında görülen tehlikeli yan etkiler.
- Bazı ilkel ilaç maddelerinin, bitkisel droglardan, sentetik olanlardan daha ucuz ve kolay eldesi.
- Bitkisel drogların diğer üstünlüğünde birkaç etkiye birden sahip olmalarıdır (Abay 2006).

Tıbbi olarak tüketilen birçok bitkinin antimikrobiyal ve antioksidan etkisinin olduğu ülkemizde ve yurt dışında yapılan çalışmaların birçoğunda görülmüştür. (Panizzi ve ark. 1993, Benli ve Yiğit 2007, Ertürk ve ark. 2010).



Bitkilerin ve baharatların doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılmalarını araştıran çalışmaların sayısı da antimikrobiyal kaynakların kullanılması gibi gün geçtikçe artmaktadır (Dorman ve ark. 1995, Tomaino ve ark. 2005).

Uçucu yağlar ve aromatik ekstraktlar, koku ve tat endüstrileri tarafından parfüm, gıda katkıları, temizlik ürünleri, kozmetikler ve ilaçların terkininde, aroma kimyasallarının kaynağı olarak, yada doğala özdeş ve yarı-sentetik yararlı aroma kimyasallarının sentez başlangıç maddesi olarak kullanılırlar (Başer 1998).

## **2. KAYNAK ÖZETLERİ**

Tıbbi bitkiler ve onlardan hazırlanan preparatlar ilk çağlardan beri kullanılmaktadır. Tıbbi bitkilerden elde edilen ve modern ilaç formları kullanılarak hazırlanan bu preparatlara günümüzde farklı ülkelerde geleneksel ilaçlar, bitkisel ilaçlar, bitkisel, fitofarmasötikler, fitoterapötikler gibi farklı isimler verilmektedir. Ancak son zamanlarda Avrupa Birliği ülkelerinde Avrupa İlaç Değerlendirme Ajansı tarafından ortak bir terim kullanmak amacıyla bu ürünlere Tıbbi Bitkisel Ürünler teriminin kullanılması uygun bulunmuştur (Kartal 2004).

Tıbbi bitkisel ürünleri tarif edecek olursak: Bitkiler ve bitkilerin çeşitli kısımlarının, direkt olarak veya çeşitli işlemlerden geçirildikten sonra ticaret için ambalajlanmış olan tıbbi ürünler veya farmasötik preparatlardır. Herhangi bir hastalığın olmasını önlemek ve korumak, hastalıkları iyileştirmek, hastalığın şiddetini azaltmak, tedaviye yardımcı olmak amacıyla kullanılmaktadır (Kartal 2004).

Çok eski zamanlardan günümüze kadar ilaç olarak kullanılan doğal maddelerin birçoğu bitkisel kökenli kaynaklardan elde edilir. 18. yüzyıldan sonra kimya biliminin gelişmesi ve ilerlemesi bitkilerle tedavi yöntemlerinin yerini saf, sentetik veya yarı sentetik ilaç hammaddelerinin kullanımını arttırmıştır. Ancak modern ilaçların istenmeyen birçok yan etkilere sahip olması son yıllarda tekrar doğal kaynaklardan elde edilen ilaçların tercihine neden olmuştur (Baytop 1984). Bitkisel bir ilaçtan beklenen etki, kimyasal ilaçların etkisinden farklı olarak bitkinin sahip olduğu birçok biyoaktif maddeden bazen tek birisinin değil birden fazlasının ortak etkisi ile ortaya çıkmaktadır. Etkisi kesin olarak kanıtlanmış biyoaktif bir maddenin ilaca dönüştürülmesi büyük önem taşımaktadır. Böyle geliştirilmiş modern ilaçlarda, kalite ve farmakolojik güvence tam olarak belirlenebilmektedir (Baydar 2007).

Hastalıkların tedavisinde tıbbi bitkilerin kullanımı, insanoğlunun yerleşik hayata geçmesiyle birlikte gerçekleşen eski bir gelenektir (Njume ve ark. 2009). Gelişmekte olan

ülkelerde Kırsal toplumların kültürlerinin ve geleneklerinin önemli bir bölümünü bitkisel ilaçlar oluşturur (Njume ve ark. 2009). Günümüzde de yine dünya nüfusunun çoğunluğu ilaç hammaddesi olarak bitkileri kullanmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde yaşayan %80'i temel sağlık ihtiyaçları için çoğunlukla bitkisel kökenli olan geleneksel ilaçlara güvendikleri Dünya sağlık örgütü (WHO) raporlarına göre belirlenmiştir (Sekar ve Kandavel 2010). Gelişmiş ülkelerde reçete ile satılan ilaçların yaklaşık % 25'i bitkisel kökenli kimyasallardır (Principe 1991).

Dünya sağlık örgütü tarafından baharat ve tıbbi amaçlı kullanılan yaklaşık olarak 20.000 bitki türü olduğunu bildirilmiştir (Maregesi ve ark. 2008). Anadolu halkının tıbbi aromatik bitkileri ilaç olarak kullanması da çok eski dönemlere kadar gitmektedir. Hitit dönemine ait bulunan reçete formüllerinde kayıtlı bitki isimleri bunun bir kanıtıdır. Türk farmakopisine kayıtlı olarak görünen bitki sayısı 140 civarındadır. Oysa halk arasında tıbbi amaçlı olarak kullanılan bitkilerin sayısı çok daha fazladır (Yiğit ve Benli 2005, Çenet ve ark. 2006). Ayrıca, ihraç potansiyeli bakımından yaklaşık 200 tıbbi ve aromatik bitkinin olduğu da belirtilmektedir (Tarakçı 2006).

Son yıllarda tıbbi aromatik bitkiler ile bunlardan elde edilen aktif maddeler üzerindeki çalışmalar ve bunlara karşı olan ilgi fazlasıyla artmıştır. Bunların nedenleri şunlardır:

- Yeterli düzeyde maddi imkânı ve kimya endüstrisine sahip olmayan kalkınma yolundaki ülkelerin, memleketlerindeki bitkilerden yararlanıp, ucuz ve kolay bir tedavi yöntemi elde etmek istekleri.
- Sentetik bileşiklerin bazılarında görülen tehlikeli yan etkiler. Tıbbi aromatik bitkiler uzun yıllardır tedavide kullanıldıkları için yan etkileri iyi bilinmektedir. Ancak tedaviye yeni giren sentetik maddeler, yeterli kontrol zamanına sahip değildir.
- Bazı ilkel ilaç maddelerinin, bitkisel droglardan, sentetik olanlardan daha ucuza ve daha kolaylıkla elde edilebilme imkânları.
- Bitkisel drogların diğer üstünlüğü de birkaç etkiye birden sahip olmalarıdır. Sentetik bileşikler genellikle bir tek etkiye sahiptirler. Bunların bazıları ise, antibiyotikler gibi, yan etkilerini önlemek için diğer bazı ilaçlara ihtiyaç gösterirler. Bitkisel droglarda ise böyle bir durum yoktur (Abay 2006).

Tıbbi amaçlı tüketilen bitkilerin birçoğunun antimikrobiyal etkisinin olduğu ülkemizde ve yurt dışında yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Panizzi ve ark. 1993, Benli ve Yiğit 2007, Ertürk ve ark. 2010). Bitkilerin antimikrobiyal bileşikleri çoğunlukla esansiyel yağ kısmında bulunmaktadır. Esansiyel yağlar genelde bitkilerden su buharı distilasyonu ile elde edilirler. Antimikrobiyal aktivite; bitkilerin türüne, kompozisyonuna ve konsantrasyonuna, hedef

mikroorganizmanın türüne ve yüküne, gıdanın kompozisyonuna, işleme ve depolama koşullarına bağlıdır. Fenolik maddelerin antimikrobiyal aktivitelerini etkileyen faktörlerden bazıları; proteinler, lipitler, tuzlar, pH, ve sıcaklıktır (Sağdıçn 2003). Pek çok uçucu yağ bileşenleri, ayrı ayrı test edildiklerinde önemli antimikrobiyal etki sergilemektedir hatta yağ bileşenlerinin karışım halinde kullanımının bu etkiyi daha da çok arttırdığı bilinmektedir (Nostro ve ark. 2000, Sağdıç 2003, Recio ve Rios 2005, Hohman ve ark. 2006).

Bitkilerin ve baharatların doğal antioksidan kaynağı olarak kullanımlarını araştıran çalışmaların sayısı da antimikrobiyal kaynakların kullanılması gibi gün geçtikçe artmaktadır (Dorman ve ark. 1995, Tomaino ve ark. 2005). Bitki uçucu yağ ve bileşenlerinin farmakolojik özellikleri incelenerek tıp, kozmetik ve endüstriyel alanlarda kullanılabilme imkânlarının yararlı olabileceği belirtilmiştir (Kırbağ ve Bağcı 2000).

Ülkemizde Tıbbi aromatik bitkilerin kullanım alanları;

### **2.1. Kozmetik Alanda Kullanımları**

Enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde sıklıkla kullanılan kimyasallar, bitkilerin sentezlediği terpenoidler, flavonoidler, taninler, berberinler, alkaloidler, kininler ve emetinlerdir (Hussain 2011). Etkili antioksidan olan flavonoidler, potansiyel olarak sağlık uygulamalarında, alerjik reaksiyonlardan korunma, derinin elastikiyetini koruma, kırışık oluşumunu engelleme ve yara iyileşmesini hızlandırma gibi özelliklere sahiptirler (Ren ve ark. 2003).

### **2.2. Gıda Endüstrisinde Koruyucu Olarak Kullanımları**

Gıda endüstrisinde bitki ekstraktlarının kullanılması gıda muhafaza süresini uzatabilmek amacıyla artmaktadır. Doğal olmaları ve kalıntı sorununa sebep olmamaları nedeniyle bitkilerin ve baharatların, organik gıda üretiminde önemli bir antimikrobiyal olarak değer bulacağı düşünülmektedir (Cerit 2008). Günümüzde insanlar hem en iyi şekilde beslenmek, hem de bu sırada sağlığını korumak istemektedir. Bu yüzden gıda sektöründe kullanılan bazı sentetik katkıların güvenilir olup olmadıkları bilinmemektedir. Dolayısıyla gıda sektöründe kullanılan bitkilerin doğal antimikrobiyal olarak son derece güvenli olduğu bilinmektedir. Bunlardan uygun yöntem ile elde edilen ekstratlar gıda muhafazasında aroma ve lezzet bileşeni olmasının yanında antimiktobiyal etki de göstermektedir (Akgül 1993, Çon ve ark. 1998, Nostro ve ark. 2000, Sağdıç ve ark. 2002, Nair ve ark.2005). Ayrıca esansiyel yağlar ve tıbbi ve aromatik bitkiler; hazır yiyecek ürünlerine ilave edildiğinde gösterdikleri

antimikrobiyal etki sayesinde yiyeceklerin depolanma süresini arttırmaktadır (Farak ve ark. 1989).

### **2.3. Anti-Helminetik Olarak Kullanımları**

Canlının sadece yaşamak için ihtiyaç duyduğu enerji ve besin maddesi ihtiyacı olan Yaşama payı seviyesinde beslenen hayvanlar enfeksiyonlara karşı daha fazla hassastırlar (Niezen ve ark 1996). Yaşama payı seviyesi üzerinde beslenen hayvanlarda ise, parazitlere karşı daha dayanıklıdır ve parazitlerin açacağı zararları daha basit şekilde önleyebilmektedirler. Sindirim sisteminde bulunan parazitlerin kontrolü için genellikle anti-helminetik ilaçlar kullanılır. Sonuçta ilaç artıklarının hayvansal ürünlerde görülmesi, tüketicileri endişelendirmektedir. Bu yüzden, parazitlerin etki ve sayısını azaltıcı bitki türlerinin rasyona ilave edilmesi, bu ilaçların kullanımını minimuma indirmektedir (Jackson 1993).

### **2.4. Zirai Mücadele Alanında Kullanımları**

Bitkileri ve ürünlerini hastalık, zararlı ve yabancı otlardan meydana gelecek zararlardan korumak amacıyla üretimi arttırmak ve ürün kalitesini yükseltmek bitki koruma çalışmalarının temelini oluşturmaktadır. Bitki ve toprak verimliliğini, direncini arttırıcı ve diğer canlılar için zararsız olan doğal bitki ekstraktlarından elde edilen maddeleri kullanmak biyolojik savaş yöntemlerinin amaçlarından biridir (Türküsay ve Onoğur 1998).

### **2.5. Türkiye Florası**

Türkiye sahip olduğu bitki türlerinin zenginliği bakımından, dünyada önemli bir konuma sahiptir. "Flora of Turkey and The East Aegean Islands" a göre Türkiye florası; 174 familyaya ait 1251 cins ve 12.000'den fazla tür ve tür altı taksonu (alt tür ve varyete) ile çok zengin bir bitki çeşitliliğine sahiptir (Güner ve ark. 2000). Bu taksonlardan 234 adeti yabancı kaynaklı, kültür bitkisidir. Geriye kalan diğer türler ise yurdumuzda doğal yayılış gösteren bitki türleridir (Ekim ve ark. 1989). Türkiye florasında 3000 den fazla tıbbi aromatik bitkinin varlığı belirlenmiştir (Başer 2002).

Tüm Avrupa kıtasının yaklaşık 12.000 kadar bitki taksonuna sahip olduğu varsayıldığında yurdumuzun bitki örtüsü bakımından oldukça zengin olduğu görülmektedir (Ekim ve ark. 2000). Ülkemiz endemizm bakımından da fazlasıyla zengindir. Ülkemizdeki endemik tür sayısı (2891 adet), tüm Avrupa ülkelerindeki toplam endemik takson sayısından (2750) fazladır (Güner ve ark. 2000).

Ülkemiz birçok cins ve seksiyonun farklılaşma merkezi olmasının yanında birçok bitkininde gen merkezi konumundadır. Tarımı yapılan birçok kültür bitkisinin yabani formu ülkemizde doğal yayılış gösterir dolayısıyla Türkiye florasına etkileri oldukça fazladır (Kendir ve Güvenç 2010).

Türkiye Lamiaceae familyası türleri bakımından da oldukça zengin olup, bu familyanın ülkemizde 49 cins ve 629 türü doğal olarak yayılış göstermektedir. Ayrıca bu familyanın ülkemizde 360 endemik taksonu bulunmaktadır (Güner ve ark. 2000).

## **2.6. Balıkesir Florası**

Balıkesir ili, 26 31' 33"- 28 59' 41" doğu boylamları, 39 02' 16" - 40 39' 15 " kuzey enlemleri arasında yer alan ve 14.456 km<sup>2</sup> lik alan kaplayan bir ildir. Marmara ve Ege denizlerine sınırları bulunmaktadır. Bulunduğu konum, sahip olduğu topoğrafik şartlar nedeniyle Balıkesir ilinde 3 adet fitocoğrafya bölgelerine ait bitki taksonları bulunmaktadır, bunlar; Avrupa-Sibirya (Karadeniz), Akdeniz ve İran-Turan'dır. Farklı fitocoğrafya bölgelerine ait bitki türlerinin yer almasında sadece enlem farkı değil, aynı zamanda jeomorfolojik özelliklerin de önemli etkisi vardır. Ayrıca ilimizde yer alan jeolojik, jeomorfolojik birimlerin çeşitliliği, görülen farklı toprak tipleri, topoğrafyadaki yükselti farklılıkları bitki çeşitliliğini arttıran doğal faktörlerdendir (Efe ve ark. 2013).

Doğal bitki örtüsü açısından zengin sayılan Balıkesir topraklarının neredeyse yarısı ormanlarla kaplıdır. Kıyılardaki alçak kesimlerde makiler ve zeytinlikler geniş bir yayılım gösterir(<http://www.balikesir.com.tr/tr/makale/balikesirin-florasi>). Balıkesir'in üst rakımlarında kızılçam, karaçam, kayın, köknar, asli ağaç türleridir. Kestane, meşe, kızılğaç, çınar ağaçlar da yer almaktadır. Alt tabaka ise sistus (laden), erika, karaçal, böğürtlen, sarmaşık bitkileri ile kekik, adaçay, sumak gibi tıbbi bitkiler açısından da çok zengindir (Efe ve ark. 2013).

Ormanların büyük bir kısmı karaçam ve kızılçam, kayın, gürgen, meşe, söğüt, ilgın, çınar ağaçlarından ve zeytinliklerden oluşmaktadır. Bu ağaç türlerinin yanı sıra Kazdağları'nda meşe ve kayınların yanı sıra Kazdağı Gökmarı; Susurluk, Kepsut, Bandırma ve Gönen civarında kayın, gürgen ve meşe türleri bulunmaktadır (Anonim 2015).

Ağaç türleri açısından Kapıdağ Yarımadası oldukça zengindir, yüksek kesimleri geniş yapraklı bodur ağaçlardan oluşan ormanlarla kaplıdır. Ayrıca, Korucu ve Bigadiç civarında kestane; Gönen ormanlarında ihlamur; Kepsut civarında kekik, sumak; Kazdağları'nda adaçayı, dağ nanesi, kantaron, karabaş otu, pelin, defne biberiye vb. bitkiler bulunmaktadır (Sönmez 2005).

Balıkesir'in Ege kıyılarında makilere rastlanır. Palamut meşeleri ve zeytinliklerin kapladığı alan çok geniştir. Zeytincilik özellikle Edremit, Ayvalık, Burhaniye, Bandırma ve Erdek'te çok yaygındır. Arazinin % 30'u ekime müsaittir. % 15'i ise zeytinlik, sebze ve meyve bahçesidir. Ege kıyılarında 300 m yüksekliğe kadar makilere rastlanır. Edremit bölgesi ise 500 metreye kadar zeytinliklerle kaplıdır. Daha yukarılarda kara ve kızılbaş ormanları vardır(Efeveark.2013).

Balıkesir ili orman varlığının büyük bir kısmı Dursunbey, Bigadiç, Sındırgı, İvrindi, Gönen, Bandırma ve Edremit İlçeleri civarında toplanmıştır. Orman varlığının ağaç türlerine göre dağılımı % 34 Meşe, %29 Karaçam, %21 Kızılçam, %8 diğerleri, % 4 Kayın, %3 Fıstıkçamı, %1 Ardıç şeklindedir. Bu ağaç türlerinin yanı sıra Kazdağları'nda Kazdağı Göknaarı, Susurluk, Kepsut, Bandırma ve Gönen civarında Gürgen ve Kestane türleri bulunmaktadır. Erdek Kapıdağı Yarımadası ağaç türleri açısından çok zengin bir alandır (Anonim2015).

İlimizdeki ormanlarda bu sayılan ağaç türlerinin yanı sıra Korucu ve Bigadiç civarında Kestane, Gönen Ormanlarında ıhlamur, ekonomik otsulardan Kepsut ve Korucu civarında kekik ve çeşitli alanlarda ekonomik çalılardan sumak bulunmaktadır (Efe ve ark. 2013).

Kazdağı Milli Parkı, Ayvalık Adaları Tabiat Parkı, Kazdağı Göknaarı Tabiatı Koruma Alanı bitki örtüsü yönünden eşsiz doğa parçalarıdır (Sönmez 2005).

## **2.7. Antioksidan Aktivite**

Antioksidanlar; oksidasyonu engelleyen ve serbest radikalleri yakalama ve dengeleme yeteneğine sahip olan maddeler olarak tanımlanır (Eliot 1999).

Antioksidan maddelerin çalışma mekanizmaları başlıca şu şekildedir:

- Oluşan serbest radikalleri toplayıcı ve giderici etkileri ile bağlayarak veya kararlı hale getirerek,
- Zincir kırıcı etki ile serbest radikal üreten kimyasal reaksiyonları durdurarak,
- Baskılayıcı etki ile reaksiyon hızını azaltarak,
- Onarıcı etki ile lipid, protein ve DNA gibi yapılarda oluşmakta olan biyolojik moleküler hasarları rejenere ederek,
- Hücresel kinaz kayıplarını önleyip oksidasyon reaksiyonlarını durdurarak,
- Organizmadaki SOD gibi antioksidan enzimler ile enzimatik olmayan antioksidanların sentezini artırarak etki gösterirler (Akyüz 2007).

Antioksidasyon, hücrelerdeki ve organlardaki fizyolojik stresi azaltması nedeniyle beslenme açısından oldukça önemlidir. Hayvanlar ve insanlarda hastalıklara direnç ve immün

yeterlilik, antioksidasyon mekanizması ile ilişkilendirilmektedir. Okside olma riski çok fazla olan bileşikler lipidlerdir. Oksidasyon sırasında alkoller, peroksitler, aldehitler, hidrokarbonlar, ketonlar ve asitler gibi birçok bileşik oluşmakta ve bunun sonucu olarak gıdalar acılaşılarak duyuşsal özelliklerini yitirerek, ürünün besin değeri düşmekte ve raf ömrü de kısalmaktadır (Bakkalbaşı 2009).

Ayrıca okside lipidlerin insan organizmasında istenmeyen etkiler sebebi ile, bu ürünlerin gıdalarda oluşmasının olabildiğince engellenmesi gerekmekte ve raf ömrü uzatılmalıdır (Bakkalbaşı 2009).

Bir çok yiyecek katkılarının günümüzde tatlandırıcılar, koruyucular, antioksidanlar, renk vericiler, koyulaştırıcı ajanlar, besleyici olmayan şekeriz tatlandırıcılar olarak kullanıldığı açıklanmıştır. Yiyecek katkısı olarak kullanılanların bazılarının yiyeceklerde kullanılmasının yasaklandığı ve bunların mutajenik, karsinojenik ve toksik etkili olduğu yapılan çalışmalar ve araştırmalar sonucunda belirtilmiştir (Fujise 1982).

Endüstriyel proseslerde gıda maddelerinin depolanma ve rafömrünü arttırmak amacıyla genellikle BHA, BHT ve PG gibi sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır. Antioksidan olarak kullanılan kimyasalların toksisiteleri nedeniyle, son zamanlarda yönelim doğal antioksidanlar üzerine olmuştur. Çünkü, doğal antioksidanlar, eskiden beri insanlar tarafından tüketilen ve gıdalara karıştırdıkları katkılardır. Bazı mikroorganizmalar, bitkiler (yağlı tohumlar, tahıllar, sebzeler, meyveler, baharatlar ve çay), hayvansal ürünler (peptidler, aminoasitler ve karotenoidler), enzimler (glutasyon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve katalaz) ve bazı mikroorganizmalar en önemli doğal antioksidan kaynaklardır. Bunların antioksidan aktiviteleri C vitamini, fenolik bileşikler, karotenoidler ve E vitamini gibi bileşiklerden sağlanmaktadır (Bulca 2014).

### **2.7.1 Antioksidan Savunma Sistemleri**

Kaliteli bir antioksidan; serbest radikalleri belirli şekilde ortadan kaldırır, redoks metallerini tutar, antioksidan ağı içerisinde diğer antioksidanları etkiler, gen ekspresyonunda pozitif etkiye sahiptir, organizmada ise kolayca emilir ayrıca membran veya sulu ortamlarda fonksiyoneldir denilebilir (Akyüz 2007).

Organizmalar, serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmak için vücutta reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türlerini enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların aktivasyonu ile dengeleyip uzaklaştırabilir. Bir antioksidan diğer antioksidanları tetikleyebilir. Bu işlem "antioksidan ağı" olarak adlandırılır (Sies ve ark. 2005).

### 2.7.2 Antioksidan Sınıflandırılması

- Hücrelerin lokalizasyonuna göre

İntrasellüler

Ekstrasellüler

- Fonksiyonuna göre

Radikal oluşumunu önleyen

Radikallerin dokudaki etkilerini önleyen

- Yapılarına göre

Enzimatik Antioksidanlar: Oluşan radikalleri detoksifiye eden sistemleri ROT(Reaktif oksijen türleri) daha az toksik ürünlere dönüştüren enzim sistemleridir. Bu enzimlerden bazıları; Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Hidroperoksidaz (Mates ve ark. 1999).

Non-enzimatik Antioksidanlar: ROT(Reaktif oksijen türleri)'ları yakalayıp nötrleyen antioksidanlar, bu tür antioksidanlar radikalik zincir reaksiyonunun başlamasını durdurur veya zincir reaksiyonunun ilerlemesine engel olarak radikalik reaksiyonu sona erdirirler (Palmer ve ark. 1998). Bu enzimlerden bazıları; Glutasyon (GSH), Vitamin C (Askorbik Asit), Melatonin, Ürik Asit, Albümin, Lipoik Asit, Flavinoidler (McCall ve Frei 1999).

### 2.8 Antimikrobiyal Aktivite

Bitkilerin antimikrobiyal bileşikleri genelde uçucu yağ kısmında bulunmaktadır. Bu bileşikler bitkinin karakteristik aroma ve flavorından da sorumludur, bitkilerden su buharı distilasyonu yolu ile elde edilir. Antimikrobiyal aktivite; bitkinin türüne, kompozisyonuna ve konsantrasyona, hedef mikroorganizmaların türü ve yüküne, gıdanın kompozisyonuna, işleme ve depolama koşullarına bağlıdır. Ayrıca lipitler, tuzlar, pH, sıcaklık, protein ve fenolik maddelerin antimikrobiyal aktivitelerini etkileyen faktörlerdir. (Nostro 2000, Recio ve Rios 2005, Hohman ve ark. 2006).

Esansiyel yağların en çok araştırılan yönlerinden biride antimikrobiyal aktiviteleriyle ilgilidir. Bu uçucu yağlar, farklı bileşenleri içeren kompleks karışımlar olduklarından, etki dereceleri içerdikleri etken maddelerin çeşit ve miktarına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Toroğlu ve Çenet 2006). Etkimekanizmaları hakkında edinilen bilgiler sınırlı olmakla birlikte, bunun yağların lipofilik özellikleri ve kimyasal yapılarıyla ilgili olduğu öne sürülmektedir (Farag ve ark. 1989). Karışım halinde kullanıldıklarında ise bu etkinin dahada arttığı bilinmektedir (Nostro 2000).



Son zamanlarda bitkiler ve bitkilerden elde edilen bitkisel ilaç hammaddeleri tedavide kullanılan ilaçların büyük bir kısmını meydana getirir (Dağcı ve Dığnak, 2005). Tıbbi bitkilerin farklı yöntemlerle elde edilen özütlerinin antimikrobiyal etkiye sahip oldukları bilinmektedir. M.Ö. 2500 yıllarında enfeksiyon hastalıkları tedavisinde kullanılan bitki kökleri, şarap ve küf gibi maddeler olumlu sonuçlar vermiştir (Akyüz 2007).

### **2.8.1. Antimikrobiyal Maddelerin Genel Özelliği**

Antimikrobiyal maddede olması için gerekli olan en önemli özellik seçici toksisitedir. Bakteriler prokaryot, memeli hücreler ökaryottur. Prokaryot hücrede olan, ancak ökaryot hücrede bulunmayan bir molekölü hedefleyen antimikrobiyal maddeler (örneğin; sefalosporinler, sülfonamidler) yüksek derecede seçici toksisiteye sahiptir (Akyüz 2007, Öztürk 2009).

### **2.9. Uçucu Yağlar İle İlgili Bilgiler Ve Özellikleri**

Paracelsus von Hohenheim tarafından ilaçlardaki etken bileşiiği “Quinta essentia” olarak adlandırması ile uçucu yağ terimi 16. Yüzyılda ilk olarak ortaya çıkmıştır (Dirmenci 2003, Çelen 2006).

17. yüzyılda, Fransız hekim Du Chesne uçucu yağların nasıl elde edildiğini iyi derecede biliyordu ve 15-20 adet farklı uçucu yağı drog olarak kullanmaya başlamıştı (Carson ve ark 1993).

18. yüzyılın sonlarında, Avusturalya kolonilerinde çay ağacı yağının tıbbi olarak kullanıldığı kaydedilmesine rağmen, önceden de Avusturalya yerlilerinin bu tip amaçlarla yağları kullandıkları bilinmekteydi (Carson ve ark. 1993).

İlk kez 1881 yılında Dela Croix tarafından yapılan deneysel çalışmalarda uçucu yağların bakterilere karşı özellikleri olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle, 19. ve 20. yüzyıllarda uçucu yağların tıp alanındaki kullanımlarında da artış görölmüştür (Çelen 2006).

Uçucu yağlar, bitkisel droglardan veya aromatik bitkilerden farklı yöntemlerle elde edilen, bitkiler aleminde çoğunlukla bulunan, kendine özel koku, tat, renk ve görünümleri olan, oda sıcaklığında sıvı halde olan, ancak açık bırakıldıklarında oda sıcaklığında bile buharlaşabilecek özellikte olan, uçucu özelliğe sahip, su buharı ile sürüklenebilen aromatik sıvı yağlardır (Şengezer ve Güngör 2008).

Uçucu yağın kendine özgü tadını, kokusunu ve terapötik özelliğini terpenlerin oksitlenmesiyle oluşan oksijenli türevler verir. Uçucu yağlarda farmakognozi yönünden esas önemli olan bileşikler oksitlenmiş türevlerdir. Genellikle uçucu yağlar yağ asidi-gliserol esteri

yapısında olmadığından zamanla acılaşmaz. Uçucu yağlar genel olarak sudan hafiftirler, az bir bölümü sudan ağırdır (Tanker 1990).

Uçucu yağ taşıyan bitkiler, genellikle sıcak iklim bölgelerinde yetişmektedir. Bu yüzden Akdeniz bölgesi uçucu yağ taşıyan bitkiler açısından en zengin bölgelerden biridir. Uçucu yağlar bitkinin herhangi bir organında (salgı tüylerinde, salgı ceplerinde, salgı kanallarında ve salgı hücrelerinde) bulunabilmektedir. Uçucu yağın bitkide protoplazmada bulunduğu ya da hücre duvarının reçinemsiz tabakasının bozunması ile meydana geldiği ileri sürülmektedir (Tanker 1990).

Uçucu yağlar bitkinin yapraklarından, çiçeklerinden, tomurcuklarından, dallarından, tohumlarından, meyvelerinden veya kökünden elde edilebilir. Uçucu yağlar familyaya göre bazı organların salgı ceplerinde, salgı kanallarında, salgı tüylerinde, salgı hücrelerinde veya parankima dokusu içerisinde bulunmaktadır (Kutlular 2007, Şengezer ve Güngör 2008).

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda uçucu yağların 2000'den fazla kimyasal bileşik içerdiği gösterilmiş olup, bunların büyük bir çoğunluğunun ise (%90 civarı) terpenik maddeler olduğu belirlenmiştir. Bir kısmı ise aromatik benzen türevlerinin terpenlerle karışımı şeklindedir (Esen 2005).

Uçucu yağlar gıda, parfümeri, kozmetik, ilaç ve diğer kimya endüstrilerinde kullanılmaktadırlar. Uçucu yağca zengin olan bazı bitkiler, yiyeceklere aroma vermek için kullanıldıkları gibi baharat olarak da kullanılmaktadırlar. Uçucu yağlar parfümeri sanayinin en önemli hammaddelerindendir. Koku karışımlarının ve aroma kimyasallarının hazırlanmasında kullanılırlar. Eczacılıkta, ilaçların koku ve tatlarını düzeltmek amacıyla da bir aromatik bitki özütü veya uçucu yağ kullanılır. Bu maddelerin tedavi edici özellikleri de uzun zamandır bilinmektedir. Hemen hepsi antiseptik ve antibiyotik özellik gösterirler. Kimya endüstrisinde, uçucu yağlarda bulunan terpenik maddeler sentetik kauçuk ve lastik gibi ürünler haline getirilirler (Guenther 1948, Baytop 1991, Otte 1994).

### **2.9.1. Uçucu Yağların Eldesi**

Uçucu yağlar; bitkisel droglardan uçucu yağ miktarı ve bileşenlerine göre farklı yöntemlerle elde edilebilir (Özek 1990, Tanker 1990, Duru 1993). Bu yöntemler 3 ana grupta toplanmıştır.

- Mekanik Yöntem
- Ekstraksiyon Yöntemi

Organik Çözücü ile Tüketme

Sabit Yağ ile Tüketme

- Destilasyon Yöntemi

Su Destilasyonu ( Hidrodistilasyon)

Buhar Destilasyonu

Su Buharı Destilasyonu

Bu tez çalışmasında yukarıda belirtilen metotlardan su destilasyonu (hidrodistilasyon), yöntemi kullanılmıştır.

## **2.10. Antioksidan Aktivite Tayin Metodları**

Son zamanlarda toplam antioksidan kapasite veya toplam antioksidan aktiviteyi ölçmek için birkaç metod geliştirilmiştir. Bunlardan bazıları;

- Trolox ekivalenti antioksidan kapasite (TEAC)
- Toplam radikal tutma parametresi (TRAP)
- Demir (III) iyonu indirgeme gücü (FRAP) ve
- Oksijen radikalini absorblama kapasitesi (ORAC).

Bu metodlar substrat, prob, reaksiyon şartları ve antioksidan etkinin hesaplanma şekline göre birbirinden farklılık gösterir. Bu yüzden farklı metodlardan alınan sonuçları karşılaştırma olasılığı oldukça zordur (Frankel ve Meyer 2000). Bu metodlar kimyasal reaksiyonlarına göre başlıca iki gruba ayrılırlar:

- Hidrojen atomu transferine (HAT) dayanan metodlar ve
- Bir tek elektron transferine (ET) dayanan metodlar.

HAT- ve ET-temelli metodlar örneğin koruyucu antioksidan kapasitesi yerine radikal veya oksidan giderici kapasitesini ölçmeyi hedefler. Bu tez çalışmasında FCR (Folin-Coicalteau) fenolik madde tayin yöntemi ve antioksidan madde tayini kullanılmıştır.

## **2.11. Antimikrobiyal Aktivite Tayin Metodları**

Uçucu yağların patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite varlığının ve derecesinin belirlenmesinde kullanılan yöntemlerdir (Esen 2005, Çelen 2006).

- Disk Difüzyon (Kirby- Bauer) Yöntemi
- Mikrodilüsyon Yöntemi

## **2.12 Çalışmada Kullanılan Bitkiler**

### **2.12.1. Lamiacea (Ballıbabagiller) Familyasının Genel Özellikleri**

Lamiacea familyası ilk olarak 1789 yılında De Jussieu tarafından Labiatae olarak adlandırılmış olup, 1836 yılında Lindley Lamiaceae olarak yeniden adlandırmıştır. Lamiaceae

familiyasına ait fosil kayıtlar bulunmamaktadır. Yinede kökeninin 70-90 milyon yıl öncesine ya da Oligosen dönemine dayandığı bilinmektedir. Lamiaceae familyasının dünyada yaklaşık 250 cinsi ve 7000 türü bulunmaktadır (Koyuncu ve ark. 2010).

Lamiacea familyası genelde bütün habitatlar ve yükseklikte yetişmekte, geniş bir alanda yayılış göstermektedir (Temel ve Tokur 2010). Ülkemizde başlıca Akdeniz havzasında yayılış gösteren, uçucu yağ taşıyan, bir veya daha çok senelik otsu bitki veya çalılardır. Otsu veya çalı formunda olan gövdeye sahiptir, salgı tüylü ve aromatik olup çoğunlukla dört köşelidir. Yapraklar basit veya parçalı, dekusat dizilişlidir. Çiçekler yaprakların koltuğunda, sık kümeler halinde bulunur ve genellikle gittikçe daralan halkalar (vertisillat) oluşturmaktadır. Çiçekler erdişi veya ginodioiktir. Brakteler belirgin şekilde yapraklardan farklı ya da çiçeklenme döneminde iken yapraklara benzer görünürler. Brakteol familya üyelerinin bir kısmında bulunup bir kısmında bulunmayabilir (Özdemir 1996). Uçucu yağ epiderma üzerindeki salgı tüylerinde bulunur. Baş 8 hücreli pul şeklindeki salgı tüyleri bu familya için karakteristiktir (Baytop 1999).

Dört köşeli gövdenin köşeleri kollenkimatik özellik gösterir. Bazı cinslerinde yüzeysel ya da derin bir periderm tabakası bulunmaktadır. Endodermis çoğunlukla iyi farklılaşmıştır. Sekonder odun ve soymuk elemanları (paket) genellikle yaşlı gövdelerde devamlı fakat trakeler genel olarak demetler şeklinde gruplanmıştır. Familya odunu ise yarı gözeneklidir. Trakeler küçük ve ışın şeklinde band gibi yerleşmiştir. Delikler basit, geçitler küçük, spiral kalınlaşmalar ise sıktır. Familya Akdeniz bölgesinde ve Türkiye florasında baharat olarak kullanılan birçok türü kapsar niteliktedir (Özdemir 1996).

Lamiaceae familyası üyeleri genellikle esansiyel yağlar ve diğer terpenik bileşiklerle flavonoid ve benzeri sekonder metabolitler yönünden oldukça zengin olması nedeniyle; tıp, eczacılık, gıda, kozmetik ve parfümeri gibi alanlarda ekonomik öneme sahiptir (Özkum, ve Ozan 2011, Koyuncu ve ark. 2010, Temel ve Tokur 2010). Labiatae familyası bitkileri halk arasında da yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu bitkiler daha çok çay ya da baharat olarak kullanılırlar. Bu familya bitkileri aynı zamanda ülkemizin önemli ihraç maddeleri arasında yer almaktadır (Baytop 1999). Bu familyaya ait olan bazı bitkiler; *Rosmarinus Officinalis* (Biberiye), *Ocimum Basillicum* (Fesleğen), *Salvia Officinalis* (Adaçayı), *Lavandula Stoechas* (Karabaş Otu) gibi örnekler familyaya ait bitki türlerinin bir kısmıdır (Özdemir 1996).

## 2.12.2. Biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.)

### Çizelge 2.1. Biberiye Bitkisinin Bilimsel Sınıflandırması

Biberiye Bilimsel Sınıflandırması
Âlem: Plantae (Bitkiler)
Bölüm: Magnoliophyta (Kapalı tohumlular)
Sınıf: Magnoliopsida (İki çenekliler)
Takım: Lamiales
Familya: Lamiaceae (Ballıbabagiller)
Cins: <i>Rosmarinus</i>
Tür: <i>R. officinalis</i>
İkili adı: <i>Rosmarinus officinalis</i> L.



Şekil 2.1. Biberiye bitkisi

Biberiye (*Rosmarinus Officinalis*) akdeniz kıyısında, kalkerli tepelerde, sürekli yeşil kalan, doğal olarak yetişebilen çok yıllık bir bitki olup, rosmarin, kuşdili, pürem ve süpürge çalısı gibi yöresel isimlerle anılan *Lamiaceae* familyasına ait değerli bir uçucu yağ ve baharat bitkisidir (Baytop 1984).

Akdeniz bölgesinin karakteristik bitkilerinden olan *Rosmarinus* adı Latince kökenlidir ve “denizin çiği” anlamına gelir. Genellikle deniz kenarlarında çok yaygın bulunmasından ve deniz iklimini çok sevmesinden dolayı bu ismi almıştır (Sasikumar 2004). Esas kökeni Akdeniz Bölgesi olan bu bitkinin kültürünün en çok yapıldığı ülkeler ise Fransa, İspanya, Portekiz, İngiltere, İtalya, Yunanistan, Balkan Ülkeleri, Tunus, Amerika Birleşik Devletleri ve Meksika’dır. Yabani olarak Akdeniz ikliminin hakim olduğu her yerde yetişebilir (Malayoğlu 2010).

Eski Yunan ve Romalılar tarafından çok iyi bilinen biberiye, hem mutfakta hem de tıbbi tedavi amaçlı olarak kullanılmıştır. Ayrıca “bağlılık” sembolü olarak kabul edilmiş ve

düğün törenlerinde gelin tacına takılmıştır. Terapi etkisi antik çağlardan beri bilinmektedir, hasta odalarında yakılmak suretiyle havanın temizlenmesinde kullanılmıştır (Kırpık 2005).

Biberiye 50-150 cm boylanan, otsu veya ağaçcik görünüşünde sapı lifli, küçük ince narin, açık veya koyu yeşil yapraklı, yaprak arkası kül renkli ve tüylüdür. Çiçekleri ise açık mavi beyazımsıdır ve bütün sene çiçeklidir. Bir eksen üzerinde salkım halinde bulunan çiçekler aromatik ve güzel kokuludur (Baytop 1984).

Genellikle maki florası içerisinde, orman içi boşluklarda, tarla ve üzüm bağları kenarlarında, koruma altındaki ağaçlandırma sahaları içerisinde geniş yayılım göstermektedir (Kırpık 2005).

Biberiye Türkiye’de Akdeniz ve Ege sahil şeridinden 1000 m yüksekliklere kadar yayılış gösterir. Ancak ekonomik olarak en fazla Mersin ve Adana illerinde, 100-250 m rakımlarda sahil ve sahile bakan dağ yamaçlarından yabancı olarak toplanarak üretilmektedir (Arıhan 2003, Gülbaba ve Özkurt 2004, Baydar 2009).

Biberiye bitkisinin karakteristik özellikleri ise, gelişmiş bir kök ve gövde sistemine sahiptir. Fazlaca dallanır ve dalların üzerinde sık bir şekilde her biri 1.5-3.5 cm uzunluğunda, çok kısa saplı, iğ şekilli ve parlak yeşil renkli olan yapraklar dizilir. Yaprakların alt yüzeyinde bol miktarda uçucu yağ taşıyan salgı tüyleri bulunur. Sap uçlarına doğru ve yaprak koltuklarında tipik Lamiaceae çiçek yapısının özelliklerini taşıyan salgı tüyleri bulunur. Sap uçlarına doğru ve yaprak koltuklarında tipik Lamiaceae çiçek yapısının özelliklerini taşıyan mavi renklere çiçekler sıralanır. Çiçeklerindeki çanak ve taç yapraklar alt ve üst olmak üzere iki lobludur. Kış sonu ve ilkbahar başlarında çiçeklenebilmektedir (Anonim 2012). Ciddi hastalık ve zararlısı olmamakta birlikte sert kış koşullarına dayanmamaktadır. Kültürü yapılan veya doğal floradan yılda bir veya iki kez hasat edilebilmektedir (Simon ve ark.1984).

#### **2.12.2.1. Biberiye Bitkisinin Kimyasal Özellikleri**

*Rosmarinus officinalis L.*, yapraklarının antioksidan özellikte olmasından dolayı en yüksek antioksidan aktiviteli baharatlardan biri olarak kabul edilir. Baharat olarak kullanılmasının yanı sıra, güçlü antibakteriyel ve antimutajenik özelliklerinden dolayı tıbbi amaçlı olarak değerlendirilebilmektedir (Wang ve ark. 2008).

Biberiyenin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesi içerdiği yüksek fenolik bileşiklerden kaynaklıdır. Özellikle, monoterpenerler (eterik yağlar), diterpen fenoller (karnosik asit, karnosol, rosmanol, apirosmanol, isorosmanol, metil karnosat), fenolik asitler

(rosmarinik asit), flavanoller ve triterpen asitler (ursolik asit, oleanolik asit, bütülinik asit) biberiye ekstraktlarının etken maddelerini oluşturmaktadır (Bayrak 2006). Ayrıca, biberiyenin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesi ekstraktın elde edilmiş yöntemiyle de ilişkilidir (Dapkevicius ve ark. 1998).

Biberiyede lezzet verici temel bileşik sineol'dür. Karnosik asit, karnosol, rosmarinik asit ve rosmanol antioksidan özelliklere sahipken; borneol, 1,8-cineole, camphor ve bornyl asetat gıdaların korunmasında kullanılan bileşiklerdir (Sasikumar 2004).

Biberiyenin kendine has keskin tat ve kokusu çok düşük düzeylerde bile hissedilir. Bu bazen kullanım düzeyini sınırlayan önemli bir sorun olmaktadır, son yıllarda geliştirilen bazı yöntemlerle giderilmiştir. Özellikle ABD ve Japonya' da renksiz, tatsız, aynı zamanda güçlü antioksidan etkiye sahip ticari biberiye preparatları üretilmiştir (Akgül 1989).

Biberiye kullanım alanları şöyle sıralanabilir:

- İlaç olarak kullanımı, biberiye içerdiği flavonoidler ile gaz giderici, uçucu yağı ile antidepresant, antispazmotik, diterpenler nedeniyle antimikrobiyal etkilere sahiptir. Karnosol bileşeni kas ağrılarında etkili olup rosmarin yağ merhemi antiromatizmaldir. Aynı zamanda karnosol ve bitki ekstraktı ise kanser oluşumunu engelleyen ve karaciğer yenileyicisi olarak etki etmektedir (Sasikumar 2004).
- HIV hastalığında kullanımı, rosmarin ekstraktını oluşturan karnosol ve karsonik asit HIV virüsünün bulaşmasını engelleme konusunda etkinliğe sahiptir. Bunun yanı sıra hücrelere karşı herhangi bir toksik etkisi saptanmamıştır (Sasikumar 2004).
- Kardiyovasküler etkileri, biberiye ekstraktının tavşan kalbi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Olumlu etkileri görülmüş olup kuru yapraklarının infüzyon olarak kullanımında kan şekeri düşürdüğü ve toksik etkisinin olmadığı saptanmıştır (Sasikumar 2004).
- Kanser araştırmaları, biberiyenin hücre yenileyici etkisi söz konusudur. İçeriği karnosol, karnosik asit, ursolik asitler nedeniyle kanser oluşumunu engelleyici özelliğe sahiptir. Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada serbest radikallerin yol açtığı DNA tahribatından hücreyi koruduğu görülmüştür (Sasikumar 2004).
- Aromaterapi ve kozmetikteki kullanımı, rosmarin, lavanta, kekik ve jojoba yağıyla yapılan karışımın saç derisi üzerinde olumlu etkileri olduğu, rosmarin yağının saç

foliküllerini uyardığı böylelikle de kelliği gidermede etkili olduğu görülmüştür (Sasikumar 2004). Biberiye uçucu yağı (*Oleom Rosmarini*) özellikle parfüm, kozmetik ve aroma terapide çok değerlidir. Biberiye uçucu yağından cilt bakım kremleri ve losyonları hazırlanır ve doğal parfüm yapımında diğer uçucu yağlarla karıştırılır (Anonim 2012).

- Baharat olarak kullanımı, balık ve et yemeklerinde, salatalarda, şarap tatlandırıcı olarak, sebze yemeklerinde de baharat olarak tüketilmektedir (Sasikumar 2004).
- Bitkisel pestisit olarak kullanımı, bitki patojeni olan *Streptomyces scabies*'i yok edici olduğu laboratuvar çalışmalarında görülmüştür (Sasikumar 2004).
- Gıda sektöründe kullanımı, biberiye, yiyecek muhafazasında etkili olan bir baharattır.

Doğal koruyucu ve antioksidan olarak A.B.D ve Avrupa'da kullanımı olan bir bitkidir. İçerdiği karnosol ve karnosik asit, diterpenlerden olan isorosmanol, rosmaridiphenol, rosmariquinone ve rosmarinik asit gibi antioksidan etki göstermektedir. Et ve et ürünlerinden yağ içeren gıdaların uzun süreli muhafazasında gıdaların bozulmadan dayanmasında etkili bileşiklerdir (Sasikumar 2004).

#### **2.12.2.2. Biberiye Bitkisi İle İlgili Yapılan Bazı Çalışmalar**

Bracco ve ark. (1981), yaptıkları araştırmada 16 bileşik izole etmişlerdir. Biberiye ekstraktının antioksidan aktivitesinin, başlıca karnosol ve karnosik asit isimli iki fenolik diterpenden kaynaklandığını tespit etmişlerdir.

Gerhardt ve Schröter (1983), yaptıkları araştırmada rozmarinik asitin kafeik asit ve 3,4-dihidroksifenillaktik asitin bir esteri olduğunu bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar rozmarinik asitin, biberiye, adaçayı, kekik, nane ve fesleğen gibi bitkilerde bulunduğunu bildirmişlerdir.

Guillen ve ark. (1996), yaptığı çalışmada İspanya'da endüstriyel amaçlı kültürü yapılan *Rosmarinus officinalis* L., *Salvia lavandulifolia* V., ve *Lavandula latifolia* M.'nin esansiyel yağ içeriklerini belirlemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre biberiyenin esansiyel yağ içeriği daha önce çalışılan biberiye bitkilerinden lezzet anlamında daha zengin ve kompleks olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca farklı coğrafik bölgelerdeki biberiyelerin esansiyel yağları ile karşılaştırıldığında ortalama  $\alpha$ -pinen ve 1,8-cineole miktarına sahip oldukları, ancak daha yüksek oranda kafur, verbenon ve linalool içerdikleri gösterilmiştir.

Lopez-Bote ve ark. (1998), etlik piliç yemlerine 500 mg/kg adaçayı veya biberiye ekstraktı ilave etmişler ve bu şekilde beslenen hayvanlardan elde edilen but ve göğüs etlerinde



4 ay donmuş depolama süresince lipit oksidasyonunun kontrol gruplarına göre önemli düzeyde azaldığını bildirmişlerdir.

Gül Baba ve Özkurt (2002), Adana ve Mersin yöresinde biberiye üretimi yapılabilecek sahaların belirlenmesi amacıyla, biberiyelerin uçucu yağ ile kuru yaprak verimlerinin ve bunların mevsimsel değişimlerinin belirlenmesi, en uygun hasat zamanının saptanması ve bu tür üzerine ileride yapılacak ıslah çalışmalarının temelini oluşturacak bilgilerin üretilmesini amaçlamışlardır. En yüksek kuru yaprak verimi Dedeler/Tarsus popülasyonunda % 2.38 oranında nisan ayında bulunmuştur. En düşük yağ verimi ise Ziyarettepe/Karaisalı popülasyonunda % 1.51 oranında temmuz ayında bulunmuştur. Yağ verimlerinin mevsimsel olarak değişimleri önemli bulunmakla beraber, ekim ayında genellikle düşük bulunmuştur. Kuru yaprak verimi olarak da en fazla Tarsus/Aladağlı popülasyonunda ekim ayında, en düşük (% 25.48) ise Çamtepe/Yumurtalık popülasyonunda yine ekim ayında bulunmuştur. Yaprak verimi mevsimsel olarak genelde nisan ayında düşük belirlenmiştir.

Lahlou ve Berrada (2003), üç farklı biberiye kemotipinden elde ettikleri esansiyel yağları, *Pediculus humanus capitis* bitinin sirkelerine *in vitro* olarak uygulayarak sirke öldürücü etkisini araştırmışlardır. Kemotip 1'in (Tabat kökenli) esansiyel yağının en etkili olduğu, bunu sırasıyla kemotip 2 (Errachidia kökenli) ve kemotip 3'ün (Oujda kökenli) esansiyel yağları izlemiştir. Bu kemotiplerin esansiyel yağlarının kimyasal analizleri farklılık göstermiştir. Belirlenen temel bileşikler arasında alkolik ve ketonik bileşikler, sirkeler üzerinde en etkili olanları olarak tespit edilmişlerdir. Gözlemlenen nitisidal aktivitedeki farklılıklar, kullanılan teknik ve test edilen esansiyel yağların kimyasal kompozisyonu ile ilişkili bulunmuştur. Bu kemotiplerin coğrafi dağılımları da esansiyel yağlarının kimyasal yapılarındaki farklılıklara neden olduğu bildirilmiştir.

Zaouali ve ark. (2005), Tunus'ta farklı bölgelerde bulunan on dört yabancı biberiye popülasyonundaki esansiyel yağ miktarları belirleyerek karakterize etmişlerdir. Popülasyona göre değişmekle birlikte, toplam bileşiklerin %93.68-98.77'ni oluşturan 25 bileşik tanımlanmıştır. 1,8-sinol (%20.34-45.79), kafur(% 8.5-30.17),  $\alpha$ -pinene (% 6.53-13.1) ve borneol (% 3.73-25) belirlenen temel bileşiklerdir. Ayrıca bileşiklerin ortalama yüzdesi popülasyonlar arasında önemli oranda değişmektedir;  $\alpha$ -pinen, 1,8-cineole popülasyonlarda farklılaşan temel bileşenlerdir. Ayrıca bileşenlerin oranı ve doğası popülasyonların biyoklimatik aşamalarına göre değişmektedir ve derin farklılıklar belirlenmiştir. Üst kurak biyoklimada bulunan ve *Rosmarinus officinalis var troglodytorum*'un temsil ettiği popülasyonda yüksek oranda  $\alpha$ -pinen, kafur ve düşük oranda 1,8-sinol belirlenmiştir.

Fernandez-Lopez ve ark. (2005), tarafından biberiye, portakal ve limon ekstraktlarının antioksidatif etkisi, İsveç tarzı köftelerde araştırılmıştır. Yapılan çalışmada, hazırlanan köftelere, suda çözülmüş biberiye ekstraktı (%15), yağda çözünen biberiye ekstraktı (%10), limon ekstraktı (%5) ve portakal ekstraktı (%5) olarak ayrı ayrı ilave edilmiştir. Isıl işlem uygulanan köfteler 8°C 12 gün depolanmıştır. Depolama sonunda biberiye ekstraktlarının ilave edildiği köftelerde TBA değeriyle belirlenen lipit oksidasyonunun düşük seviyede olduğu saptanmıştır.

Ahn ve ark. (2007), doğal bitki ekstraktlarının mikrokapsül yüksek oleik asit içeren ayçiçeği yağı üzerindeki antioksidan etkisini araştırmışlardır. Bu çalışma sonucunda biberiye, brokoli filizi ve turunçgil gibi doğal bitki ekstraktlarının ayçiçeği yağının lipit oksidasyonunu etkili bir şekilde engellediği görülmüştür. Ayrıca biberiye ekstraktının, gıdalarda lipit oksidasyonunu engellemesi amacıyla kullanıldığını ve son zamanlarda yapılan araştırmaların, ekstraktın içerisindeki aktif bileşiklerin izolasyonu ve identifikasyonu yönünde eğilim gösterdiğini bildirmişlerdir.

Yeşil-Çelikaş ve ark. (2007a), Çanakkale, İzmir ve Mersin'den dört farklı zamanda yabani biberiye popülasyonlarından aldıkları biberiye örneklerine süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu uygulamış ve in vitro antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Aktif bileşenlerin miktarlarındaki çeşitliliğin farklı mevsim ve coğrafi bölgelere göre değiştiğini belirlemişlerdir. Bileşenlerin miktarları Aralık 2003 ve Eylül 2004'te en yüksek olarak belirlemişlerdir. Ayrıca Eylül ayında toplanan bitkilerin diğer zamanlarda toplanan bitkilere göre daha yüksek aktif bileşen içerdiği ve daha iyi antioksidan kapasitesine sahip oldukları gösterilmiştir. Bölgelere göre değerlendirildiğinde Mersin bölgesinden toplanan bitkilerin daha iyi antioksidan aktivitesi ile sonuçlanan daha yüksek toplam fenol ve aktif bileşene sahip olduğu belirlenmiş ve ayrıca gıda endüstrisi için potansiyel değerleri gösterilmiştir.

Yeşil-Çelikaş ve ark. (2007b), yılın dört farklı zaman aralıklarında ve üç farklı bölgeden topladıkları biberiyelerin metanolik ekstraktları ve esansiyel yağlarının antimikrobiyal aktivitelerini *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klensiella pneumonia*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis* ve *Candida albican*'a karşı test etmişlerdir. Sonuçta biberiyeden elde edilen esansiyel yağlar minimum inhibitör miktarı (MIC) olarak etki etmiştir. Sonuçlar test edilen bakterilerin esansiyel yağlara karşı hassas ve metanolik ekstraktlara karşı kısmi olarak hassas olduklarını göstermiştir. Test edilen bakterilere karşı, esansiyel yağların antimikrobiyal etkisi bitkilerin toplandığı bölgelere ve mevsimsel değişikliklere göre farklı şekillerde gerçekleştiğini belirtmişlerdir.

### 2.12.3 Fesleğen (*Occimum Basillicum L.*)

#### Çizelge 2.2.Fesleğen Bitkisinin Bilimsel Sınıflandırılması

Fesleğen Bilimsel Sınıflandırması
Âlem: Plantae (Bitkiler)
Bölüm: Magnoliophyta (Kapalı tohumlular}
Sınıf: Magnoliopsida (İki çenekliler)
Takım: Lamiales
Familya: Lamiaceae (Ballıbabagiller)
Cins: Ocimum
Tür: O. Basilicum
İkili adı: <i>Ocimum basilicum L.</i>



Şekil 2.2. Fesleğen bitkisi

*O. basilicum L.*)Lamiacea familyasının, *Ocimoideae*alt familyasından *Ocimum* cinsinin bir türüdür. Bitki türü birçok varyeteye sahiptir (Balyan ve Pushpangadan 1988 ). *Ocimum* türleri içerisinde en fazla ekonomik öneme sahip olan tür *Ocimum basilicum L.*'dur. İlk olarak Mısırlılar daha sonra Romalılar tarafından kullanılan bitki günümüzde dünyanın hemen her yöresinde kültür bitkisi olarak yetiştirilmektedir. Günümüzde takriben 150 çeşit fesleğen türü bulunur ve bunlar da beş önemli kimyasal tipe ayrılmaktadır. Kafursu fesleğen kafur gibi, anasonsu fesleğen ırkı genellikle anason gibi, limonsu fesleğen türü limon gibi, , karanfilsi fesleğen karanfil gibi, kişnişsi fesleğen kişniş gibi kokar.

Güney Asya özellikle Hindistan kökenli olan fesleğen, Güney Asya'da tropik ve ılıman bölgelerde yayılmaktadır. *Ocimum* cinsi, Asya, Afrika ve Orta Amerika'da doğal yayılış göstermekte olup (Darrah 1998), daha çok Fransa, İtalya ve İspanya'da kültür bitkisi olarak bulunmaktadır (Ceylan 1997).

Fesleğen özellikle Batı ve Güney Anadolu'da yetiştirilmektedir. *Ocimum basilicum L.* tür içerisinde geniş morfolojik ve kimyasal çeşitliliğe sahiptir. Bu nedenle de pek çok alt tür

ve varyetelere ayrılarak incelenmektedir. Bazı yörelerde özellikle doğu illerinde mor renkli tipler fazla görülmektedir ve reyhan olarak isimlendirilmektedir. Batı illerinde daha yaygın olan yabancı literatürde 'sweet basil' olarak bilinen yeşil renkli çeşit ise fesleğen olarak bilinmektedir (Telci ve ark. 2005).

Fesleğen tek yıllık ve otsu, 20-60 cm boylu, beyaz-mor çiçekli bir bitkidir. Olgunlaşmış fesleğenlerin boyları genellikle 20 ile 60 cm arasında değişmektedir.

Renkleri açık yeşilden koyu yeşile kadar değişen yaprakları yumuşak olup, 1-5 cm arasında uzunlukta ve 1-3 cm arasında genişlikte olmaktadır (Telci ve ark. 2005). Yapraklar çapraz dizilişli olup, 4,5 cm uzunluğundaki ince, tüylü saplarla dallara bağlanmıştır. Yapraklar parlak yeşil veya morumsu renkte, ince uzun-oval, yumurtamsı, kenarları dişli veya düz ve yaprak yüzeyi damarlı yapıdadır. Çiçekler genellikle üçü bir arada bulunan başak şeklindedir. Çiçekler üst kısımlarda yaprak sapı ile dal arasındaki koltuk kısmından çıkmaktadır. Başak boyu 30 cm'ye kadar çıkmaktadır. Başağın alt kısmındaki çiçekler seyrek, üst kısmındakiler ise sıktır. Çiçekler başak üzerine halka şeklinde dizilmişlerdir. Her bir halkada yaklaşık altı çiçek bulunur. Taç yapraklar küçük beyaz, pembemsi, mavimsi beyaz, morumsu renktedir. Döllenmeyi, böcekler özellikle arılar sağlamaktadır (Jansen 1981). Soğuğa karşı çok duyarlı olan fesleğen bitkisi, en çok sıcak ve kuru ortamları sevmektedir (Telci ve ark. 2005). Fesleğenin çimlenmesi 14 günde gerçekleşmektedir. Ayrıca tohum çimlenme kabiliyetini 4-5 yıl korumaktadır. Humusça zengin kumlu-tınlı toprakları sever. Özellikle sıcaktan hoşlanmaktadır (Darah 1974, Hornok ve Lenches 1992).

#### **2.12.3.1. Fesleğen Bitkisinin Kimyasal Özellikleri**

Fesleğende esansiyel yağ oranı % 3-1 arasında değişmektedir (Akgül 1993). Esansiyel yağ % 0,3-1,0 verimle, su buharı damıtması ile sarımsı renkte bir sıvı olarak elde edilir ve başlıca bileşenleri; linalol, metil kavikol, öjenol, limonen, cis-osimen, geraniol, sitronellol, 1,8-sineol, terpineol asetat ve kafur içermektedir. İran'da kültüre alınan, yeşil yapraklı *O. basilicum* uçucu yağında, metil kavikol, geraniol, neral ve karyofillen asit tespit edilmiştir (Sajjadi 2006).

Fesleğen değerli bir uçucu yağ ve baharat bitkisidir. Ekonomik olarak değerlendirilen kısmı yapraklarıdır. Fesleğen bitkisinin yağında antimikrobiyal, insektisidal, nematisidal, fungistatik ve antioksidan etkileri bulunmaktadır (Baydar 2009).

Türkiye'de yerel fesleğen (*Ocimum* spp.) geno-tiplerinin morfolojik, agronomik ve teknolojik karakterizasyonunun yapıldığı çok geniş bir araştırmaya göre; yerel fesleğenlerde

gerek morfolojik ve gerekse kimyasal açıdan geniş bir varyasyonun olduğu belirlenmiştir. Zengin bir kimyasal varyasyon gösteren fesleğenin, değişik alanlarda kullanılan bileşenlerin (linalool, citral, metil cinnamate, metil eugenol vb.) elde edilmesinde önemli bir potansiyele sahip olduğu saptanmış, bu maddelerin Türkiye’de ticari amaçlı üretimi söz konusu olduğunda, bunu karşılayacak genotiplerin varlığı tespit edilmiştir (Telci ve ark. 2005).

Fesleğenin kullanım alanları şu şekilde sıralanabilir:

- Fesleğen gıda sanayiinde baharat ve uçucu yağı, alkolsüz içecekler, fırın ürünleri, şekerlemeler, dondurmalar, sirkeler, et ve çeşni ürünlerde kullanılmaktadır.
- İlaç sanayiinde,
- Parfümeri sanayilerinde de yaygın olarak kullanılmaktadır (Akgül 1993).

#### **2.12.3.2. Fesleğen Bitkisi İle İlgili Yapılan Bazı Çalışmalar**

Fleisher (1981), İsrail koşullarında *Ocimum basilicum L.*’un iki varyetesi üzerine yaptığı araştırmada en yüksek uçucu yağ veriminin tam çiçeklene döneminde elde edildiğini, uçucu yağ içeriğinin sonbahara doğru arttığını ve varyeteler arasında yağın kimyasal bileşenleri yönünden farklılıklar olduğunu bildirmiştir.

Hornok (1983), Macaristan’da gübrelemenin fesleğenin uçucu yağ oranı ve bileşenlerine etkisi üzerine yaptığı çalışmada, uçucu yağ oranının artan azot ve fosfor uygulamasından olumlu etkilendiğini, ayrıca 18 kg/da kadar uygulanan potasyum gübrelemesinin uçucu yağ oranını artırdığını ve daha yüksek dozların yağ oranını düşürdüğünü bildirmiştir.

Akgül (1989), Erzurum’da yetiştirilen fesleğen populasyonlarının kuru yapraklarında % 0.5 oranında uçucu yağ bulunduğunu, uçucu yağın içerisindeki ana bileşenlerin, Linalool (% 45.7), Eugenol (% 13.4), Methyl Eugenol (% 9.57), Fenchyl alcohol (% 3.64), 1.8-Cineole ve Cis-ocimene (% 3), Methyl cavicol (% 2.7), Iso Eugenol (% 2.04),  $\beta$ -Caryophyllene (% 2.87), Methyl cinnamate (% 1.98) olduğunu, ayrıca elde edilen sonuçlardan fesleğen uçucu yağının Linalool’ce zengin olduğunu ve yağın kimyasal bileşiminin çevresel faktörlerden etkilendiğini belirtmiştir.

Singh ve Bordoloi (1991), Hindistan’da *O. basilicum L.* var. *Purpurascens* üzerine yaptıkları araştırmada en yüksek uçucu yağ oranını yaprakta çiçeklenme sonlarında (%0.739), çiçekte tam çiçeklenmede (%0.93), sapta ise çiçeklenme sonlarında (%0.061) saptamışlardır.

Mathe ve ark. (1993), Lamiaceae familyasının Akdeniz iklim kuşağındaki tarımı üzerine yaptıkları araştırmada uçucu yağ bitkisi olarak ekonomik öneme sahip bulunan fesleğenin kuru çiçeklerinde %0.71 oranında uçucu yağ olduğunu belirlemişlerdir.

Akgül (1993), Erzurum bölgesinde yetiştirilen fesleğen'nin kuru yapraklarının %0.5 uçucu yağ içerdiğini, uçucu yağ içerisinde anabileşenler olarak linalool (%45.7), eugenol (%13.4), methyl eugenol (%9.57), fenchyl alcohol (%3.64), 1,8-cineole ve cis-ocimene (%3), methyl cavicol (%2.7), iso eugenol (%2.04),  $\beta$ -caryophyllene (%2.87), methyl cinnamate (%1.98) bulunduğunu ve elde edilen sonuçlardan fesleğen uçucu yağının linaloolce zengin tipe ait olduğunu, ayrıca çevresel faktörlerin yağın kimyasal bileşimini etkilediğini bildirmiştir.

Özek ve ark. (1994), Gaziantep'te yetiştirilen fesleğenlerin uçucu yağ kompozisyonu üzerine yaptıkları araştırmada, bitkinin kuru çiçekli dallarının su distilasyonu ve buhar distilasyonu ile uçucu yağın çıkartmışlar ve su distilasyonunda uçucu yağ oranını %0,43 buhar distilasyonunda ise %0,21 olarak bulmuşlardır. Uçucu yağın analizi sonucu 60 bileşen tanımlanmış ve bunlardan en önemlilerinin linalool (%24), e-methyl cinnamete (%16,72), 1,8-cineol(%13,63) olduğunu bildirmişlerdir.

Tada ve ark.(1996), *Ocimum basilicum L.*'dan kök kültürleri yoluyla, doğal bir fenolik antioksidan olan rosmarink asidi elde etmişlerdir. Diğer bir çalışmada ise *Ocimum basilicum L.* ekstraktının antifungal aktiviteye sahip değilken, antibakteriyel etkisinin bulunduğu belirlenmiştir. (Adıgüzel ve ark. 2005).

Riaz ve ark. (1999), fesleğenin (*Ocimum basilicum L.*) farklı bitki büyüme devrelerinde uçucu yağ oranlarını araştırdıkları çalışmalarında; fesleğenin yerel çeşitlerinin farklı bitki büyüme devrelerinde su distilasyonu ile elde ettikleri uçucu yağları GC-MS ile analiz etmişler ve %0.27-0.29 oranlarında uçucu yağ elde etmişlerdir. Bunlarda 22 kadar bileşen tespit etmişler; linalool (%83-87), 1,8-sineol (okaliptol) (%3.2-4.7) ve kafur (%0.4-0.5)'un ön planda yer aldıklarını ve diğer bileşenlerin çok az miktarlarda bulunduğunu belirlemişlerdir.

Özcan ve Calchat (2002), Türkiye'de yetiştirilen iki fesleğen türünde (*Ocimum basilicum L.* ve *O. minimum L.*) uçucu yağlarının kimyasal kompozisyonuna bakmışlardır. Bitkilerin toprak üstü kısımlarının su distilasyonu ile uçucu yağlarını çıkarmışlar ve bileşenlerini GC-MS ile belirlemişlerdir. *O. basilicum*'da uçucu yağın %88.1'ini 49 adet

bileşen ve *O. minimum*'da uçucu yağın %74.4'ünü 41 tane bileşenin kapsadığını tespit etmişlerdir. *O. basilicum*'un uçucu yağının ana bileşenlerini metil ojenol (%78.02),  $\alpha$ -kubeben (%6.17), nerol (%0.83) ve  $\epsilon$ -muurolen (%0.74) oluştururken; *O. minimum*'un yağının ana bileşenlerini geranil asetat (%69.48), terpinen-4-ol (%2.35) ve oktan-3-il-asetat (%0.72) olarak belirlemişlerdir.

Silva ve ark. (2003), Brezilya'da yapılan araştırmada fesleğen cinsine ait olan 3 varyete (*Ocimum basilicum* L., *O. basilicum* var. *minimum* L. ve *O. basilicum* var. *purpuracens* Benth.) yapraklarından elde edilen uçucu yağlarında 36 bileşen bulunduğunu ifade etmişlerdir. Bütün bu varyetelerde 1,8-sineol, estragol, kadinen, muurolol, terpinen-4-ol ve linalol olduğunu açıklamışlardır. Bu bileşenlerin içinde en yüksek olarak metil kavikol (%52.2) bulunmuş ve *O. basilicum*'un minimum varyetesinde ikinci sırada linalol olduğunu belirlemişlerdir. Linalol bileşeninin oranı varyetelerde %16.8-%42.5 arası değişim göstermiştir.

Lee (2005), Fesleğen yaprak ekstraktının majör bileşenleriyle ilgili olan bir çalışmada; linalool % 39,8, estragole % 20,5, methyl cinnamate %12,9, eugenol %9,1 ve 1,8-cineole %2,9 bulunmuştur.

### **2.13.Çalışmada Kullanılan *Zygosaccharomyces rouxii* ve *Aspergillus parasiticus***

Bu tez çalışmasında *Aspergillus parasiticus* un bir suşu (DSM 5771) ve maya olarakta *Zygosaccharomyces rouxii* ATCC 28253 kullanılmıştır. Kullanılan standart küf suşları ve maya Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Mikrobiyoloji Laboratuvarındaki kültür koleksiyonundan alınmıştır.

***Aspergillus parasiticus*:** *Aspergillus*, dünyanın her yerine yayılmış yaklaşık 200 mantar (küf) türünden oluşmuş bir cinstir. Yuvarlak hücrelerden oluşmuş mayalardan farklı olarak, *Aspergillus*lar hif olarak adlandırılan hücre zincirlerinden oluşan iplikli mantar türleridir. Aflatoksinler (AF), *Aspergillus* (A.) cinsi içerisinde yer alan *A. flavus* ve *A. parasiticus* türü küfler tarafından üretilmektedir. *Aspergillus* cinsi küfler, genel olarak mezofilik karakterde olup 6-8 °C'den başlayıp 50-60 °C'ye kadar değişen sıcaklıklarda gelişebilmektedirler. Optimum gelişme sıcaklıkları ise 35-38 °C civarındır. 10 °C'nin altında ve 41-42 °C'nin üzerinde aflatoksin oluşmadığı ifade edilmektedir. *A. parasiticus*'un gelişebilmesi için oransal nemin % 80'den yukarı olması gerekmektedir. Yüksek oransal neme sahip depolar, fungal çürümeyi ve aflatoksin oluşumunu teşvik etmektedir ( Northolt ve Bullerman 1982).

### ***Zygosaccharomyces rouxii*:**

*Zygosaccharomyces rouxii*, hemiascomycetes, osmotolerant gruplarını içeren bir mayadır (De Montigny ve ark. 2000). Haploid hücreleri elips ve oval yapıdadır. 1,8-8 aralığında PH değerine sahiptir (Tokuoka 1993). Az miktarda su içeren, yüksek oranda tuz ve şeker konsantrasyonlarında gıdalarda gelişimini sürdürebilir (Reed ve Nagodawithana 1991). Bu özellikler sayesinde gıda endüstrisinde adından sıkça söz ettiren bir mayadır. Fermante gıdalarda bozulma etmenidir. Her gıdada değişik oluşumda gözlenebilir, örneğin ekmekte beyaz ve krem renge dönüşüm meydana getirirken, balda gaz ve baloncuk oluşumu yapar (Legan ve Voyset 1991). *Zygosaccharomyces rouxii* ultrason ve sıcaklık uygulamalarında ortamda antimikrobiyaller olmadan direnç gösterirler. Ultrason uygulama zamanı ve antimikrobiyal konsantrasyonu arttıkça maya sayısında azalma meydana gelir (Anonim 1999).

#### **2.14.Çalışma Alanı**

Balıkesir ili, Marmara Bölgesi'nin Güney Marmara Bölümü'nde, topraklarının bir kısmı ise Ege Bölgesi'nde yer alan bir il olan Balıkesir'in, hem Marmara hem de Ege Denizi'ne kıyısı bulunur. İl, Kuzeybatı Anadolu'da bulunmaktadır. Yüzölçümü 14.299 km<sup>2</sup> olan Balıkesir'in toprakları 39,20° - 40,30° Kuzey paralelleri ve 26,30° - 28,30° Doğu meridyenleri arasında yer alır. Kuzeybatı Anadolu'da bulunan il, doğuda Bursa ve Kütahya illeri, güneyde Manisa ve İzmir illeri ve batıda Çanakkale ili ile komşudur. İlin kuzey yöndeki en uç noktası güneydekine 175 kilometre, doğu yöndeki en uç noktası batısındakine 210 kilometre uzaklıktadır.

Balıkesir ili yüzey şekilleri bakımından incelenirse, toprakları Marmara kıyısı boyunca uzanan ve güneye doğru sarkan ovalarla kaplıdır. Bu düzlükleri, Ege kıyılarındaki ova şeridinden (Edremit Ovası) Madra Dağı (1339 m) ile Kazdağı (1767 m) ayırır. Doğuda Alaçam Dağı (1615 m), orta kesiminde Çatal Dağı, kuzeyde Kapıdağ Yarımadası yer alır. (Anonim 2014).

#### **2.15. Tezin Amacı**

Bu tez çalışmasının amacı Balıkesir ili sınırları dahilinde farklı lokasyonlarda doğal olarak ve/veya kültür bitkisi olarak yetişen Lamiaceae familyasına ait 2 bitki türünden (*Rosmarinus Officinalis*, *Ocimum basilicum*) elde edilmiş saf uçucu yağların antimikrobiyal ve antioksidan etkilerinin belirlenmesidir. Doğal olarak yetişen ve toplanan bitkilerden elde edilen esansiyel yağlara ek olarak etki miktarlarının karşılaştırılması amacı ile ticari olarak satılan 4 adet biberiye yağı ve 4 adet fesleğen yağı satın alınıp çalışmaya dahil edilmiştir. Bu



nedenle adı geçen bitki türlerinin böyle aktivitelere sahip olduklarının rapor edilmesi orjinal bir araştırma konusu olarak görülebilir.

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Çalışmada Kullanılan Bitkilerin Toplanması ve Kurutulması

Balıkesir'in bazı ilçelerinden (Altıeylül, Ayvalık, Burhaniye, Bigadiç, Erdek, Gömeç, Karesi, Sındırgı) Ekim 2015- Aralık 2015 tarihleri arasında doğal olarak yetişen veya kültüre alınmış biberiye ve fesleğen bitkileri toplanmıştır. Toplama işlemi yapılırken bitkilerin sürdürülebilirlik ilkesine dayalı olarak floraya zarar vermeden yapılmış ve bitkinin kullanacağımız kısımlarının hasar görmemesi için oldukça dikkatli davranılmıştır. Her lokasyondan toplanan bitki örnekleri 200-400 gr arasındadır. Toplanan bitkiler kök kısmındaki toprak kalıntıları temizlendikten sonra düz bir zemine yayılarak uygun koşullarda (oda sıcaklığında ve gölgede) kurumaya bırakılmıştır. Kurutulan bitki materyalleri yapılacak laboratuvar çalışmalarına kadar ağzı klipsli şeffaf poşetlerde muhafaza edilmiştir. Bitki materyallerinin toplandığı yerde GPS yardımı ile yerin enlem ve boylamı ayrıca, altimetre yardımı ile bitkinin toplandığı yerin yüksekliği ölçülmüştür. Çalışmada kullanılan bitkilerin toplandığı lokaliteler aşağıda verilmiştir.

**Çizelge 3.1.** Biberiye numuneleri alınan bölgelere ait bilgiler

Numune Toplanan Bölgeler (BALIKESİR)	Enlem	Boylam	Yükselti (m)	Denizden Uzaklık (km)
1 Ayvalık	39°32'	26°70'	7	2
2 Burhaniye	39°50'	26°94'	10	7
3 Bigadiç	39°39'	28°13'	180	126
4 Erdek	40°41'	27°77'	10	1
5 Gömeç	39°39'	28°17'	14	2
6 Altıeylül	39°64'	27°89'	151	87

**Çizelge 3.2.** Fesleğen numuneleri alınan bölgelere ait bilgiler

Numune	Toplanan Bölgeler	Enlem	Boylam	Yükselti (m)	Denizden Uzaklık (km)
1	Karesi	39°71'	27°98'	139	89
2	Burhaniye	39°49'	26°93'	10	7
3	Bigadiç	39°37'	28°13'	180	126
4	Sındırgı	39°24'	28°17'	230	149
5	Ayvalık	39°33'	26°65'	14	2
6	Altieylül	39°63'	27°87'	151	87



**Şekil 3.1.** Toplanan bitki örneklerinin alındığı ilçeler



**Şekil 3.2.** Toplanan bitki örnekleri

### **3.1.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Alet Ekipmanlar**

Çalışmada kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıkta olup, potato dextrose agar (PDA), metanol, folin-Ciocalteu reaktifi, hegzan, sodyum karbonat, ABTS(2,2-azino-bis-3-etilbenzo-tiyazolin-6sülfonik asit), DPPH(1,1-difenil 2-pikril hidrazil), PBS(Phosphate buffered saline) Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından temin edilmiştir.

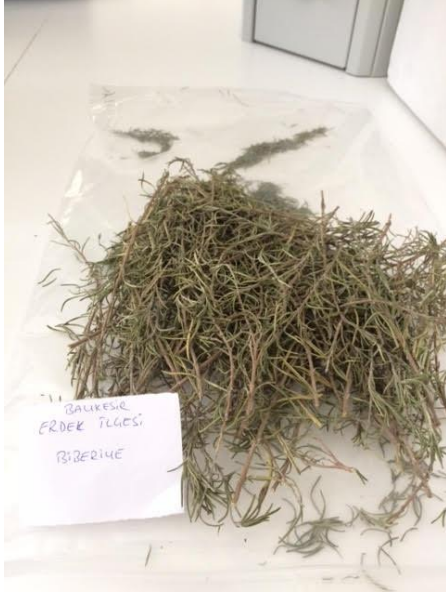
Dragon LAB MX-RD-PRO tipi karıştırıcı, Heltich Üniversal 320R tipi santrifüj, Shimadzu UVmini-1240 tipi spektrofotometre kullanılan başlıca ekipmanlardır.

## **3.2. Yöntem**

### **3.2.1. Bitkisel Materyalin Hidrodistilasyonu**

Kurutulan bitki örnekleri mekanik öğütücü (IKA M20, IKA Werke GmbH, Staufen, Almanya) yardımı ile daha küçük parçalar haline getirildikten sonra bitkisel materyaller 2000 ml kapasiteli cam balona yerleştirilmiş, ardından bitki örneği miktarına oranla saf su ilave edilip bütün bitki örneklerinin su ile temas etmesi açısından balon çalkalanmıştır (Şekil 3.3). Kurutulmuş bitkilere ilave edilen saf su miktarları Çizelge 3.3’de verilmiştir. Balonun yerleştirildiği ısıtıcı mantonun (Isolab, Wertheim, Almanya) sıcaklığı 250°C’ye getirilip yaklaşık 3 saat boyunca su buhari distilasyon yöntemi ile özütlenerek, uçucu yağların toplanması sağlanmıştır. Distilasyon tamamlandıktan sonra Clevenger aparatının özel bölümünde toplanan uçucu yağlar eppendorf tüplerinin içerisine alınmıştır. Elde edilen uçucu yağa karışmış olan su varsa bir müddet bekletildikten sonra tüpün üst yüzeyinde kalan uçucu yağlar pasteur pipet yardımı ile çekilip başka bir eppendorf tüpüne aktarılmış ve saf olarak elde edilmiştir.

Elde edilen uçucu yağlar hava geçirgenliği olmaması açısından içerisinde konulduğu eppendorf tüplerinin ağız kısmı parafilm ile sarılmıştır. *Invitro* ortamda antimikotik etki denemelerinde kullanılmak üzere +4°C’de saklanmıştır.



**Şekil 3.3 a-** Parçalanmış bitki örneği- Clevenger aparatında saf su ile bitki örneği

Toplanan bitki örnekleri tartıldıktan sonra 1 e 5 oranında saf su ile tamamlanarak clevenger su buharı distilasyon düzeneğinde uçucu yağ eldesine başlatılmıştır.

**Çizelge 3.3.** Toplanan Bölgelere Göre Bitki Miktarları ve Kullanılan Saf Su Miktarları

Numune Toplanan Bölgeler (BALIKESİR)	Biberiye Bitkisi	Biberiye Çalışmasında Kullanılan Saf Su Miktarı (mL)	Fesleğen Bitkisi	Fesleğen Çalışmasında Kullanılan Saf Su Miktarı (mL)
	Miktarı (gr)		Miktarı (gr)	
Altıeylül	31,92	160	38,72	195
Ayvalık	270	1350	200	1000
Bigadiç	150	750	200	1000
Burhaniye	200	1000	165,28	850
Erdek	205,77	1050	-	-
Gömeç	22,92	115	-	-
Karesi	-	-	200	1000
Sındırgı	-	-	100	500



**Şekil 3.4.** Clevenger Su Buharı Distilasyonu Düzenegi

Clevenger aparatında 3 ana kısım bulunmaktadır:

- Drog + su konan distilasyon balonu ve mantolu ısıtıcı
- Su buharı ve buharlaşan uçucu yağın yoğunlaşmasını sağlayan soğutucu ve
- Yoğunlaşan uçucu yağın miktarını da gösteren dereceli toplama büreti.

### **3.2.3. Besi Yerinin Hazırlanması**

39 g PDA 1000 mL safsu ile erlenmeyer içerisinde karıştırılmıştır. Daha sonra berrak bir görünüm elde edilinceye kadar manyetik karıştırıcılı ısıtıcıda kaynatılmıştır. Elde edilen PDA standart deney tüplerine aktarılıp, kalan PDA ve 15 adet tüp otoklava alınmıştır. Otoklav sonrası %10'luk steriltartarik asit çözeltisinden 14mL/L olacak şekilde tüm besiyerlerine eklenerek asitlendirme yapıp (Halkman ve Sağdaş 2014), otoklav sonrasında yatık agar hazırlanmıştır (Şekil 3.5).



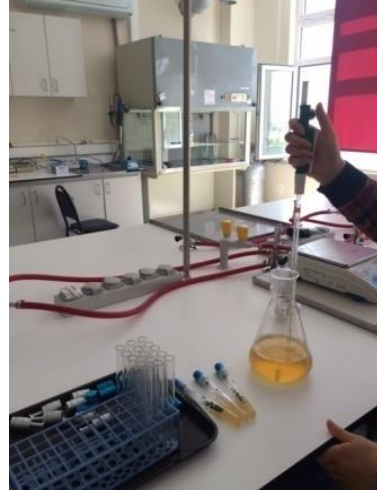
**Şekil 3.5.** Yatık agar besi yeri hazırlanması

Otoklavdan(sterilizasyon) çıkan kalan PDA, 40 adet petri kabına kalınlıkları 15-18 mm arasında olacak şekilde döküldü. Besiyeri döküldükten sonra petri kutuları yatay bir zeminde soğumaya ve katılaşmaya bırakılmıştır (Şekil 3.6).



**Şekil 3.6.** Besi yerinin hazırlanması ve dökülmesi

Namık Kemal Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarından elde edilen *Aspergillus parasiticus* küfve *Zygosaccharomyces rouxi* mayaya örneğini öze yardımı ile alarak steril ortamda bek alevinin yanında yatık agar olarak hazırladığımız besi yerlerinin yüzeyine yayılmış (Şekil 3.7) ve 28 °C etüvde 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır.



Şekil 3.7. Yatık ağara *A. parasiticus* ve *Z. rouxii* şusunun yayılması

### 3.2.4. Aromatik bitkilerin in vitro ortamda antimikotik etki kapasitesi ölçümü

Tez kapsamında kullanılan ticari fesleğen yağları T1, T2, T3 ve T4 olarak, ticari biberiye yağları ise T5, T6, T7, T8 olarak kodlanmıştır. Laboratuvar üretimi esansiyel yağların kodları Çizelge 3.4’de verilmiştir.



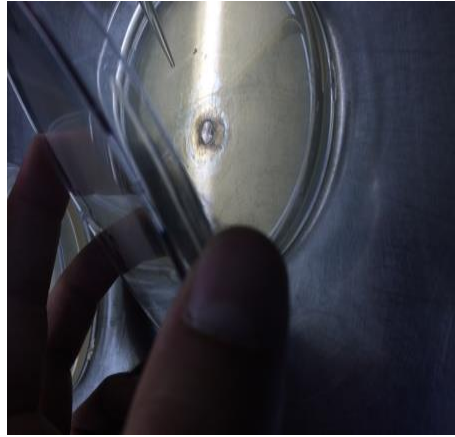
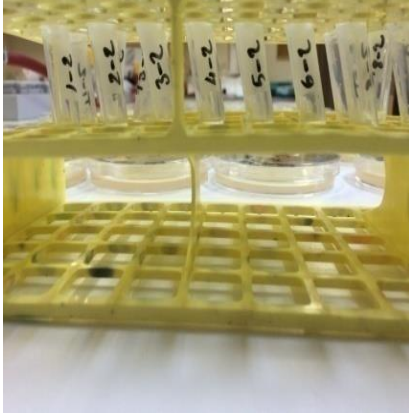
**Çizelge 3.4.** Laboratuvarda üretilen esansiyel yağların kodları

<b>Bitki Materyal Türü</b>	<b>Numaralandırma</b>	<b>Toplanan İlçe</b>
Biberiye	1	Burhaniye
Fesleğen	2	Burhaniye
Biberiye	3	Ayvalık
Fesleğen	4	Ayvalık
Biberiye	5	Bigadiç
Fesleğen	6	Bigadiç
Fesleğen	8	Sındırgı
Biberiye	9	Gömeç
Fesleğen	14	Karesi
Biberiye	17	Erdek
Biberiye	19	Altieylül
Fesleğen	20	Altieylül

Antimikotik etkinin belirlenmesinde Güner (2014) tarafından Braga ve ark. (2007)'den modifiye edilerek kullanılan yöntem kullanılmıştır. Petri kaplarına yaklaşık 15-20 mL olacak şekilde aseptik koşullarda dökülüp hazırlanan PDA besiyerlerinin sertleşmesini ve oda sıcaklığına soğumasını takiben daha önceden hazırlanan maya ve küf süspansiyonlarından 0,1 mL mikropipet yardımı ile alınarak PDA besiyeri üzerine yüzeye yayma yoluyla ekim yapılmıştır. Besiyerinin inokulumu tamamen emmesi için yaklaşık 1 saat beklendikten sonra, steril pipet ucu ile besiyeri üzerinde 5 mm çapında bir çukur açılmış, iç kısımda kalan besiyeri parçası çıkarılmayarak petri içerisinde bırakılmıştır (Şekil 3.8). Sonrasında bu 5 mm çaplı izin merkezine, daha önce hazırlanan uçucu yağ-metanol karışımları ve ticari uçucu yağlar 20 µL mikropipet yardımıyla boşaltılmıştır. Boşaltılan tüm sıvı, öncelikle çember şeklindeki ize dolup sonrasında besiyeri üzerinde yayıldığı için dökülme noktası merkezli tam bir daire oluşturacak şekilde yayılım göstermiştir. Hem mikroorganizma süspansiyonu içeren hem de uçucu yağ-metanol karışımı içeren tüpler aktarım öncesi vortekslenerek homojenite sağlanmıştır. Uygulamaların hepsi kontrollü ve aseptik koşullar altında yapılmıştır.

Belirtilen şekilde hazırlanan tüm petriler 26,5°C sıcaklıktaki inkübatörde 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda besiyeri yüzeyinde mikrobiyal

gelişmenin olmadığı dairesel alanın çapı dijital kumpas yardımıyla ölçülerek kaydedilmiştir (Şekil 3.9). Bu ölçüm direkt olarak inhibisyon zonu çapı olarak değerlendirilmiştir. Antimikotik etkinin ölçülmesi için yapılan tüm in vitro analizler 2 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.



**Şekil 3.8.** Besiyeri üzerinde pipet ucu arkası ile çukur iz oluşturulması

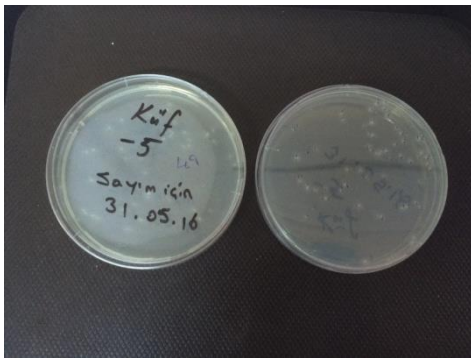
Çizelge 3.4'e göre Saf olarak kullanılıp işlem yapılanlar (1) numara ile, metanol ile seyreltilip işlem yapılanlar ise (2) numara ile ticari olarak alınan ve Clevenger yöntemi ile elde ettiğimiz uçucu yağ örneklerinin isimlerinin son kısmına eklenerek gösterilmiştir.



Şekil 3.9. Örnek bir inhibisyon zonu ve dijital kumpas yardımı ile ölçüm işlemi

### 3.2.4. Küf – Maya Sayımı

Hazırlanan petri kaplarının inkübatörde 48 saat inkübasyona bırakılmasından sonra ilk gözlem sayımı yapılmıştır. Ertesi gün kontrol sayımı yapılarak sayma işlemi tamamlanmıştır (Şekil 3.10).



Şekil 3.10. *A. parasiticus* ve *Z. rouxii* ekiminden 48 saat sonra sayım

### 3.2.5. Toplam Fenolik Bileşen İçeriği ve Toplam Antioksidan Kapasite Tayinleri

Araştırmada uçucu yağların toplam antioksidan kapasite değerleri, veri çeşitliliği olması ve verilerin önceki dönemlerde yapılan benzer araştırmalarla karşılaştırmasında kolaylık sağlanması için, antioksidan kapasite ölçüm işleminde yaygın olarak kullanılan iki yöntem ile tespit edilmiştir. Bu kapsamda, hem ABTS<sup>+</sup> radikal katyonu tarafından tutulan antioksidan madde miktarı analizi hem de DPPH radikal temizleme aktivitesi metotları kullanılmıştır.

### 3.2.5.1. Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi

Çalışılan biberiye ve fesleğen bitkilerinin fenolik madde miktarlarının analizi Singleton and Rossi (1965) tarafından tanımlanmış bulunan Folin-Ciocalteu yöntemine göre yapılmıştır. Bu yöntemin ilkesi, fenolik bileşiklerin alkali ortamda Folin-Ciocalteu ayırıcını indirgeyip, kendilerinin oksitlenmiş forma dönüştüğü bir redoks reaksiyonuna dayanmaktadır. Spektrofotometrede okumalar 750-765 nm dalga boyunda yapılmıştır. Ekstraktların absorbansındaki artış fenolik madde miktarı ile orantılıdır (Lussignoli ve ark. 1999). FCR yöntemi, gıdaların ve bitkisel ekstraktların antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde basit, tekrarlanabilir ve güvenilir bir yöntemdir. FCR ayırıcı ticari olarak satılmaktadır (Albayrak 2010).

Tayin yöntemine başlamadan önce ekstraksiyon hazırlaması yapılmıştır. Ticari olarak alınan ve toplanan bitki örneklerinden hazırlanan ekstraktların miktarları aşağıda çizelgede verilmiştir. Ekstrakt hazırlamada kullanılmak üzere clevenger yöntemi ile elde ettiğimiz esansiyel yağlar ve ticari olarak aldığımız esansiyel yağlar için Hegzan( $C_6H_{14}$ ) ve %60 Metanol( $CH_3OH$ ) esansiyel yağ miktarına göre oranlanarak kullanılmıştır.

Çizelgede hazırlanan yağlar çalışmanın kolaylığı açısından biberiye ve fesleğen olmak üzere iki gruba ayrılmıştır.

Buna göre;

Biberiye:1-3-5-9-17-T5-T6-T7-T8

Fesleğen:2-4-6-14-20-T1-T2-T3-T4 şeklinde gruplandırılmıştır.

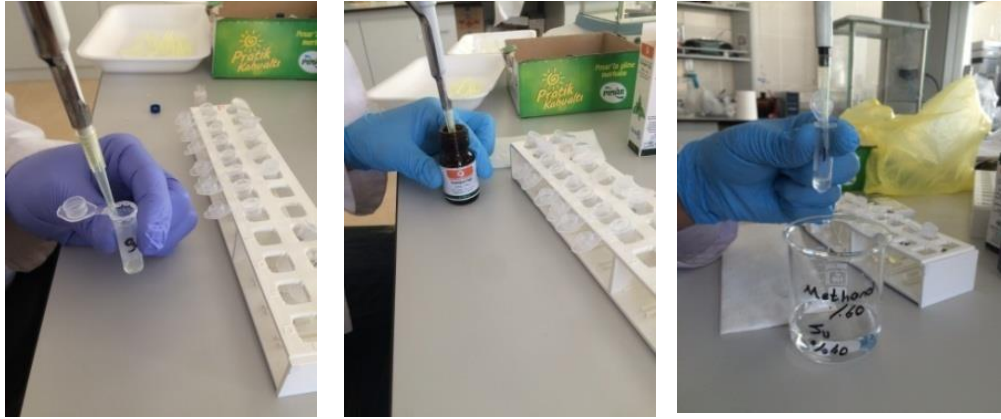
**Çizelge 3.5.** Toplanan bitki materyallerinden elde edilen saf yağların kullanılan miktarları

<b>SAF YAĞLAR</b>	<b>EKSTRAKT(μL)</b>
1.BURHANIYE - BİBERİYE	125
2.BURHANIYE - FESLEĞEN	250
3.AYVALIK - BİBERİYE	250
4.AYVALIK - FESLEĞEN	250
5.BİGADIÇ - BİBERİYE	125
6.BİGADIÇ - FESLEĞEN	125
9.GÖMEÇ - BİBERİYE	125
14.KARESİ - FESLEĞEN	250
17.ERDEK - BİBERİYE	125
20.ALTIEYLÜL - FESLEĞEN	250

**Çizelge 3.6.** Ticari olarak alınan yağların kullanılan miktarları

<b>TİCARİ YAĞLAR</b>	<b>EKSTRAKT(μL)</b>
T1- TİCARİ 1 FESLEĞEN YAĞI	250
T2- TİCARİ 2 FESLEĞEN YAĞI	250
T3- TİCARİ 3 FESLEĞEN YAĞI	250
T4- TİCARİ 4 FESLEĞEN YAĞI	250
T5- TİCARİ 5 BİBERİYE YAĞI	250
T6- TİCARİ 6 BİBERİYE YAĞI	250
T7- TİCARİ 7 BİBERİYE YAĞI	250
T8- TİCARİ 8 BİBERİYE YAĞI	250

Fenolik madde analizi için ekstaksiyonlar homojenize edilerek 2 mL'lik eppendorf tüpü içerisinde hazırlanmıştır. Hazırlanan eppendorf tüpleri falkon tüplerinin içerisinde yerleştirilerek Dragon Mx-Rd-Pro tipi karıştırıcıda 1000°C da 1 saat boyunca karıştırılarak bekletilmiştir. Karıştırma işlemi tamamlandıktan sonra tüpler Heltich Üniversal 320R tipi makine ile 3500 rpm de 10 dakika sanrifüj yapılmıştır.

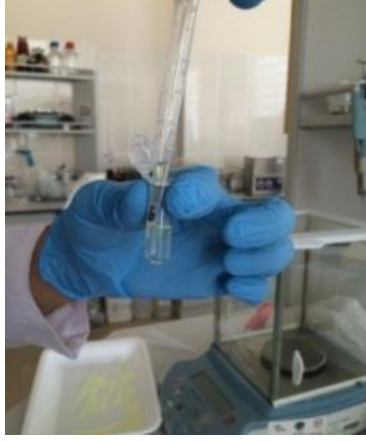


Şekil 3.11. Fenolik ve antioksidan analizi için hazırlanan ekstraktlar



Şekil 3.12. Santrifüj işlemine hazırlanmış falkon tüpü içerisindeki ekstraktlar

Yağ ve hegzan karışımı üst faz (süpernatant) kısmı 1,5 mL'lik eppendorflara aktararak saklanmıştır. Alt faz ise antioksidan ve fenolik analiz için ayrılmıştır.



**Şekil 3.13.** Eppendorf tüplerindeki süpernatant ve alt faz görünümü

**Çizelge 3.7.** Fenolik madde analizi için kullanılan malzemeler ve miktarları

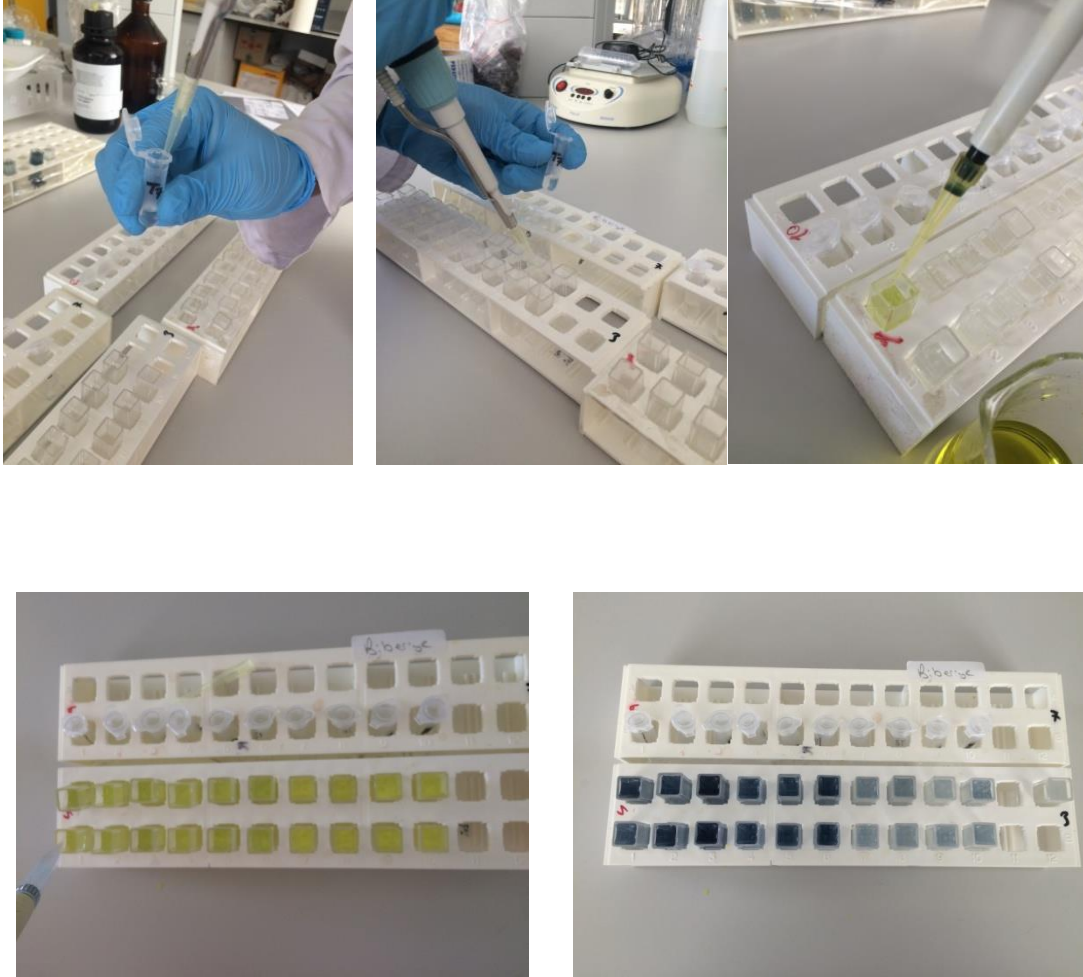
Fenolik Karışım	Ekstrakt( $\mu\text{L}$ )	Saf Su(mL)	Folin( $\mu\text{L}$ )	%20 Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> ( $\mu\text{L}$ )
Saf Biberiye Yağı	40	3,16	200	600
Ticari Biberiye Yağı	40	3,16	200	600
Saf Fesleğen Yağı	20	3,18	200	600
Ticari Fesleğen Yağı	80	3,12	200	600

Daha önce hazırlanmış olan farklı ilçelerden toplanan biberiye bitkilerinin ekstraktlarından 40  $\mu\text{L}$  alınarak spektro küvetine konulmuştur. Ekstraktın üzerine önce 3,16 mL saf su, 200  $\mu\text{L}$  Folin-Ciocalteu's phenol reagent, 600  $\mu\text{L}$  %20'lik Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(Sodyum karbonat) konularak vorteks yardımı ile karıştırıldıktan sonra karışımın çok açık mavi yada çok koyu mavi olması istenmediğinden karışımın iyi sonuç verebilmesi için gözlem yapılmış ve karışım 2 saat boyunca bekletilmiştir.

Yine daha önceden hazırlanmış olan fesleğen bitkilerinden elde edilen saf yağlar yoğun olduğu için kimyasalların eklemesinden sonra renkte açılma görülmediğinden veya rengin fazla açılmasından dolayı ekstrakt miktarında saf yağlarda  $\frac{1}{2}$  oranında oranında azalma, ticarilerde ise 2 kat arttırmaya gidilerek renk yoğunluğu ayarlanmıştır. Daha önce farklı ilçelerden toplanan fesleğen bitkilerinden elde edilen saf ekstraktlardan 20  $\mu\text{L}$  yağ ekstraktı alınmıştır.

Üzerine 3,18 mL saf su, 200 µL Folin-Ciocalteu's phenol reagent, 600 µL %20 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (Sodyum karbonat) konuldu ve karışım 2 saat boyunca bekletilmiştir.

Ticari olarak satın alınan ekstraktlarda ise, 80 µL yağ ekstraktı alındı. Üzerine 3,12 mL saf su, 200 µL Folin-Ciocalteu's phenol reagent, 600 µL %20 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (Sodyum karbonat) konuldu ve İki tekerrürlü olarak hazırlanan 2 saat boyunca bekletilen karışımlar 2 saat sonra Shimadzu UVmini-1240 tipi spektrofotometrede 765 nm'de absorbans ölçümleri yapılmıştır. Standart kalibrasyon eğrisi katekol kullanılarak hazırlandı. Sonuçlar, bu kalibrasyon grafiği yardımıyla hesaplanmıştır (Turan 2005). Biberiye ve fesleğen yağları için fenolik madde analizinden elde edilen sonuçlar bulgular kısmında değerlendirilmiştir.



Şekil 3.14. Folin-Ciocalteu's yöntemi için materyallerin hazırlanması





Şekil 3.15. Shimadzu Uvmini-1240 tipi spektrofotometre

### 3.2.5.2. DPPH Süpürücü Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemi

Bu yöntem ilk kez Blois (1958) tarafından 1,1-difenil-2-pikril hidrazil (DPPH) radikallerinin antioksidan moleküllerin tayininde kullanılabileceğinin önerilmesi ile ortaya çıkmıştır. Antioksidan aktivite ölçümlerinin yoğunlaştığı yıllarda Brand-Williams ve arkadaşları (Brand Williams ve ark. 1995) yöntemi geliştirmiş ve bu yöntem pek çok araştırmacı tarafından referans olarak kullanılmıştır.

Yöntemin esası DPPH içeren çözelti ile hidrojen atomu verme eğilimi olan bir molekülün (antioksidan) çözeltisinin karıştırılması sonucu DPPH radikalinin indirgenmesine ve çözeltinin başlangıçta mor olan renginin kaybolmasına dayanır. Mor renkli çözeltinin 520 nm civarındaki absorbansının azalması ölçülerek reaksiyon takip edilir. Antioksidan aktivite başlangıçtaki DPPH derişiminin % 50'sinin azalması için harcanan antioksidan miktarını ifade eden IC50 (etkin konsantrasyon) değeri ile verilir (Brand Williams ve ark. 1995).

Spekto küvetinin içerisine 25, 50, 75 er mL'lik ekstrakt konularak üç ayrı paralel hazırlanmıştır. Üzerlerine çeker ocakta 1950 mL DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) radikali eklendi ve vorteks ile karıştırılmıştır. 30 dakika karanlık ortamda bekletilmiştir. Daha sonra 517 nm'de absorbanslar okunmuştur. Kontrol için; 50 µL metanol (CH<sub>3</sub>OH), üzerine 1950 mL DPPH konulmuştur. Ölçüm yapılmadan önce spektrofotometre metanol ile sıfırlanmıştır. Fenolik ekstreden elde edilen biberiye ekstraktı antioksidan analizinde aynı şekilde kullanılırken, fesleğen ekstraktı ise saf yağlarda 10 kat metanol ile seyreltilmiştir. Ticari fesleğen yağları ise fenolikte olduğu gibi aynı şekilde kullanılmıştır.

İşlemler 3 tekrarlı (n=3) yapılmıştır. Yüzde inhibisyon (DPPH Radikal Süpürücü Aktivite) aşağıdaki formülden hesaplanmıştır:

$$\% \text{İnhibisyon} = [KA - \text{ÖA} / KA] \times 100$$

KA: Kontrolün absorbansı

ÖA: Örneğin absorbansı

Farklı derişimlerle ölçülen absorbanslarla grafik çizilip  $y = ax + b$  denkleminde DPPH derişimini yarıya düşüren örnek miktarı  $\mu\text{g/mL}$  cinsinden bulundu ve IC50 değerleri hesaplanmıştır.



**Şekil 3.16.** Spektro küvetinin içerisine ekstrakt konularak üç ayrı paralel hazırlanması

### 3.2.5.3. TEAC (Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasite) Yöntemi

TEAC yöntemi ilk olarak Miller ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir (Miller ve ark. 1993). Kromojenik bir redoks radikali olan ABTS [2,2'-azinobis(3- etilbenzotiyazolin 6-sülfonat)] (Şekil 1.11) aynı zamanda kararlı bir radikaldir. Hem suda hem organik çözücülerde çözüldüğünden hem hidrofilik hem de hidrofobik antioksidan aktivite tayininde kullanılabilir. TEAC yöntemi, antioksidan varlığında çözeltideki  $\text{ABTS}^+$  radikalinin absorbansındaki azalmanın ölçülmesine dayanmaktadır. Orijinal yöntemde  $\text{ABTS}^+$  radikal katyonu,  $\text{H}_2\text{O}_2$  ile metilmiyoglobinin reaksiyona girmesiyle oluşan ferrilmiyoglobin ile ABTS arasındaki etkileşimden oluşmaktadır.  $\text{ABTS}^+$  radikal katyonunun karakteristik absorpsiyon spektrumu 660, 734, 820 nm'de maksimum vermektedir (Rice-Evans ve Miller

1984,Pellegrini ve ark. 1999). Orijinal TEAC yönteminde analiz edilen maddenin (antioksidanın) ABTS radikalini indirgeme yeteneği ölçülmektedir. Ancak bu madde ferrilmiyoglobini de indirgeyebilir.

#### **3.2.5.3.1. ABTS [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)]Hazırlanışı**

Antioksidan aktivite tayini analizlerinde öncelikle 2.45 mM potasyum persülfat içeren 7 mM'lık ABTS çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözelti, 20<sup>0</sup>C'ye ayarlı bir inkübatörde 12–16 saat arasında bekletilerek, ABTS+ radikalinin oluşması sağlanmıştır.7mM(milimolar) ABTS stok çözeltisini hazırlamak için 0,0384 gr ABTS tartılır. 2 mL potasyum persülfat (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) eklenir ve saf suyla 10 mL tamamlanmıştır.

#### **3.2.5.3.2 PBS(Phosphate-buffered saline)Hazırlanışı**

ABTS haricinde radikal çözeltisinin, örneklerin ve troloks standardının seyreltilmesinde kullanılacak olan PBS (phosphate buffer saline) çözeltisi hazırlanmalıdır. Bu amaçla, 1,56 gr monobazik sodyum fosfat (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)tartılır ve 50 mL'ye, 2,83 gr dibazik sodyum fosfat (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) 100 ml'ye tamamlanır. 19 ml monobazik, 81 mL dibazik sodyum fosfat karıştırılır. Üzerine 8,77 gr NaCl eklenir. Elde edilen karışım 1 litreye saf su ile tamamlanmış ve böylece pH'sı 7.4 olan PBS çözeltisi elde edilmiştir.

#### **3.2.5.3.3 TEAC Yönteminin Hazırlanışı**

Örneklerin absorbans değerleri, örnek ve şahidin (PBS) aynı anda konulabildiği çift huzmeli (double beam) spektrofotometre kullanılarak belirlenmiştir. Bu yönteminin yapılışının ayrıntıları (Kırca ve Özkan (2007) tarafından verilmiştir. Küvetlerin bulunduğu bölümün sıcaklığı sirkülasyonlu su banyosu ile 30<sup>0</sup>C'de sabit tutulmuştur. Stok çözeltiden her 100 mL için 1 mL civarı ABTS<sup>+</sup> radikali kullanılır yani Analize başlamadan önce ABTS<sup>+</sup>radikal çözeltisinden 1 mL alınarak 734 nm'de absorbans değeri 0.700±0.02 olacak şekilde yaklaşık 90–100 mL PBS ile seyreltilmiştir.

ABTS seyreltiğinin ölçümleri 734 nm'de 1.5 mL hacimde 1 cm ışık yolu uzunluğunda tek kullanımlık mikro küvetlerde yapılmıştır. Elde edilen ABTS seyreltiğinin 734nm'de 700 civarı değer vermesi beklenir. Bu alınan değer ise kontrol olarak kaydedilir. İstenilen değerler 700-718 nm arasında istenir. Eğer yüksek çıkarsa PBS, düşük çıkarsa ABTS eklenir.

Seyreltilmiş ABTS<sup>+</sup>radikal çözeltisinden 1 mL mikro küvete alınmış, PBS çözeltisine karşı okuma yapmak üzere spektrofotometreye yerleştirilmiş ve başlangıç absorbans değeri belirlenmiştir. Daha sonra küvet içeriği 1 mL olacak şekilde, mikro küvete eklenen 990 µL radikal çözeltisi üzerine örnekten 10 µL eklenir eklenmez kronometre çalıştırılmıştır. 6 dakika

boyunca, her bir dakikada absorbans ölçümü yapılarak sonuçlar kaydedilmiştir. Ticari olarak temin edilen biberiye ve fesleğen yağ örneklerinden fenolik madde analizi için alınan örnek ekstakt değerinin aynı değeri alınırken, biberiye bitkisinde 17 numara hariç saf ekstraktlarda 5 kat, fesleğen bitkisinde ise 6 numara hariç 20 kat PBS ile seyreltilmiştir. 6. Dakikanın sonunda saptanmış olan absorbans değeri esas alınarak, başlangıç değerine göre yüzde azalma oranı (inhibisyon oranı) aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır.

$$\text{İnhibisyon oranı (\%)} = (BAD - SAD) / BAD$$

BAD: Başlangıç Absorbans Değeri

SAD: Son Absorbans Değeri

10 µL örnek alınarak yapılan bu işlemler en az 3 kez tekrarlanmış ve inhibisyon oranları hesaplanarak bunların ortalaması alınmıştır. Daha sonra, örnek hacmi değiştirilerek 20, 30 µL hacimlerde aynı işlemler tekrarlanmıştır. Her defasında küvet içeriği 1 mL olacak şekilde farklı miktarlarda ABTS<sup>+</sup> radikal çözeltisi eklenmiştir. 6 dakika bekletilmiştir. Ölçüm yapılmadan önce spektrofotometre PBS ile sıfırlanmış ve ölçümler spektrofotometre cihazı ile yapılmıştır. Elde edilen ortalama yüzde inhibisyon değerleri örnek hacimlerine (10, 20, 30 µL) karşı bir grafiğe aktarılmış ve bu verilere doğrusal regresyon analizi uygulanarak örneğe ilişkin eğriye ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır.

### 3.2.6. İstatistik

Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmeleri SPSS 18.0 paket programında yapılmıştır. Verilere varyans analizi uygulanıp, birbiri ile karşılaştırılmaları bitkilerin birbirleriyle karşılaştırılmalarında % 5 güven aralığında (p < 0.05) belirlenmiştir. Varyasyon kaynaklarının ortalamalarının karşılaştırılmasında Duncan's Çoklu Karşılaştırma Testi uygulanmıştır.

#### 4.ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

##### 4.1. Uçucu yağların antimikotik etkileri

Biberiye ve fesleğen bitkilerinde sırasıyla ortalama 1,5 mL/100 g, 1mL/100 g oranlarında verimlerle uçucu yağ eldesi gerçekleştirilmiştir. Biberiye ve fesleğen bitkilerinden elde edilen uçucu yağların ve ticari biberiye ve fesleğen yağlarının *A. parasiticus* ve *Z. rouxii* üzerindeki antimikotik aktivite tayinleri agar difüzyon yöntemiyle belirlenmiştir.

##### 4.1.1. Uçucu yağların *Z. rouxii* üzerindeki antimikotik etkisi

İnkübasyon sonrası PDA besiyeri merkezinde oluşan zonların ölçüm sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

**Çizelge 4.1.** Uçucu yağların *Zygosaccharomyces rouxii* ATCC 28253 üzerine antimikotik etkisi

Uçucu yağ kodu	İnhibisyon çapı (mm)*
T1	-
T2	14,87±0,17 <sup>e</sup>
T3	12,49±1,75 <sup>e</sup>
T4	-
T5	-
T6	-
T7	11,59±0,95 <sup>e</sup>
T8	51,96±6,21 <sup>b</sup>
1	16,76±2,21 <sup>d,e</sup>
2	-
3	-
4	23,32±0,08 <sup>d</sup>
5	-
6	35,96±1,52 <sup>c</sup>
8	-
9	15,06±1,23 <sup>e</sup>
14	-
17	13,15±0,13 <sup>e</sup>
20	67,30±1,55 <sup>a</sup>

\*Elde edilen sonuçlar ortalama değer ± standart hata olarak verilmiştir. Farklı üst indis harflerle gösterilen değerler istatistik olarak birbirinden farklıdır ( $P < 0,05$ ).

Çizelge 4.1 incelendiğinde *Zygosaccharomyces rouxii* ATCC 28253 üzerinde en yüksek antimikotik etkiye sahip ticari uçucu yağın T8 kodlu biberiye yağı olduğu görülmektedir ( $P < 0,05$ ). T7 kodlu diğer biberiye yağı en düşük antimikotik etkiye sahipken ( $P < 0,05$ ), T5 ve T6 kodlu ticari biberiye yağlarında herhangi bir inhibisyon etkisi gözlenmemiştir. Ticari fesleğen yağlarına ait sonuçlara bakıldığında ise T2 ve T3 kodlu örneklerin tüm örnekler içinde en düşük antimikotik etkiye sahip olduğu ( $P < 0,05$ ), diğer taraftan T1 ve T4 kodlu ticari fesleğen yağlarının herhangi bir inhibisyon zonu oluşturmadığı tespit edilmiştir. Laboratuvar ortamında üretimi yapılan uçucu yağlar açısından da önemli antimikotik etki farklılıkları gözlenmiştir ( $P < 0,05$ ). 4, 6 ve 20 kodlu fesleğen yağlarının diğer örneklerden daha yüksek etki gösterdiği, özellikle Altıeylül ilçesinden elde edilen fesleğen örneklerine ait uçucu yağın (20 kodlu) tüm örnekler içerisinde maya üzerine antimikotik etkisinin en yüksek olduğu görülmüştür ( $P < 0,05$ ). Laboratuvar ortamında üretimi yapılan uçucu yağların *Z. rouxii* üzerindeki antimikotik etkisi bileşimlerinde bulunan etken maddelere bağlıdır. Uçucu yağların etken madde bileşimlerindeki farklılıkların da bitkinin yetiştiği bölgeye bağlı çevresel faktörlerden etkilendiği bilinmektedir (Akgül, 1989). Fesleğen uçucu yağının mayalar üzerindeki etkisinin incelendiği bir çalışmada Avetisyan ve ark. (2017) tarafından, *Debaryomyces hansenii* ve *Candida guilliermondii* üzerinde fesleğen yağının önemli antimikotik etki gösterdiği belirtilmiştir. Vieira ve ark. (2014) tarafından yapılan bir başka çalışmada linalool açısından zengin fesleğen yağlarının *Candida* cinsi mayalar üzerindeki inhibisyon etkisi incelenmiş ve oldukça yüksek seviyede etkili olduğu tespit edilmiştir. Çalışma kapsamında laboratuvar ortamında esansiyel yağ üretimi yapılan fesleğen örneklerinden Altıeylül ve Bigadiç ilçeleri kaynaklı olanlarda (6 ve 20 nolu örnekler) yüksek antifungal etki gözlenmesi, bu ilçelerin yükselti ve denize uzaklık bakımından diğer ilçelerden (Sındırgı hariç) farklılaşması ile bağlantılı olabilir (Çizelge 3.2). Daha yüksek ve denizden uzak lokasyonların çevresel etkilerden daha az etkileneceği, daha soğuk bir iklime sahip olacağı ve bu sebeplerle bitkilerin yapısındaki etken madde miktar ve çeşitlerinin değişiklik gösterebileceği düşünülebilir. Bu çalışma kapsamında, bu değişim, bitkilere ait esansiyel yağların maya üzerindeki inhibisyon etkisini arttırmış gözükmektedir. Örnekler arasında 9 ve 17 kodlu biberiye esansiyel yağlarının Gömeç ve Erdek ilçelerinden elde edildiği ve bu ilçelerin deniz kenarında bulunan ilçeler olduğu bilinmektedir (Çizelge 3.1). Biberiye uçucu yağının, kekik, adaçayı, okaliptüs ve rezene uçucu yağları ile beraber farklı funguslar üzerindeki antifungal etkisinin incelendiği bir çalışmada, en düşük etkiye sahip yağın biberiye uçucu yağı olduğu bildirilmiştir (Yılmaz ve ark. 2016). Carvalhinho ve ark. (2012) tarafından 40 farklı *Candida albicans* suşu üzerinde farklı uçucu yağların inhibisyon etkisinin

araştırıldığı bir çalışmada ise biberiye uçucu yağının antimikotik etkisi, tarçın, defne, nane ve okaliptüs uçucu yağlarından düşük, limon, ladin reçinesi ve mandalina uçucu yağlarından yüksek bulunmuştur. Literatür çalışmaları biberiye uçucu yağının farklı bitkilere ait uçucu yağlara göre mayalar üzerinde daha düşük inhibitör etki gösterdiğini bildirmesine karşın bu tezde elde edilen bulguların beklenenden de düşük olduğu kabul edilmektedir. Bu tez çalışması kapsamında *Z. rouxii* üzerine laboratuvarda üretilen biberiye uçucu yağı örneklerinin düşük etki göstermesinin sebepleri, bitkilerin temin edildiği coğrafi bölge kaynaklı dış etkenlerin uçucu yağ bileşimindeki etken maddelerin konsantrasyonlarını olumsuz etkilemesi olabilir.

#### **4.1.2. Uçucu yağların *A. parasiticus* üzerindeki antimikotik etkisi**

İlgili bölümlerde belirtildiği gibi *A. parasiticus* üzerinde uçucu yağların antimikotik etkisi belirlenirken yağlar hem saf halde hem de metanol ile seyreltilmiş halde kullanılmıştır. Saf halde kullanılan ticari yağlar ve laboratuvar ortamında üretilen yağların besiyerine ilavesinin ardından inkübasyon sonrası PDA besiyeri merkezinde oluşan zonların ölçüm sonuçları Çizelge 4.2’de verilmiştir.

**Çizelge 4.2.** Saf uçucu yağların *Aspergillus parasiticus* DSM 5771küf suşu üzerine antimikotik etkisi

Uçucu yağ kodu	İnhibisyon çapı (mm)
<b>T1</b>	30,44±0,05 <sup>e,f</sup>
<b>T2</b>	21,60±3,20 <sup>f,g</sup>
<b>T3</b>	24,76±0,54 <sup>f,g</sup>
<b>T4</b>	8,63±0,78 <sup>h</sup>
<b>T5</b>	8,34±0,04 <sup>h</sup>
<b>T6</b>	14,49±0,34 <sup>g,h</sup>
<b>T7</b>	15,60±4,20 <sup>g,h</sup>
<b>T8</b>	45,60±0,70 <sup>c,d</sup>
<b>1</b>	59,42±3,00 <sup>a,b</sup>
<b>2</b>	65,22±1,72 <sup>a</sup>
<b>3</b>	66,26±1,27 <sup>a</sup>
<b>4</b>	67,13±0,40 <sup>a</sup>
<b>5</b>	58,02±2,00 <sup>a,b</sup>
<b>6</b>	43,97±10,51 <sup>c,d</sup>
<b>8</b>	68,83±0,30 <sup>a</sup>
<b>9</b>	52,69±2,92 <sup>b,c</sup>
<b>14</b>	46,67±2,17 <sup>c</sup>
<b>17</b>	35,62±4,09 <sup>d,e</sup>
<b>20</b>	42,61±5,25 <sup>c,d</sup>

\*Elde edilen sonuçlar ortalama değer ± standart hata olarak verilmiştir. Farklı üst indis harflerle gösterilen değerler istatistiki olarak birbirinden farklıdır ( $P < 0,05$ ).

Metanol-uçucu yağ karışımı kullanılarak gerçekleştirilen denemeler sonucunda PDA besiyerinde ölçülen inhibisyon çapı sonuçları Çizelge 4.3’de verilmiştir.



**Çizelge 4.3.** Metanol-uçucu yağ karışımının *Aspergillus parasiticus* DSM 5771 küf suşu üzerine antimikotik etkisi

Uçucu yağ kodu	İnhibisyon çapı (mm)
<b>T1</b>	19,33±3,57 <sup>g,h,i</sup>
<b>T2</b>	15,29±0,21 <sup>h,i</sup>
<b>T3</b>	16,19±1,35 <sup>h,i</sup>
<b>T4</b>	14,19±2,65 <sup>h,i</sup>
<b>T5</b>	10,35±1,84 <sup>i</sup>
<b>T6</b>	27,32±1,77 <sup>g</sup>
<b>T7</b>	10,97±0,40 <sup>i</sup>
<b>T8</b>	38,88±0,61 <sup>e,f</sup>
<b>1</b>	41,24±9,64 <sup>d,e,f</sup>
<b>2</b>	55,65±2,68 <sup>a,b,c</sup>
<b>3</b>	61,70±1,12 <sup>a</sup>
<b>4</b>	49,26±2,43 <sup>b,c,d,e</sup>
<b>5</b>	50,57±6,31 <sup>b,c,d</sup>
<b>6</b>	57,82±0,99 <sup>a,b</sup>
<b>8</b>	46,59±0,47 <sup>c,d,e,f</sup>
<b>9</b>	41,53±3,39 <sup>d,e,f</sup>
<b>14</b>	-
<b>17</b>	38,22±1,52 <sup>f</sup>
<b>20</b>	23,33±3,11 <sup>g,h</sup>

\*Elde edilen sonuçlar ortalama değer ± standart hata olarak verilmiştir. Farklı üst indis harflerle gösterilen değerler istatistiki olarak birbirinden farklıdır ( $P < 0,05$ ).

Çizelge 4.2 ve 4.3 incelendiğinde, hem saf halde hem de metanol ile seyreltilerek yapılan uygulamalarda laboratuvar ortamında üretilen uçucu yağların ticari muadillerine kıyasla önemli ölçüde yüksek antimikotik etki gösterdiği ortaya çıkmaktadır ( $P < 0,05$ ). Metanol ile yapılan seyreltmenin tüm uçucu yağlarda antimikotik etkinin azalması şeklinde etkili olduğu görülmektedir. Saf halde uçucu yağlar dikkate alındığında *A. parasiticus* üzerinde en etkili örneğin 8 nolu fesleğen uçucu yağı olduğu görülmekte olup, 2 ve 4 nolu fesleğen yağları ile 3 nolu biberiye yağının istatistiki olarak aynı oranda antimikotik etki gösterdiği anlaşılmaktadır. Metanol ile seyreltme sonrası 14 nolu fesleğen yağının besiyeri

üzerinde herhangi bir inhibisyon zonu oluşturmaması deneysel bir hata olarak düşünülmektedir. Diğer taraftan ticari örnekler içerisinde T8 kodlu biberiye yağı saf halde ve seyreltilmiş halde diğer ticari yağlara oranla daha yüksek antimikotik etki göstermiştir (P<0,05). Tada ve ark. (1996) tarafından yapılan çalışmada fesleğen ekstraktının antifungal etkisinin olmadığı bildirilmesine karşın bu tez çalışmasında tam tersi sonuçlar elde edilmiştir.

Diğer taraftan Avestiyan ve ark. (2017) 3 farklı fesleğen türünden elde ettikleri uçucu yağları kullandıkları çalışmada, nerol açısından zengin fesleğen uçucu yağının en yüksek antimikrobiyal etkiyi gösterdiğini, fesleğen uçucu yağının ilaç ve gıda sanayiinde antimikrobiyal olarak kullanılabilceğini belirtmişlerdir. Bu tez çalışmasının sonuçlarının paralellik gösterdiği bir diğer araştırmada ise Kocic-Tanackov ve ark. (2015) fesleğen uçucu yağının 7 mg/ml konsantrasyonda kullanıldığında gıdalarda önemli bir kontaminant olan *Cladosporium cladosporioides* küfü üzerinde inhibitör etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu tez çalışmasında antimikotik etkileri araştırılan uçucu yağların *A. parasiticus* üzerindeki inhibitör etkisi değişkenlik göstermiş olup bu durumun uçucu yağların antimikrobiyal etkisinin bileşimlerindeki etken maddelerin kalitatif ve kantitatif değerleri, uçucu yağın elde edildiği bitkinin yetiştiği coğrafik bölgeden kaynaklanan etkenler ve bitkinin yetiştiği sezondaki iklim şartlarından etkilenmiş olabileceği kabul edilebilir (Reyes-Jurado ve ark. 2015). Laboratuvar ortamında üretilen uçucu yağların elde edildikleri bitkilere ait coğrafi lokasyon bilgileri incelendiğinde, en yüksek inhibitör etkiyi gösteren 8 nolu örneğin Sındırgı ilçesinden temin edilen fesleğene ait olduğu ve bu ilçenin örnek toplanan ilçeler arasında en yüksek ve denize en uzak konumda bulunduğu görülmektedir. Bu durum ortam koşullarının bitkiye ait uçucu yağ bileşimini olumlu yönde etkilemiş olabileceği hipotezini desteklemektedir. Ancak diğer taraftan Ayvalık ve Burhaniye gibi hem denize yakın hem de alçak bir lokasyonda bulunan ilçelerden elde edilen 2 ve 4 kodlu fesleğen, 3 kodlu biberiye uçucu yağlarının da istatistiki olarak 8 nolu örneğe yakın inhibisyon etkiye sahip olması bu durumun tersini göstermektedir. Bu benzerliğin sebeplerinden birisi de bitkilerin her ne kadar sahile yakın kesimde yetişmeler bile yüksek kesimde yetişen bitkilere benzer etken maddeleri yapılarında tutmaları olabilir.

#### **4.2. Uçucu yağların fenolik bileşen içerikleri ve antioksidan özellikleri**

Bitkisel uçucu yağların gıda ve tarım sektöründe oksidasyonu engelleyici ajan olarak kullanımı her geçen gün artmaktadır. Aynı zamanda uçucu yağların yapısındaki fenolik bileşikler, flavonoidler ve diğer fitokimyasallar gibi antioksidan özellikli maddelerin iyi birer serbest radikal tutucusu olarak aktivite gösterdiği bilinmektedir. Lipit oksidasyon prosesini geciktirme etkisine de sahip olan uçucu yağlar aynı zamanda eklendikleri gıda maddelerinin

aromasını da genellikle olumlu etkilemektedir (Tohidi ve ark. 2017). Bu tez çalışması kapsamında laboratuvar ortamında üretilen ve piyasadan temin edilen fesleğen ve biberiye uçucu yağlarının fenolik bileşen içerikleri Çizelge 4.4’de verilmiştir.

**Çizelge 4.4.** Uçucu yağların fenolik bileşen içerikleri

Uçucu yağ kodu	Fenolik bileşen (mg GAE/L yağ)
<b>T1</b>	611,6±184,5 <sup>i</sup>
<b>T2</b>	330,3±24,8 <sup>i</sup>
<b>T3</b>	310,1±18,0 <sup>i</sup>
<b>T4</b>	184,1±31,5 <sup>i</sup>
<b>T5</b>	507,6±130,5 <sup>i</sup>
<b>T6</b>	687,6±184,5 <sup>h,i</sup>
<b>T7</b>	426,6±166,5 <sup>i</sup>
<b>T8</b>	755,1±63,0 <sup>h,i</sup>
<b>1</b>	1875,6±391,5 <sup>f,g</sup>
<b>2</b>	5699,0±230,0 <sup>c</sup>
<b>3</b>	1284,3±149,8 <sup>g,h</sup>
<b>4</b>	4599,0±110,0 <sup>d</sup>
<b>5</b>	3869,1±162,0 <sup>e</sup>
<b>6</b>	17305,2±495,0 <sup>a</sup>
<b>9</b>	1956,6±85,5 <sup>f</sup>
<b>14</b>	6254,0±255,0 <sup>b,c</sup>
<b>17</b>	1898,1±81,0 <sup>f,g</sup>
<b>19</b>	4497,8±292,6 <sup>d</sup>
<b>20</b>	6669,0±90,0 <sup>b</sup>

\*Elde edilen sonuçlar ortalama değer ± standart hata olarak verilmiştir. Farklı üst indis harflerle gösterilen değerler istatistiki olarak birbirinden farklıdır ( $P < 0,05$ ).

Farouk ve ark. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada Mısır ve Suudi Arabistan’dan temin edilen fesleğen örneklerinden elde edilen uçucu yağların kimyasal kompozisyonu ve antioksidan özellikleri araştırılmıştır. Baskın bileşenleri eugenol ve linalool olan S.Arabistan örneklerinde fenolik madde içeriği ortalama 81700 mg GAE/L seviyesinde bulunurken, metil chavicol ve linalool açısından zengin Mısır menşeli örneklerde bu değer ortalama 2600 mg GAE/L seviyesinde kalmıştır. Çizelge 4.4 incelendiğinde laboratuvar ortamında üretilen uçucu yağların bir çoğunda 2600 mg GAE/L seviyesinden yüksek fenolik bileşen bulunmuş olup, en

yüksek değer 17305,2 mg GAE/L ile Bigadiç ilçesinden toplanan 6 nolu fesleğene ait uçucu yağda tespit edilmiştir. Fesleğen bitkisinin antioksidan özelliğinin araştırıldığı başka bir çalışmada ise Naidu ve ark. (2016) toz haline getirdikleri kurutulmuş bitkiden metanol ile ekstraksiyon yapmışlar ve elde ettikleri ham ekstraktın fenolik içeriğini tespit etmişlerdir. Araştırmacıların bildirdiğine göre fesleğen ham ekstraktı 45,38 mg GAE/g seviyesinde fenolik içeriğine sahiptir. Bu değer bizim çalışmamızda bulunan değer oldukça altındadır ancak kullanılan materyalin uçucu yağ olmaması ve araştırmacıların kaç gram bitkiden ne kadar ekstrakt elde edildiği ile ilgili detay bildirmemiş olması karşılaştırma yapmayı zorlaştırmaktadır. Biberiyeden elde edilen ekstraktlar ve uçucu yağların önemli flavonoidleri ve fenolik maddeleri içerdiği literatürde bildirilmiştir. Rozmarinik asit, kafeik asit esterleri, gekwanin, diosmin ve cirsimaritin bu maddelerden bazılarıdır (Hanson 2016). Bu tez çalışması kapsamında laboratuvar ortamında uçucu yağı elde edilen biberiye örnekleri Çizelge 4.4’de incelendiğinde en yüksek fenolik bileşen miktarının 4497,8 mg GAE/L seviyesi ile Altıeylül ilçesinden elde edilen 19 nolu örnekte tespit edildiği görülmektedir. En düşük fenolik içeriğine sahip olan 3 nolu örneğin Ayvalık ilçesinden elde edildiği göz önüne alındığında, iki ilçe arasındaki yükselti ve denize olan uzaklık farkının fenolik madde içeriğine etki ettiği sonucu çıkarılabilir. Lemos ve ark. (2015) tarafından yürütülen bir çalışmada farklı yıllar ve farklı mevsimlerde toplanan biberiyelere ait ham ekstraktlarda toplam fenolik madde analizi yapılmıştır. Ekim 2012, Ocak-Nisan-Temmuz 2013 tarihlerinde toplanan bitkilerin fenolik madde içerikleri 75,2-99,0 mg GAE/g ham ekstraktı aralığında tespit edilmiştir. Araştırmacılar ekstraktların bileşimindeki fenolik madde miktarının değişiklik göstermesini hava sıcaklığı, yağmur miktarı gibi iklimsel değişimlerle açıklamışlardır. Bu tez çalışmasında biberiye uçucu yağlarının fenolik madde içeriğinin istatistiki olarak farklılık göstermesi ( $P<0,05$ ) de bu duruma bağlı olabilir. Ticari uçucu yağların tamamında fenolik madde içeriği laboratuvar ortamında üretilen örneklerden düşüktür ( $P<0,05$ ). Bu durum ticari olarak satışa sunulan uçucu yağların denetiminde yetkili kurumlar tarafından ciddi önlemler alınması gerektiğini, bu ürünlerin etken madde içeriklerinin tespiti üzerinde kapsamlı çalışmalar yapılması gerektiğini düşündürmektedir. Bu tez kapsamında etken madde analizi yapılmamış olsa da ticari ürünlerdeki düşük fenolik madde içeriği bazı etken maddelerin düşük olduğuna veya bu ürünlerde taşınması ihtimaline işaret etmektedir.

Tez çalışması kapsamında uçucu yağlarda antioksidan kapasite değerleri iki yöntemle tespit edilmiştir. Çizelge 4.5’de hem ABTS<sup>+</sup> radikal katyonu tarafından yakalanan antioksidan

madde miktarı analiz sonuçları hem de DPPH radikal temizleme aktivitesi analiz sonuçları  $\mu\text{mol}$  troloks/ml yağ cinsinden verilmiştir.

**Çizelge 4.5.** Uçucu yağlara ait antioksidan kapasite değerleri

Uçucu yağ kodu	Antioksidan kapasite değeri ( $\mu\text{mol}$ troloks/ml yağ)	
	DPPH	ABTS <sup>+</sup>
T1	0,12±0,00 <sup>j</sup>	3,09±0,08 <sup>h</sup>
T2	0,28±0,03 <sup>i,j</sup>	1,79±0,07 <sup>h</sup>
T3	0,29±0,01 <sup>i,j</sup>	1,25±0,02 <sup>h</sup>
T4	0,29±0,02 <sup>i,j</sup>	1,86±0,04 <sup>h</sup>
T5	0,50±0,00 <sup>h,i,j</sup>	2,43±0,31 <sup>h</sup>
T6	0,30±0,04 <sup>i,j</sup>	2,92±0,04 <sup>h</sup>
T7	0,27±0,01 <sup>i,j</sup>	0,77±0,00 <sup>h</sup>
T8	0,86±0,07 <sup>g,h,i</sup>	2,87±0,31 <sup>h</sup>
1	1,58±0,01 <sup>f</sup>	39,85±2,00 <sup>d</sup>
2	5,60±0,26 <sup>d</sup>	56,53±2,86 <sup>c</sup>
3	0,91±0,03 <sup>g,h</sup>	29,28±0,15 <sup>e,f</sup>
4	5,30±0,00 <sup>d</sup>	34,92±2,07 <sup>d,e</sup>
5	1,22±0,08 <sup>f,g</sup>	19,79±0,09 <sup>f,g</sup>
6	18,65±0,67 <sup>a</sup>	239,98±12,54 <sup>a</sup>
9	1,12±0,07 <sup>f,g</sup>	10,42±0,09 <sup>g,h</sup>
14	6,53±0,16 <sup>c</sup>	60,19±1,99 <sup>c</sup>
17	1,56±0,04 <sup>f</sup>	20,35±0,21 <sup>f,g</sup>
19	3,10±0,08 <sup>e</sup>	23,95±0,05 <sup>f</sup>
20	9,70±0,26 <sup>b</sup>	77,94±5,04 <sup>b</sup>

\*Elde edilen sonuçlar ortalama değer  $\pm$  standart hata olarak verilmiştir. Aynı sütunda farklı üst indis harflerle gösterilen değerler istatistiki olarak birbirinden farklıdır ( $P < 0,05$ ).

Çizelge 4.5 incelendiğinde, fenolik madde içeriklerine paralel olarak antioksidan özellik sonuçları da laboratuvar ortamında üretilen uçucu yağların ticari muadillerinden daha yüksek değerlere sahip olduğunu göstermiştir ( $P < 0,05$ ). Alves-Silva ve ark. (2013) tarafınan kişniş, kereviz ve fesleğen uçucu yağlarının antioksidan kapasite tayinini de kapsayan bir çalışma yapılmış olup, en yüksek antioksidan özellik değeri, bizim çalışmamızın da gösterdiği

gibi, fesleğen uçucu yağında tespit edilmiştir. Bu tez kapsamında 6 nolu fesleğen örneğinde tespit edilen 18,65 µl/ml değeri, Avetisyan ve ark. (2017) tarafından *O. Basilicum var. purpureus* türü fesleğen için bulunan 22 µl/mL değerine oldukça yakındır. Aynı çalışmada araştırmacılar iki farklı fesleğen türünü daha test etmiş olup, daha düşük değerlere ulaşmışlardır.

Antioksidan kapasite sonuçları biberiye uçucu yağları açısından incelendiğinden en yüksek değerin 3,10 µl/mL ile Altiyül ilçesinden temin edilen bitkilerden üretilen 19 nolu örnekte bulunduğu görülmektedir. İlçenin görece olarak daha yüksek bir konumda olması ve denizden uzak oluşu bu duruma sebep olmuş olabilir. Biberiye uçucu yağının taze etin raf ömrüne etkisinin araştırıldığı bir çalışmada uzun süreli depolamada dahi yağın antioksidan özellik gösterdiği ve gıdalarda kullanıma uygun olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Sirocchi ve ark. 2017). Benzer şekilde biberiye uçucu yağının gıdalarda kullanılan film kaplamalara uygulandığı ve antioksidatif özellikler bakımından başarılı bulunduğu birçok çalışma literatürde bulunmaktadır (Yahyaoui ve ark. 2016, Yuan ve ark. 2016). Bendif ve ark. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada ise *Rosmarinus eriocalyx* türü biberiyenin çiçek, yaprak ve sap kısımlarında ayrı ayrı antioksidan kapasite tayini DPPH metodu ile yapılmış ve sonuçlar sırasıyla 1,84, 2,7 ve 4,9 µmol/g uçucu yağ şeklinde ifade edilmiştir. Karakaya ve ark. (2014) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise hidrodistilasyon metodu ile üretilen biberiye uçucu yağında Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite değeri 1,95 mM/mL olarak tespit edilmiştir. Literatürde farklı birimlerde sonuçlar verilmesine karşın bu tez çalışması kapsamında bulunan değerlerin, bazı ilçeler için, literatüre uyum gösterdiği ancak ticari ürünlerin antioksidan kapasite değerlerinin önemli oranda düşük olduğu görülmektedir ( $P<0,05$ ).

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez kapsamında biberiye (*Rosmarinus officinalis L*) ve Fesleğen (*Ocimum basilicum L.*) bitkilerine ait uçucu yağların antimikotik ve antioksidan özellikleri araştırılmıştır. Balıkesir'in farklı ilçelerinden temin edilen biberiye ve fesleğen bitkilerinden hidrodistilasyon yöntemi ile elde edilen uçucu yağların literatür verilerine yakın seviyelerde antimikotik ve antioksidan etkiye sahip olduğu ve aynı zamanda laboratuvar ortamında üretilen bu yağların ticari muadillerinden daha yüksek antimikotik ve antioksidan etki gösterdiği belirlenmiştir. Fesleğen uçucu yağı, beklenildiği gibi, biberiye uçucu yağına göre daha yüksek antimikotik ve antioksidan etkiye sahip olarak bulunmuştur. Bitkilerin toplandığı lokasyonların denizden yüksekliği ve denize uzaklığının elde edilen uçucu yağın özelliklerini önemli ölçüde etkilediğinin gösterilmesi önemli bir bulgudur. Bu çalışmanın ışık tuttuğu sonuçlar doğrultusunda ilerleyen dönemlerde, farklı aromatik bitkiler ya da bunların kombinasyonları, farklı muamele konsantrasyonları ve farklı fungal kültürlerle yapılacak araştırmalar, aromatik bitkiler ile sağlanan koruyuculuk etkisinin daha kapsamlı bir şekilde ortaya konmasını sağlayabilecektir.

Balıkesir ilçelerinde doğal olarak yetişen bu aromatik bitkilerin sahip oldukları koruyucu özelliklerinin yanı sıra antioksidan etkilerinin gıdalarda ilave fonksiyonel nitelikler kazandırma potansiyeline mevcut olduğu düşünülmektedir. Biyoaktif besin bileşenlerinin tespiti için yapılan toplam fenolik madde içeriği ve toplam antioksidan kapasite analizleri sonucunda, aktivite açısından en yüksek değer fesleğen uçucu yağında görülmüştür. Aromatik bitkilerin gıdalarda doğal koruyucu olarak kullanımına yönelik çalışmalarda aromatik bitkinin, ürünün tadı üzerinde gösterebileceği tat ve aroma değişimleri ürünlerin tüketici tarafından kabul edilebilmesi adına önemli bir kriterdir.

Bu konu ile ilgili daha fazla araştırma ve yatırım yapıldığı takdirde bitki çeşitliliği fazla bir ülke olan Türkiye'de bitkisel drog eldesi ve bunlardan ilaç yapılması ve baharat, bitki çayı olarak kullanımı büyük bir gelişme gösterecektir. İhtiyaç fazlasının satılmasıyla da yeni bir pazar oluşması mümkündür.

## 6.KAYNAKLAR

- Abay E., (2006). Bazı Bitki Ekstraktlarının Antibakteriyal Etkilerinin Disk Difüzyon Yöntemiyle Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Kars.
- Ahn, J.A, Gru, I.U. andd Mustapha, A. 2007. Effects of plant extracts on microbial growth, color change, and lipid oxidation in cooked beef. *Food Microbiology*, 24; 7–14.
- Akgül, A. 1989. Baharatların antioksidan özellikleri. *Doga-TR. J. of Agriculture and Forestry*, 13; 11-24.
- Akgül, A. (1993). Baharat bilimi ve teknolojisi. Gıda teknolojisi derneği yayınları. Yayın no: 15 Ankara. 451s.
- Akyüz E., (2007). *Polygonum bistorta ssp. Carneum* Bitki Ekstraktlarının Kromotografik Yöntemlerle Kimyasal Bileşiminin Belirlenmesi ve Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktiviteleri, Yüksek Lisans Tezi, Trabzon.
- Alves-Silva JM, Santos SMD, Pintado ME, Perez-Alvarez JA, Fernandez-Lopez J, Viuda-Martos M (2013). “Chemical composition and in vitro antimicrobial, antifungal and antioxidant properties of essential oils obtained from some herbs widely used in Portugal” *Food Control*, 32:371-378.
- Anonim (1999). SCF Scientific Cmmittee for Food, 1999. Opinion of the Scientific Committee on Food on Fusarium-toxins. Part 1: Deoxynivalenol (DON) (expressed on 2 December 1999). [http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out55\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out55_en.pdf).
- Anonim2012.[http://www.tarim.gov.tr/SGB/Belgeler/Bakanl%C4%B1k\\_Faaliyet\\_Raporlar%C4%B1/2012\\_Faaliyet\\_Raporu.pdf](http://www.tarim.gov.tr/SGB/Belgeler/Bakanl%C4%B1k_Faaliyet_Raporlar%C4%B1/2012_Faaliyet_Raporu.pdf)
- Anonim(2014).<http://www.balikesirkulturturizm.gov.tr/TR,65836/fiziki-ozellikler.html>"Fiziki Özellikler" Balıkesir İli Kültür ve Turizm Müdürlüğü 1 Eylül 2014.
- Anonim (2015). <http://www.balikesir.com.tr/tr/makale/balikesirin-florasi>
- Arıhan SK (2003). Antik Dönemde Tıp ve Bitkisel Tedavi. Ankara Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Arkeoloji Bölümü Klasik Arkeoloji Anabilim dalı, Yüksek lisans Tezi
- Avetisyan A, Markosian A, Petrosyan M, Shakyan N, Babayan A, Aloyan S, Trchounian A (2017). “Chemical composition and some biological activities of the essential oils from basil *Ocimum* different cultivars” *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17:60:1-8.



- Bakkalbaşı, E (2009). Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Farklı ambalaj materyalleri ve depo koşullarının ceviz içi bileşimine etkisi Doktora Tezi
- Balyan, S.S., Pushpangadan, P., 1988. A Study on the Taxonomical Status and Geographic Distribution on of the Genus *Ocimum* Pajai Journal(INDIA), April-June, P.13-19.
- Baser K. H. C. (2002) Aromatic Biodiversity Among the Flowering Plant Taxa of Turkey. *Pure Appl. Chem.*,74 (4): 527–545.
- Başer, H.C., 1998. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Endüstriyel Kullanımı TAB Bülteni 13-14:19-43.)
- Baydar, H., 2007. Tıbbi, Aromatik ve Kefy Bitkileri Bilimi ve Teknolojisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:51, İsparta.
- Baydar H (2009). Tıbbi ve aromatic bitkiler bilimi ve teknolojisi (Genişletilmiş 3.Baskı). Süleyman Demirel Üniversitesi Yayın No: 51 (ISBN: 975-7929--79-4), pp. 1-347
- Bayrak A., Kıralan M. ve Çalıkoglu E. 2006. Uçucu Yag Nedir, Nasıl Üretilir ve Türkiye'deki Durumuna Genel Bir Bakıs. Türkiye 9.Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs 2006,Bolu Ankara Üniv., Mühendislik Fakültesi, Gıda Müh.Bölümü, Dıskapı, Ankara
- Baytop, T. 1984: Türkiye'de Bitkilerle Tedavi. İ.Ü. Yayın No:3255, Ecz. Fak. Yayın No: 40.İstanbul.
- Baytop, A., 1991. Türkiye'de kullanılan yabani ve yetiştirilmiş aromatik bitkiler, Doğa, Tr. Journal of Pharmacy, 1: 76-88.
- Baytop, T., Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi, Nobel Tıp Kitapevleri, İkinci Baskı, 1999.
- Bendif H, Boudjeniba M, Miara MD, Biqiku L, Bramucci M, Caprioli G, Lupidi G, Quassinti L, Segratini G, Vitali LA, Vittori S, Maggi F (2017). “Rosmarinus eriocalyx: An alternative to Rosmarinus officinalis as a source of antioxidant compounds” Food Chemistry, 218:78-88.
- Benli, M., Güney, K., Bingöl, Ü., Geven, F., Yiğit, N. 2007. Antimicrobial Activity of Some Endemic Plant Species from Turkey.*Afr. J. Biotech.*,6:1774-1778.
- Blois, M.S., 1958, Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, Nature, 181, 1199-1200.

- Bulca, Selda 2014 çörek otunun bileşenleri ve bu yağın ve diğer bazı uçucu yağların antioksidan olarak gıda teknolojisinde kullanımı Journal of Adnan Menderes University, Agricultural Faculty . Vol. 11 Issue 2, p29-36. 8p.
- Bracco, U., Lölişer, J. and Viret, J.L., 1981, Production and use of natural antioxidants. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 58, 686-690.
- Braga FG, Bouzada MLM, Fabri RL, Matos MO, Moreira FO, Scio E, Coimbra ES (2007). "Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil" *Journal of Ethnopharmacology* y, 111:396-402.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technology* 1995; 28:25-30.
- Carson, C. F. ve Riley, T. V. (1993). Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Melaleuca alternifolia*. *Letters in Applied Microbiology*, 16(2), 49-55.
- Carvalhinho S, Costa AM, Coelho AC, Martins E, Sampaio A (2012). "Susceptibilities of *Candida albicans* mouth isolates to antifungal agents, essentials oils and mouth rinses" *Mycopathologia*, 174:69-76.
- Cerit, L.S. (2008). Bazı baharat uçucu yağlarının antimikrobiyal özellikleri.Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 45 s, Denizli.
- Ceylan, A. 1997. Tıbbi Bitkiler-II (Uçucu Yağ Bitkileri) E.Ü.Z.F. Yayınları No:481, Bornova, İzmir, s.306.
- Çelen, S. (2006). Türkiye’de Yayılış Gösteren Dört Thymus Türünün Uçucu Yağ Bileşimleri, Antibakteriyel ve Antifungal Aktivite Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi, Balıkesir
- Çenet, M. ve Toroğlu, S. (2006). Tedavi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin kullanım alanları ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için kullanılan metodlar. *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi*,9(2): 12-20.
- Çon, A.H., Ayar, A. ve Gökalp, H.Y. (1998). Bazı baharat uçucu yağlarının çeşitli bakterilere karşı antimikrobiyal etkisi.*Gıda*.23(3), 171-175.
- Dağcı E. K., Dığrak M., (2005). Bazı Meyve Ekstraktlarının Antibakteriyel ve Antifungal Aktiviteleri, *KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi*, 8(2).
- Dapkevicius, A., Venskutonis, R., Beek, T. A. and Linssen, J. P. H. 1998. Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *J.Sci. Food Agric.* 77:140-146.

- Dorman, H.J.D., Deans, S.G. and Noble, R.C. (1995). Evaluation in vitro plant essential oils as natural antioxidants, *Journal of Essential Oil Research*, 71, 645-651.
- Darah, H-H., 1974 Investigation of Cultivars of the Basils (*Ocimum*). *Economic Botany* 28 P. 63-67.
- Darrah, H., H., 1998. The cultivated Basil Buckeye Printing. *Independence*
- Dirmenci, T. (2003). Türkiye'de yetişen *Nepeta L.* (Lamiaceae) Türleri Üzerinde Taksonomik Araştırmalar. Doktora Tezi, Balıkesir Üniversitesi, Balıkesir.
- Duru, M. E., 1993. Liquidambar *Orientalis var. Orientalis* ve *Liquidambar Orientalis var. Integriloba* Yapraklarından Elde Edilen Uçucu Yağın Analizi, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Erzurum.
- Ekim, T., Koyuncu, M., Erik, S. ve İlarıslan, R., Türkiye'nin Tehlike Altındaki Nadir ve Endemik Bitkileri, Türkiye Tabiatını Koruma Derneği Yayınları, (1989).
- Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Aytaç, Z., Adıgüzel, N., 2000. Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı (Eğrelti ve Tohumlu Bitkiler), Türkiye Tabiatını Koruma Derneği, Barışcan Ofset, Kızılay-Ankara.
- Ertürk, R., Çelik, C., Kaygusuz, R. ve Aydın, H. (2010). Ticari Olarak Satılan Kekik ve Nane Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri. *Cumhuriyet Tıp Dergisi*, 32,281-286.
- Esen, G. (2005). *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* Ietswaart'un Doğal ve Kültür Forumlarından Elde Edilen Uçucu Yağların Kimyasal Bileşimleri ve Antimikrobiyal Aktivite Özellikleri. Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi, Balıkesir.
- Farag, R. S., Daw, Z. Y., Hewedi, F. M. and El-Baroty, G.S.A. (1989). Antimicrobial activity of some egyptian spice essential oils. *Journal of Food Protection*.52: 665-667.
- Farouk A, Fikry R, Mohsen M (2016). "Chemical composition and antioxidant activity of *Ocimum basilicum L.* Essential oil cultivated in Madinah Monawara, Saudi Arabia and its comparison to the Egyptian chemotype" *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19:1119-1128.
- Fasseas, M.K., Mountzouris, K.C., Tarantilis, P.A., Polissiou, M. and Zervas, G. 2007. Antioxidant activity in meat treated with oregano and sage essential oils, *Food Chemistry*.
- Frankel E. N., Meyer A. S., (2000). The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants., *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 1925-1941.

- Fernández-López, J., Zhi, N., Aleson-Carbonell, L., Perezalvarez, J.A. and Kuri, V.,2005, Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: Application in beef meatballs. *Meat Sci.*,69, 371-380.
- Fleisher, A., 1981. Essential Oils From Two Varieties of *Ocimum basilicum* L. Grown in Israel. *Journal of Science Food Agriculture Israel*, 32. P.1119-1122.
- Gerhardt, U., Schroter, A., 1983 ‘Rosmarinic Acid–An Antioxidant Occurring Naturally in Herbs’, *Fleischwirtschaft*, 63, 1628–30.
- Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı “Bitkisel Üretim, Tıbbi ve Aromatik Bitkiler)[http://www.tarim.gov.tr/uretim/Bitkisel\\_Uretim,Aromatik\\_Tibbi\\_Bitkiler.htm](http://www.tarim.gov.tr/uretim/Bitkisel_Uretim,Aromatik_Tibbi_Bitkiler.htm) LanguageID=1 (Erişim Tarihi 06.06.2012).
- Guillen, D.M., Cabo, N. and Burillo, J. 1996, Characterisation of the essential oils of some cultivated aromatic plants of industrial interest, *Journal of Scientific Food Agriculture* 70, 359-363.
- Guenther, E., 1948. The Essential oils. Vol: I-IV, Robert E. Krieger Publishing Co. Inc., Malabar, Florida.
- Guenther, E., 1948. The Essential Oils. D. Van Nostrand, New York.
- Gülbaba AG ve Özkurt N (2004). Adana ve Mersin yöresi doğal biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) populasyonlarının alan, yaprak ve yağ verimlerinin belirlenmesi, 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 29-31 Mayıs, Eskişehir.
- Güner KG (2014). “Çeşitli aromatik bitkilerin, meyve kurutmada küf-maya gelişimi, fonksiyonel ve duyuşal özelliklere etkileri” Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Güner A, Özhatay N, Ekim T, Başer KHC (edlr.), 2000. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, 11. Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Halkman, A.K., Sağdaş, Ö. (2014). *Merck Mikrobiyoloji El Kitabı*, 3. Baskı, Ankara.
- Hanson JR (2016). “Rosemary, the beneficial chemistry of a garden herb” *Science Progress*, 99:83-91.
- Hohman, J., Molnar, J. and Schelz, Z. (2006). Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils. *Fitoterapia*.77:279-285.
- Hornok, L., 1983. Influence of Nutrition on the Yield and Content of Active Compounds in Some Essential Oil Plants *Acta Horticulturae, Medicinal and Spice Plants* 132, P.239-247.
- Hornok, L., Lenches, O., 1992. Sweet Basil, Cultivation and Processing of Medicinal Plants (Editor HORNOK L.) University of Horticultural Sciences Budapest, P.220-224.

- Hussain, T., Arshad, M., Khan, S., Satar, H. and Qureshi, MS. 2011. In Vitro screening of methanol plant extracts for their antibacterial activity. Pak. J. Bot.,43:531-538.
- İlhan, A., Gürel, A., Armutçu, F., Kamışlı, S. and İraz, M. (2005). Antiepileptogenic and antioxidant effects of nigella sativa oil against pentylenetetrazol-induced kindling in mice. Neuropharmacology,49 (4) 456-464.
- Jackson, F. 1993. Antihelmintic resistance-the state of play. British Veterinary Journal,149(2): 123-138.
- Jansen, P.C.M.,1981. *Ocimum basilicum* L. Spices, condiments and Medicinal Plants in Ethiopia, Their Taxonomy and Agricultural Significance. Centre For Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen P.85-96.
- Karakaya S, El SN, Karagözü N, Sahin S, Sumnu G, Bayramoglu B (2014). “Microwave-assisted hydrodistillation of essential oil from rosemary” Journal of Food Science and Technology-Mysore, 51:1056-1065.
- Kartal, M. (2004). *Avrupa birliği ülkelerinde tıbbi bitkisel ürünlerin ruhsatlandırılması*,Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognosi Anabilimdalı.
- Kendir, G. ve Güvenç, A. (2010). Etnobotanik ve Türkiye’de Yapılmış Etnobotanik Çalışmalara Genel Bir Bakış. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 30(1), 49-80.
- Kırbağ, S. ve Bağcı, E. (2000). *Picea abies*(L.) Karst. ve *Picea orientalis*(L.) Link uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitesi üzerine bir araştırma, Journal of Qafqaz University, III (I), 183-190. Kırbağ
- Kırca, A. ve Özkan, M. 2007. Değişik amaçlı bazı test ve analiz yöntemleri. Gıda Analizleri, Cemeroglu, B. (ed.), s. 463-486, Bizim Büro Basımevi, Ankara.
- Kocic-Tanackov S, Dimic G, Mojovic L, Pejcin J, Tanackov I, Djukic-Vukovic A (2015). “Inhibitory effect of basil extract on the growht of *Cladosporium cladosporioides*, *Emericella nidulans*, and *Eurotium* species isolated from food” Journal of Food Processing and Preservation, 39:887-895.
- Koyuncu, O., Yaylacı, O., Öztürk, D., Potoğlu Erkara, I., Savaroğlu, F., Akçoşkun, O. ve Ardıç, M. (2010). Risk Categories and Ethnobotanical Features of The Lamiaceae

- Taxa Growing Naturally in Osmaneli (Bilecik/Turkey) and Environs. *Biological Diversity and Conservation*, 3(3), 31-45.
- Kutlular, Ö. (2007). Bazı Adaçayı ve Kekik Türlerinin Uçucu Yağlarının Süper Isıtılmış Su İle Ekstraksiyonları ve GC-MS İle Karakterizasyonları. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Denizli.
- Lahlou, M. and Berrada, R., 2003, Composition and niticidal activity of essensial oils of three chemotypes of *Rosmarinus officinalis* L. acclimatized in Morocco, *Flavour and Fragrance Journal* 18: 124-127.
- Lee, S., K. Umamo, T. Shibamoto, K. Lee, 2005. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties, *Food Chemistry* 91 (2005) 131–137.
- Lemos MF, Lemos MF, Pacheco HP, Endringer DC, Scherer R (2015). “Seasonality modifies rosemary’s composition and biological activity” *Industrial Crops and Products*, 70:41-47.
- Lopez-Bote, C.J., Gray, J.I., Gomaa, E.A. and Flegal, C.J. 1998. Effect of dietary administration of oil extracts from rosemary and sage on lipid oxidation in broiler meat. *British Poultry Science*, 39; 235-240.
- Lussignoli, S., Fraccaroli, M., Verioli, G., Brocco, G. and Bellavite, P., 1999, A microplatebased colorimetric assay of the total peroxy radical trapping capability of human plasma, *Anal. Biochem.*, 269, 38–44.
- Malayoğlu, H. B., 2010, Biberiyenin (*Rosmarinus officinalis* L) Antioksidan etkisi., *Hayvansal Üretim* 51 (2):59-67.
- Maregesi, SM., Pieters, L., Ngassapa, OD., Apers, S., Vin-gerhoets, R., Cos, P., Berghe, DA., Vlietinck, AJ. 2008. Screening of Some Tanzanian Medicinal Plants from Bunda District for Antibacterial, Antifungal and Antiviral Activities. *J. Ethnopharmacol.*, 119:58-66.
- Mathe, A., Lemberkovics, E., Mathe, J.I., Mathe, I., Nguyen, H., 1993. Production Biology of Mediterranean Lamiaceae Species in The Temperate Beit. *Acta Horticulture* 344 pp.121-122.
- Mates JM, Perez-Gomez C, De Castro IN. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem.* 1999;32:595–603.
- McCall MR, Frei B. Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans *Free Rad Biol Med.* 1999;26:1034–53.

- Mehmet Bayaz,2013 Esansiyel Yağlar: Antimikrobiyal, Antioksidan ve Antimutajenik Aktiviteleri Akademik Gıda 12(3) (2014) 45-53 Ege Üniversitesi, Tire Kutsan Meslek Yüksekokulu, 35900 Tire, İzmir
- Miller, N.J., Rice- Evans, C.A., Davies, M.J., Gopinathan, V., Milner, A. 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science*, 84: 407- 412.
- M. Kırpık, 2005. Seasonal and Diurnal Variability of Essential Oil and its Components in *Origanum onites* L. Grown in the Ecological Conditions of Çukurova. *Grasa Aceites* Vol. 56. Fasc.4, 254-258.
- Naidu JR, Ismail RB, Sasidharan S (2016). “Chemical profiling and antioxidant activity of Thai basil (*Ocimum basilicum*)” *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19:750-755.
- Nair, MKM., Vasudevan, P.and Venkitanarayanan, K. (2005). Antibacterial effect of black seed oil on *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 16 (5) 395-398.
- Neizen, J.H., Charlestan, W.A.G., Hodgson, J., Mackay, A.D. and Leathwick, D.M. 1996. Controlling internal parasites in grazing ruminant without resource to anthelmintics. *Approaches, Experience and Prospects*, 26(8/9): 983-992.
- Njume, C., Afolayan, AJ. and Ndip, RN. 2009. An overview of antimicrobial resistance and the future of medicinal plants in the treatment of *Helicobacter pylori* Infections. *Afr. J. Pharm. Pharmacol.*,3:685-699.
- Nostro, A., Germano, M. P., D'Angelo, V., Ma rino, A. and Canatelli, M. A. (2000).Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity.*Letters in Applied Microbiology*.30:379-384.
- Otte, S., 1994. Essential Oils-Rediscovered Remedies. *Dragoco Report, Flavoring Information Service*, 3: 91-110.
- Özcan, M. and Chalchat, J.C., 2002. Essential oil composition of *Ocimum basilicum* and *O. minimum* in Turkey. *Czech. J. Food. Sci.* 20 (6): 223-228.
- Özek, T., 1990. *Micromeria congesta* Uçucu Yağının Bileşimi. Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.

- Özek, T., Beis, S.H., Demirçakmak, B., Başer, K.H.C., 1994. Composition of the Essential Oil of *Ocimum basilicum* L. Cultivated in Turkey. *Journal of Essential Oils Research*, 7, S. 203-205.
- Özdemir, C., Bazı *Salvia* L. (Lamiaceae) türleri üzerinde morfolojik, anatomik ve karyolojik bir araştırma.Yüksek Lisans Tezi, 19 Mayıs Üniversitesi Fen-Bilimleri Enstitüsü, Samsun, 67s.
- Özkum, D. ve Ozan, Ç. (2011). Kuzey Kıbrıs'ta Geleneksel Tedavi Amacıyla Kullanılan Tıbbi Bitki Karışımları, *Near East Medical Journal (NEMJ)*, 1(2).
- Öztürk H., (2009). *Jurinea Consanguinea* 'nın Antioksidan ve Antibakteriyel Aktivitesinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Edirne.
- Palmer, A.S., Stewart, J., Fyfe, L., 1998. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Letters in Applied Microbiology*. 26:118-122.
- Panizzi, L., Flamini, G., Cioni, P.L., Morelli, I., Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae, *J. Ethnopharmacol.*, 39, 167-170 (1993).
- Principe P., (1991). Monetizing the Pharmacological Benefits of Plants, US Environmental Protection Agency, Washington DC. Recio, M.C. and Rios, J. L. (2005). Medicinal plants and antimicrobial activity. *Ethnopharmacology*. 100: 80-84.
- Reyes-Jurado F, Franco-Vega A, Ramirez-Corona N, Palou E, Lopez-Malo A (2015). "Essential oils: Antimicrobial activities, extraction methods, and their modeling" *Food Engineering Reviews*, 7:275-297.
- R.Efe, A.Soykan, İ. Cürebal, S. Sönmez, (2013), Balıkesirin ağaçları ve çalıkları kitabı, Balıkesir.(<http://www.balikesir.com.tr/tr/makale/balikesirin-florasi>).
- Rıaz, M., Shadab, Q. Chaudhary, F.M., 1999. Volatiles of *Ocimum basilicum* (Local) at different phases of plant growth. *Pakistan-Journal-of-Scientific-and-Industrial-Research*. 1999, 42: 6, 332-335; Applied Chemistry Research Centre, PCSIR Laboratories Complex, Lahore 54600, Pakistan.,
- Rice-Evans, C. A. and Miller, N. J., 1984. Total antioxidant status in plasma and body fluids. *Methods in Enzymology*, 234: 279-293.
- Sağdıç, O., Kuşçu, A., Özcan, M. and Özçelik, S. (2002). Effects of Turkish spice extracts at various concentrations on the growth *E. coli* O157:H7. *Food Microbiology*. 19:473-480.



- Sağdıç, O. (2003). Sensitivity of Four Patogenic Bacteria to Turkish Thyme and Oregano Hydrosols. *Lebensm.-Wiss.u.-Technol.* 36:467-473.
- Sajjadi, S., E., 2006. Analysis of the essential oils of two cultivated basil (*Ocimum basilicum* L.) from Iran. *Daru*, 14(3), 128-129.
- Sasikumar, B. 2004. Rosemary. In *Handbook of herbs and spices Vol. 2*, Edited By Peter, K.V. CRC Pres, Woodhead Publishing Ltd., England.
- Sekar, S. and Kandavel, D. 2010. Interaction of plant growth promoting rhizobacteria (pgpr) and endophytes with medicinal plants-New Avenues for Phytochemicals. *J. Phytology*, 2:91-100.
- Sies H, Stahl W, Sevanian A. Nutritional, dietary and post-prandial oxidative stress. *J Nutr.* 2005;135:969–72.
- Simon, J.E., Chadwick A.F, and Craker L.E., 1984. *Herbs: An Indexed Bibliography. 1971-1980. The Scientific Literature on Selected Herbs, and Aromatic and Medicinal Plants of the Temperate Zone.* Archon Books, 770 pp., Hamden, CT.
- Singh, B.S., BOBDOLOI, D.N., 1991. Changes in the Linalool and Methyl Cinnamate Amounts in Methyl Cinnamate-rich Clone of *Ocimum basilicum* L. at Different Growth Stages. *Journal of Essential Oil Research* Vol.3, P.475-476.
- Singleton, V. L., Rossi, J. A., 1965, Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents, *American Journal of Enology Viticulture*, 16, 144–158.
- Sirocchi V, Devlieghere F, Peelman N, Sagratini G, Maggi F, Vittori S, Ragaert P (2017) “Effect of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil combined with different packaging conditions to extend the shelf life of refrigerated beef meat” *Food Chemistry*, 221:1069-1076.
- Sönmez, S. (2005), Kurtçalı Tepe (Balıkesir) Ağaçlandırma Sahasında Vejetasyonun Süksesyonel Değişimi ve Floristik Gözlemler, *Ekoloji*, 14,57, 1-12, İzmir.
- Şengezer, E. ve Güngör, T. 2008. Esansiyel yağlar ve hayvanlar üzerindeki etkileri. *Lalahan Hay.Araşt.Ent. Derg.* 48(2) 101-110.
- Tada, H., Y. Ikeda, T. Omoto, K. Shimomura, K. Isimaru, 1996. Rosmarinic acid and related phenolics in adventitious root cultures of *Ocimum basilicum* L., *Plant Tissue Culture Letters*, 13 (1), 69-71 (1996).
- Tanker, M., Tanker, N., 1990. *Farmakognozi*, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No.65, Ankara, s. 269-393.

- Tarakçı, S. 2006. Beykoz Civarındaki Tıbbi Özellik Taşıyan Bitkiler Üzerine Araştırmalar. Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Biyoloji, Marmara Üniversitesi, 148s.
- Telci, İ., E. Bayram, G. Yılmaz, A.B. Avcı, 2005. Türkiye’de kültürü yapılan yerel fesleğen (*Ocimum* spp) genotiplerinin morfolojik, agronomik ve teknolojik özelliklerinin karakterizasyonu ve üstün bitkilerin seleksiyonu (Sonuç Raporu), Togtag-3102 No’lu Proje. Tübitak.
- Temel, M. ve Tokur, 2010 S. *Origanum hypericifolium* Schwarz et Davis ve *O. sipyleum* L. Üzerinde Morfolojik, Anatomik ve Ekolojik Araştırmalar. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 6(2), 71-88.
- Tohidi B, Rahimmalek M, Arzani A (2017). “Essential oil composition, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of *Thymus* species collected from different regions of Iran” *Food Chemistry*, 220:153-161.
- Tomaino, A., Cimino, F., Zimbalatti, V., Venuti, V., Sulfaro, V., De Pasquale, A. and Saija, A. (2005). Influence of heating on antioxidant activity and the chemical comparison of some spice essential oils. *Food Chemistry*, 89, 549-554.
- Toroğlu, S., Çenet, M., 2006. Tedavi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin kullanım alanları ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için kullanılan metodlar. *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi* 9(2): 12-20.
- Turan, P., *Ocimum Basilicum* L.’den elde edilen polifenol oksidaz enziminin saflaştırılması, kinetik ve elektroforetik özelliklerinin incelenmesi, Balıkesir Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Ana Bilim Dalı, (yüksek lisans tezi), (2005).
- Türküsay, H. ve Onoğur, E. 1998. Bazı bitki ekstraktlarının in vitro antifungal etkileri üzerine araştırmalar. *Tr. J. of Agriculture and Forestry*, 22:267-271.
- Vasconcelos Silva, M. G., Abreu Matos, F. J., Lacerda Machado, M. I. and Craveiro, A. A. 2003. Essential oils of *Ocimum basilicum* L., *O. basilicum*. var. *minimum* L. and *O. basilicum*. var. *purpurascens* Benth. grown in north-eastern Brazil. *Flavour Fragrance Journal*. 18; p:13–14.
- Vieira RRN, Morais SM, Bezerra FHQ, Ferreira PAT, Oliveira İR, Silva MG (2014). “Chemical composition and antifungal activity of essential oils from *Ocimum* species” *Industrial Crops and Products*, 55:267-271.
- Yeşil-Çelikleş, Ö., Bedir, E. and Vardar-Sukan, F., 2007a, *In vitro* antioxidant activities of *Rosmarinus officinalis* extracts treated with supercritical carbon dioxide, *Food Chemistry* 101, 1457-1464.

- Yeşil-Çeliktaş, Ö., Hames-Kocabaş, E.E, Bedir, E., Vardar-Sukan, F., Özek, T. and Baser, K.H.C., 2007b, Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. Food Chemistry 100, 553-559.
- Yılmaz A, Ermis E, Boyraz N (2016) “Investigation of in vitro and in vivo anti-fungal activities of different plant essential oils against postharvest apple rot diseases – Colletotrichum gloeosporioides, Botrytis cinerea and Penicillium expansum” Journal of Food Safety and Food Quality-Archiv fur Lebensmittelhygiene, 67:122-131.
- Yiğit, N. ve Benli, M. (2005). Ülkemizde yaygın kullanımı olan kekik (*Thymus vulgaris*) bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 3(8), 1-8. [www.mikrobiyoloji.org/pdf/702050801.pdf](http://www.mikrobiyoloji.org/pdf/702050801.pdf).
- Yahyaoui M, Gordobil O, Diaz RH, Abderrabba M, Labidi J (2016). “Development of novel antimicrobial films based on poly (lactic acid) and essential oils” Reactive and Functional Polymers, 109:1-8.
- Yuan G, Chen X, Li D (2016). “Chitosan films and coatings containing essential oils: The antioxidant and antimicrobial activity, and application in food systems” Food Research International, 89:117-128.
- Zaouali, Y., Messaoud, C., Ben-Salah, A. and Boussaid, M., 2005, Oil composition variability among populations in relationship with their ecological areas in Tunisian *Rosmarinus officinalis* L., Flavour and Fragrance Journal 20: 512-520.
- Wang, W., Wu, N., Zu, Y. G., and Fu, Y. J., 2008: Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components, Food Chemistry, 108, 1019-1022.
- World Health Organization (WHO), 1998. Guidelines for the Appropriate Use of Herbal Medicines. WHO, Manila. WHO Regional Publications, Western Pacific Series no. 23. [[http://www.wpro.who.int/publications/pub\\_9290611243.htm](http://www.wpro.who.int/publications/pub_9290611243.htm)]

## ÖZGEÇMİŞ

Merve Nur ASLAN ÖZ, 1990 tarihinde Balıkesir’de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Balıkesir Karesi ilçesinde tamamlayarak 2010 yılında başladığı Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji bölümünden 2014 tarihinde birincilik ile mezun oldu. 2014 yılında Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim dalında başladığı Yüksek Lisans öğrenimine devam etmektedir. Kendisi aynı zamanda Balıkesir Büyükşehir Belediyesi Kırsal Hizmetler Daire Başkanlığı’nda Ziraat Mühendisi olarak çalışmaktadır.