

**BAZI BİTKİ EKSTRAKTLARININ MISIR VE  
BUĞDAY DANELERİNDE FARKLI DEPOLAMA  
ŞARTLARINDA AFLATOKSİN ÜRETEN KÜFLER  
ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Savaş KARA**  
**Yüksek Lisans Tezi**  
**Zootečni Anabilim Dalı**  
**Danışman: Yrd. Doç. Dr Fisun KOÇ**

**2010**

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

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BAZI BİTKİ EKSTRAKTLARININ MISIR VE BUĞDAY**  
**DANELERİNDE FARKLI DEPOLAMA ŞARTLARINDA AFLATOKSİN**  
**ÜRETEN KÜFLER ÜZERİNE ETKİLERİ**

**SAVAŞ KARA**

**ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN: Yrd. Doç. Dr. FİSUN KOÇ**

**TEKİRDAĞ - 2010**

Yrd. Doç. Dr. Fisun KOÇ danışmanlığında, Savaş KARA tarafından hazırlanan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından. Zootekni Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı : Yrd. Doç. Dr. Fisun KOÇ *İmza:*

Üye : Doç. Dr. Ersin ŞAMLI *İmza:*

Üye : Doç Dr. Ömer ÖKSÜZ *İmza:*

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 26.02.2010 tarih ve 10/19 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Adnan ORAK  
**Enstitü Müdürü V.**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### BAZI BİTKİ EKSTRAKTLARININ MISIR VE BUĞDAY DANELERİNDE FARKLI DEPOLAMA ŞARTLARINDA AFLATOKSİN ÜRETEN KÜFLER ÜZERİNE ETKİLERİ

Savaş KARA

Namık Kemal Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Zootekni Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr Fisun KOÇ

Bu çalışmada bazı bitki ekstraktlarının (kekik, biberiye, defne), mısır ve buğday danelerinde aflatoksin üreten küfler üzerindeki antifungal etkileri farklı depolama şartlarında araştırılmıştır. Baharatların esansiyel yağları metanol ile sürekli soxhalet distilasyon yöntemi ile alınmıştır. Çalışmanın ilk bölümünde esansiyel yağların *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus*'a karşı etkinlikleri disk difüzyon yöntemi ile değerlendirilmiştir. Çalışmanın ikinci bölümünde ise 0,6 aw, 0,77 aw ve 0,9 aw değerlerindeki buğday ve mısır tanelerine eklenen esansiyel yağların *Aspergillus parasiticus* ve *Aspergillus flavus* gelişimi ve aflatoksin oluşumu üzerindeki etkileri farklı depolama sıcaklıklarında (18–22 °C ve 32–36°C) incelenmiştir. Depolama sürecinde 7nci, 14ncü, 21nci ve 28nci günlerde açılarak küf sayımı, Aflatoksin B<sub>1</sub>, nem, aw ve pH analizlerine tabi tutulmuştur. Elde edilen veriler SPSS 16.0 programı yardımı ile Duncan karşılaştırma testleri uygulanmıştır. Farklı su aktivite gruplarının buğday denemelerinde nem, pH ve aw p<0,01 düzeyinde, mısır denemelerinde ise nem ve aw değerlerinin p<0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Farklı esansiyel yağ karışımlarının buğday denemelerinde nem, pH ve Af B<sub>1</sub> p<0,01 düzeyinde, mısır denemelerinde ise nem ve Af B<sub>1</sub> değerlerinin p<0,01 düzeyinde, aw değeri ise p<0,05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Zamana bağlı değişimlerde buğday denemelerinde pH, aw, küf ve Af B<sub>1</sub> p<0,01 düzeyinde, mısır denemelerinde ise nem, pH, aw, küf ve Af B<sub>1</sub> değerlerinin p<0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Farklı depolama sıcaklıklarının buğday denemelerinde nem, pH, küf ve Af B<sub>1</sub> p<0,01 düzeyinde, mısır denemelerinde ise nem, küf ve Af B<sub>1</sub> p<0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur.

**Anahtar kelimeler:** *Aspergillus*, *thymol*, *rosmarin*, *laurel*, Aflatoksin, esansiyel yağ,

## ABSTRACT

MSc. Thesis

### THE ANTIFUNGAL ACTIVITY OF SOME SPICE EXTRACTS ON MOULDS, PRODUCING AFLATOXIN, ON MAIZE AND WHEAT GRAINS IN DIFFERENT STORAGE CONDITIONS

SAVAŞ KARA

Namık Kemal University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Zootchnics

Supervisor: Assist. Prof. Dr Fisun KOÇ

The present study searches the antifungal activities of essential oils of three spices (*Mountayn thyme*, *Laurus nobilis* and *Rosamarinus officinalis*) on maize and wheat grains at different storage conditions. Essential oils are extracted from spices with continuous soxhalet distillation by using methanol. In the first part of the study, the antifungal activities of essential oils against *Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus flavus* are measured by disc diffusion method. In the second part to of the study, the effect of essential oils added to wheat and maize grains on mould growth and aflatoxin B<sub>1</sub> (Af B<sub>1</sub>) accumulation of *Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus flavus* evaluated under different water activity conditions (0.6 aw, 0.77 aw and 0.9 aw) while they are in stores at two different temperatures as 18–22 °C and 32–36°C. On the 7<sup>th</sup>, 14<sup>th</sup>, 21<sup>st</sup> and 28<sup>th</sup> days of the storage period, the growth of mould, the Af B<sub>1</sub> accumulation, moisture, aw and pH values of are analyzed. All data analysis is performed by analysis of Duncan compare tests with SPSS 16.0 program. It is found that there are significant differences between moisture, aw, pH values of wheat grains and also moisture and aw values of maize grains at p<0.01 level for three aw groups. For three different essential oils threatment, there are significant differences between moisture, pH, Af B<sub>1</sub> values of wheat grains and also moisture, Af B<sub>1</sub> values of maize grains at p<0.01. Also there is a significant difference between aw values of maize grains at p <0.05. Furthermore when change of analysis results are evaluated according to time, at p <0.01 there are significant differences between moisture, mould growth, Af B<sub>1</sub> values of both of wheat and maize grains. Finally, at different storage temperatures it is found that there are significant differences between moisture, mould growth, Af B<sub>1</sub> values of both of wheat and maize grains and also pH values of maize grains.

**Keywords :** *Aspergillus*, *thymol*, *rosmary*, *laurel*, aflatoxin, essential oils,

2010 / 132 pages

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim süresince ve çalışmamın her aşamasında bilgi ve deneyimleriyle yol gösterip, sabrı ve anlayışıyla bana örnek olan çok değerli danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Fisun KOÇ'a teşekkür ederim.

İstatistiksel analizlerimin gerçekleştirilmesinde yardımlarımdan dolayı Sayın Doç. Dr. Ersin ŞAMLI'ya, Yrd. Doç. Dr. Levet ÇOŞKUNTUNA'ya teşekkür ederim.

Çalışmanın deney aşamalarında yardımlarını esirgemeyen çalışanlarıma; Münevver ÇELİK, Nuriye ŞİMŞEK, Duygu ÖZER ve İlhami TEKER'e, teşekkür ederim.

Tahılların, baharatların ışınlamasına yardımcı olan GAMMA – PAK'tan Dr. Hasan ALKAN ve ekibine teşekkür ederim.

Çalışmada GC / MS analizlerinin ve HPLC analizlerinin yapılmasını sağlanmasında, TÜBİTAK–MAM küf koleksiyonundan küflerin temininde yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşım – meslektaşım Arzu ERKAN'a teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında yanımda olan, maddi, manevi, teknik bilgisi ile tezin hazırlanmasında her zaman yanımda olan, desteklerini esirgemeyen eşim - meslektaşım Mehtap KARA'ya teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında yanımda olan, maddi, manevi desteklerini esirgemeyen kardeşim Hülya KARA'ya, annem Latife KARA'ya, ve babam Ali KARA'ya ve ailemin diğer fertlerine, numunelerin temininde yardımlarını esirgemeyen arkadaşım Cem ARZİK'a teşekkür ederim.

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Alan (metrekare)	m <sup>2</sup>
Alan (Milimetrekare)	mm <sup>2</sup>
Alan (1 dekar)	da
Metre	m
Cantimetre	cm
Milimetre	mm
Litre	L
Mililitre	mL
Kilogram	kg
Gram	g
Miligram	mg
Nanogram	ng
Milyonda bir kısım	ppm
Milyarda bir kısım	ppb
Saat	h
Gün	d
Dakika	dak., min.,
Saniye	s
Derece	°
Celsius sıcaklık	°C
Madde miktarı	mol
Konsantrasyon (derişim)	C
Molarite	M
Molalite	m
Normalite	N
Hacimce yüzde	% h/h (% v/v)
Yüzde konsantrasyon	%
Ağırlıkça yüzde	% w/w
Su aktivitesi	a <sub>w</sub>
pH	= - log [H <sup>+</sup> ]
Aflatoksin B <sub>1</sub>	Af B <sub>1</sub>
Gram pozitif	Gr (+)

Gram negatif	Gr (-)
Sonuç yok / sıfır	Ø, 0
Kobalt 60 izotopu	Co – 60
Kilogrey Gamma	Kgy
Metil	Me
Etil	Et
n-propil	n-Pr
izo-propil	i-Pr
n-bütil	n-Bu
Tersiyer bütil	t-Bu
Asetil	Ac
Asetat	AcO
Dimetil formamid	DMF
Dimetil sülfoksit	DMSO
Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol	DRBC
Dietilen triamin penta asetik asit	DTPA
Etilendiamin tetra asetik asit	EDTA
Gaz kromatografisi	GC
Gaz sıvı kromatografisi	GLC
Gaz katı kromatografisi	GSC
Yüksek performanslı sıvı kromatografisi	HPLC
Kütle spektroskopisi	MS
Su aktivite	aw



## İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	iv
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ</b>	<b>4</b>
<b>2.1. Araştırma Materyallerine İlişkin Genel Bilgiler</b>	<b>4</b>
2.1.1. Buğday Tarımı ve Ülkemizdeki Yeri,	4
2.1.2. Mısır Tarımı ve Ülkemizdeki Yeri,	5
2.1.3. Kekiğin Özellikleri, Tarımı ve Ülkemizdeki Yeri,	6
2.1.3.1. Kekiğin Tarımı	8
2.1.4. Biberiyenin Özellikleri, Tarımı ve Ülkemizdeki Yeri,	9
2.1.4.1. Biberiyenin Tarımı	10
2.1.5. Defnenin Özellikleri, Tarımı ve Ülkemizdeki Yeri,	11
2.1.5.1. Defnenin Tarımı	12
<b>2.2. Yem ve Gıdalarda Mikrobiyal Gelişmeyi Etkileyen Faktörler</b>	<b>12</b>
2.2.1. Potasyum Sorbat	13
<b>2.3. Küf Gelişimi ve Mikotoksinlerin Oluşumu</b>	<b>14</b>
2.3.1. Mikrobiyal Bulaşmalar ile Oluşan Sorunlar	17
2.3.2. Hayvan ve Sürü Sağlığının Etkilenmesi	17
2.3.3. Sosya Ekonomik Sorunlar	18
<b>2.4. Küflerin Genel Özellikleri</b>	<b>18</b>
<b>2.5. Mikotoksinler ve Özellikleri</b>	<b>19</b>
2.5.1. Aflatoksinler	20

2.5.2. Sterigmatocistin	20
2.5.3. Patulin	21
2.5.4. Penicillin asidi	21
2.5.5. Citrinin	21
2.5.6. Ochratoksin	21
2.5.7. Penitrem	22
<b>2.6. Mikotoksinlerin Dekontaminasyon Yöntemleri</b>	<b>23</b>
2.6.1. Isı ile inaktivasyon	23
2.6.2. Işınlama ile inaktivasyon	23
2.6.3. Kimyasal Yöntemler	24
2.6.4. Biyolojik Yöntemler	25
<b>2.7. Antimikrobiyal Test Yöntemleri</b>	<b>25</b>
2.7.1. Antimikrobiyal maddelerin etkinliğini etkileyen faktörler	26
2.7.1.1. Antimikrobiyal maddelerin kimyasal özelliği	26
2.7.1.2. Antimikrobiyal maddelerin konsantrasyonu	26
2.7.1.3. Uygulama sıcaklığı	26
2.7.1.4. Uygulama süresi	26
2.7.1.5. Çözelti pH'sı	27
2.7.1.6. Ortamdaki organik ve inorganik kir ve kalıntılar	27
2.7.1.7. Diğer faktörler	28
2.7.2. Mikroorganizmalara ait Faktörler	28
2.7.2.1. Mikroorganizmanın Karakteri	28
2.7.2.2. Mikroorganizma çeşidi	29
2.7.2.3. Mikroorganizma Yaşı ve Sayısı	29
2.7.3. Antimikrobiyan Madde Etkinliğinin Test Yöntemleri	29
2.7.3.1. Tüp Dilüsyon Yöntemi	29
2.7.3.2. Agar Diffüzyon Yöntemi	30
<b>2.8. Baharat Bitkilerinin Antibakteriyal ve Antifungal Aktiviteleri</b>	<b>30</b>
<b>3. MATERYAL VE METOD</b>	<b>59</b>
<b>3.1. Materyal</b>	<b>59</b>

3.1.1. Kekik ( <i>Mountain thyme</i> ),	59
3.1.2. Biberiye ( <i>Rosmarinus officinalis</i> )	59
3.1.3. Defne ( <i>Laurus nobilis</i> )	59
3.1.4. Potasyum Sorbat	59
3.1.5. Buğday ( <i>Triticum aestivum L.</i> ) ve Mısır ( <i>Zea mays</i> )	60
3.1.6. <i>Aspergillus flavus</i> ve <i>Aspergillus parasiticus</i>	60
<b>3.2. Metod</b>	<b>60</b>
3.2.1. Laboratuvar Analizlerinin Yapılması	60
3.2.1.1. Nem Analizi	60
3.2.1.2. Su aktivitesi (aw) Analizi	61
3.2.1.3. pH Analizi	62
3.2.1.4. Küf Analizi	62
3.2.1.5. Aflatoksin B <sub>1</sub> Analizi	63
3.2.2. Baharat Bitkilerin Kurutulması ve Öğütülmesi	63
3.2.3. Baharat Bitkilerinin ve Tahılların Gamma Işınlanması	64
3.2.4. Kuru Bitkilerin Metanol Ekstraksiyonu ile Esansiyel Yağ eldesi ve Evaporasyonu	64
3.2.5. Bitki Esansiyel Yağların Fiziksel ve Kimyasal Yapısı	67
3.2.6. <i>Aspergillus flavus</i> ve <i>Aspergillus parasiticus</i> 'un Etkinliklerinin Tespiti	67
3.2.7. Esansiyel Yağların ve Potasyum sorbatın Antifungal Etkinliğinin Belirlenmesi	68
3.2.8. Çalışma Numunelerinin Hazırlanması	68
3.2.8.1. Buğday ve Mısırın Farklı Su aktivite (aw) Değerlerinde Ayarlanması	68
3.2.8.2. Esansiyel Yağ, Küf ve Tahıl Karışımlarının Hazırlanması	70
3.2.8.3. Deneme Materyallerinin Haftalık Analizlerinin Yapılması	72
3.2.8.4. İstatistiksel Analizler	72
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA</b>	<b>73</b>
4.1. Baharat Bitkilerin Kurutulma Verimliliğinin Değerlendirilmesi	73
4.2. Ekstraksiyon Verimliliğinin Değerlendirilmesi	74
4.3. Bitki Esansiyel Yağların Fiziksel ve Kimyasal Yapılarının İncelenmesi	74
4.4. Küf suşlarının Çoğaltılması, Etkinliğinin Tespitinin Yapılması	79
4.5. Esansiyel Yağların ve Potasyum Sorbatın Antifungal Etkinliğinin Değerlendirilmesi	80

4.6. Deneme Materyallerinin Haftalık Analizlerinin Değerlendirilmesi	87
4.6.1. Nem Analiz Sonuçları	87
4.6.2. Su aktivitesi ( $a_w$ ) Analiz Sonuçları	90
4.6.3. pH Analiz Sonuçları	94
4.6.4. Küf Analiz Sonuçları	98
4.6.5. Aflatoksin B <sub>1</sub> Analiz Sonuçları	102
4.6.6. İstatiksel Analiz Sonuçları	106
4.6.6.1. Buğdayın İstatistikî Analiz Sonuçları	106
4.6.6.2. Mısırın İstatistikî Analiz Sonuçları	110
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	<b>115</b>
<b>6. KAYNAKLAR</b>	<b>118</b>
ÖZGEÇMİŞ	132

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.1.1. Buğdaydan görünüm	4
Şekil 2.1.2.1. Mısır bitkisinden görünüm verilmiştir	5
Şekil 2.1.3.1. Kekik bitkisinden görünüm	7
Şekil 2.1.4.1. Biberiye bitkisinden görünüm	10
Şekil 2.1.5.1. Defne bitkisinden görünüm	11
Şekil 2.4.1a. <i>Aspergillus flavus</i> 'un DRBC agarda görünümü	19
Şekil 2.4.1b. <i>Aspergillus parasiticus</i> 'un DRBC agarda görünümü	19
Şekil 2.7.1. Carvacrol ve Thymol molekülerinin yapısı	51
Şekil 3.2.1.2.1. Novasima Labswift – aw cihazdan görünüm	61
Şekil 3.2.1.3.1. Hanna HI 8314 marka pH metre cihazından görünüm	62
Şekil 3.2.4.1. 12 Lt'lik, AISI 304 Soxhalet ekstraksiyon düzeneği	65
Şekil 3.2.4.2. Çalışmanın işlem basamakları	66
Şekil 3.2.8.2. Bitki esansiyel yağları ile hazırlanmış denemelerden örnekler	72
Şekil 4.1.1. Baharat ve Tahılların Gama Işınlama Öncesi Analiz Sonuçları	73
Şekil 4.1.2. Baharat ve Tahılların Gama Işınlama Sonrası Analiz Sonuçları	74
Şekil 4.3.1. Kekiğin ( <i>Mountain thyme</i> ) GC/MS sonuçları	76
Şekil 4.3.2. Biberiye ( <i>Rosmarinus officinalis</i> ) GC/MS sonuçları	77
Şekil 4.3.3. Defne ( <i>Laurus nobilis</i> ) GC/MS sonuçları	77
Şekil 4.5.1. Esansiyel yağların <i>Aspergillus paraticus</i> 'a karşı etkinlikleri	80
Şekil 4.5.2. Esansiyel yağların <i>Aspergillus flavus</i> 'a karşı etkinlikleri	81
Şekil 4.5.3. <i>A. parasiticus</i> 'a karşı esansiyel yağların etkileri	83
Şekil 4.5.4. <i>A. flavus</i> 'a karşı Esansiyel yağların etkileri	84
Şekil 4.5.5. Kekik esansiyel yağının Antifungal Etkilerinin eğimi	85
Şekil 4.5.6. Defne esansiyel yağının Antifungal Etkilerinin eğimi	85
Şekil 4.5.7. Biberiye esansiyel yağının Antifungal Etkilerinin eğimi	86
Şekil 4.5.8. Potasyum sorbatın farklı Antifungal Etkilerinin eğimi	86
Şekil 4.6.1.1. 0,6 aw değerlikli buğday numunelerindeki nem dağılımı	87
Şekil 4.6.1.2. 0,77 aw değerlikli buğday numunelerindeki nem dağılımı	88
Şekil 4.6.1.3. 0,9 aw değerlikli buğday numunelerindeki nem dağılımı	88
Şekil 4.6.1.4. 0,6 aw değerlikli mısır numunelerindeki nem dağılımı	89
Şekil 4.6.1.5. 0,77 aw değerlikli mısır numunelerindeki nem dağılımı	89
Şekil 4.6.1.6. 0,9 aw değerlikli mısır numunelerindeki nem dağılımı	90
Şekil 4.6.2.1. 0,6 aw değerlikli buğday numunelerindeki aw dağılımı	91
Şekil 4.6.2.2. 0,77 aw değerlikli buğday numunelerindeki aw dağılımı	91
Şekil 4.6.2.3. 0,9 aw değerlikli buğday numunelerindeki aw dağılımı	92
Şekil 4.6.2.4. 0,6 aw değerlikli mısır numunelerindeki aw dağılımı	93
Şekil 4.6.2.5. 0,77 aw değerlikli mısır numunelerindeki aw dağılımı	93
Şekil 4.6.2.6. 0,9 aw değerlikli mısır numunelerindeki aw dağılımı	94

Şekil 4.6.3.1. 0,6 aw değerlikli buğday numunelerindeki pH dağılımı	95
Şekil 4.6.3.2. 0,77 aw değerlikli buğday numunelerindeki pH dağılımı	95
Şekil 4.6.3.3. 0,9 aw değerlikli buğday numunelerindeki pH dağılımı	96
Şekil 4.6.3.4. 0,6 aw değerlikli mısır numunelerindeki pH dağılımı	96
Şekil 4.6.3.5. 0,77 aw değerlikli mısır numunelerindeki pH dağılımı	97
Şekil 4.6.3.6. 0,9 aw değerlikli mısır numunelerindeki pH dağılımı	97
Şekil 4.6.4.1. 0,6 aw değerlikli buğday num. mikrobiyal ( $\log_{10}$ kob / ml küf) dağılımı	98
Şekil 4.6.4.2. 0,77 aw değerlikli buğday num. mikrobiyal ( $\log_{10}$ kob / ml küf) dağılımı	99
Şekil 4.6.4.3. 0,9 aw değerlikli buğday num. mikrobiyal ( $\log_{10}$ kob / ml küf) dağılımı	99
Şekil 4.6.4.4. 0,6 aw değerlikli mısır num. mikrobiyal ( $\log_{10}$ kob / ml küf) dağılımı	100
Şekil 4.6.4.5. 0,77 aw değerlikli mısır num. mikrobiyal ( $\log_{10}$ kob / ml küf) dağılımı	101
Şekil 4.6.4.6. 0,9 aw değerlikli mısır num. mikrobiyal ( $\log_{10}$ kob / ml küf) dağılımı	101
Şekil 4.6.5.1. 0,6 aw değerlikli buğday numunelerindeki Af B <sub>1</sub> (ng / g) dağılımı	102
Şekil 4.6.5.2. 0,77 aw değerlikli buğday numunelerindeki Af B <sub>1</sub> (ng / g) dağılımı	103
Şekil 4.6.5.3. 0,9 aw değerlikli buğday numunelerindeki Af B <sub>1</sub> (ng / g) dağılımı	103
Şekil 4.6.5.4. 0,6 aw değerlikli mısır numunelerindeki Af B <sub>1</sub> (ng / g) dağılımı	104
Şekil 4.6.5.5. 0,77 aw değerlikli mısır numunelerindeki Af B <sub>1</sub> (ng / g) dağılımı	105
Şekil 4.6.5.6. 0,9 aw değerlikli mısır numunelerindeki Af B <sub>1</sub> (ng / g) dağılımı	105

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.3.1. Su aktivite değerlerine göre gıda grupları ve olası mikrobiyal floraları	16
Çizelge 2.7.1. <i>Thymbra spicata</i> uçucu yağının antimikrobiyal aktiviteleri	48
Çizelge 2.7.2. <i>Laurus nobilis</i> uçucu yağının antimikrobiyal aktiviteleri	50
Çizelge 2.7.3. Farklı solventlerin aktif oldukları kimyasal kompanantler	56
Çizelge 2.7.4. Bazı Bitkilerin Kompanetleri ve Antimikrobiyal Aktiviteleri	58
Çizelge 3.2.8.1. Numune hazırlama için çalışma deseni	69
Çizelge 4.1.1. Bitkilerin kurutma verimleri	73
Çizelge 4.1.2. Baharat ve Tahılların Gamma Işınlama Öncesi Analiz Sonuçları	73
Çizelge 4.2.1. Bitkilerin ekstraksiyon verimleri	74
Çizelge 4.3.1. Kekiğin ( <i>Mountain thyme</i> ) GC/MS deki kimyasal kompozisyonu	75
Çizelge 4.3.2. Kekiğin ( <i>Mountain thyme</i> ) fiziksel özellikleri	75
Çizelge 4.3.3. Biberiye ( <i>Rosmarinus officinalis</i> ) GC/MS deki kimyasal kompozisyonu	76
Çizelge 4.3.4. Biberiye ( <i>Rosmarinus officinalis</i> ) fiziksel özellikleri	77
Çizelge 4.3.5. Defne ( <i>Laurus nobilis</i> ) GC/MS deki kimyasal kompozisyonu	78
Çizelge 4.3.6. Defne ( <i>Laurus nobilis</i> ) fiziksel özellikleri	79
Çizelge 4.4.1. <i>Aspergillus flavus</i> ve <i>Aspergillus parasiticus</i> 'un etkinlik sonuçları	79
Çizelge 4.5.1. Farklı konsantrasyonlardaki Esansiyel yağların <i>Aspergillus flavus</i> ve <i>Aspergillus parasiticus</i> 'a karşı oluşturdukları inhibisyon zon çap (mm) değerleri verilmiştir.	82
Çizelge 4.6.6.1.1. Buğdayın farklı depolama sıcaklıklarında, bazı (nem, pH, aw, küf ve Af B <sub>1</sub> ) parametrelere ilişkin analiz değerleri	107
Çizelge 4.6.6.1.2. Buğdayın farklı su aktivite (aw) değerindeki bazı (nem, pH, aw, küf ve Af B <sub>1</sub> ) parametrelere ilişkin analiz değerleri	108
Çizelge 4.6.6.1.3.'de Buğdayın farklı bitki esansiyel yağ ve küf suşları ile kontaminasyonunun bazı (nem, pH, aw, küf ve Af B <sub>1</sub> ) parametrelere ilişkin analiz değerleri	109
Çizelge 4.6.6.1.4.'de Buğdayın farklı depolama sürelerindeki değişimlerinin bazı (nem, pH, aw, küf ve Af B <sub>1</sub> ) parametrelere ilişkin analiz değerleri	110
Çizelge 4.6.6.2.1. Mısırın farklı depolama sıcaklıklarında, bazı (nem, pH, aw, küf ve Af B <sub>1</sub> ) parametrelere ilişkin analiz değerleri	111
Çizelge 4.6.6.2.2. Mısırın farklı su aktivite (aw) değerindeki bazı (nem, pH, aw, küf ve Af B <sub>1</sub> ) parametrelere ilişkin analiz değerleri	112
Çizelge 4.6.6.2.3.'de Mısırın farklı bitki esansiyel yağ ve küf suşları ile kontaminasyonunun bazı (nem, pH, aw, küf ve Af B <sub>1</sub> ) parametrelere ilişkin analiz değerleri	113
Çizelge 4.6.6.2.4.'de Mısırın farklı depolama sürelerindeki değişimlerinin bazı (nem, pH, aw, küf ve Af B <sub>1</sub> ) parametrelere ilişkin analiz değerleri	114

## 1. GİRİŞ

Bitki uçucu yağları uzun yıllardan beri değişik amaçlara yönelik, özellikle bilimsel ve ticari olarak birçok alanda kullanılmaktadır. Bu kullanım alanlarının başında kozmetik, ilaç, gıda sanayi, aroma terapi ve fitoterapi gelmektedir (Hammer ve ark. 1999, Çelik ve Çelik 2007). Uçucu yağlar geniş bir kullanım alanına sahip olduğu için son zamanlarda birçok bilim adamının ilgisini çekmiş ve bu uçucu yağların kimyasal yapıları incelenmiş biyolojik aktiviteleri merak konusu olmuştur. Bu araştırmalar sonucunda da doğal ürünlerin özellikleri uygulamaya konulmuştur (Mouhssen 2004, Çelik ve Çelik 2007).

Bitkisel uçucu yağların bitki kimyasında önemli rolleri bulunmaktadır. Hücreler arasında bulunan bu uçucu yağlar bilgilerin taşınmasında görev yaparlar. Dengeleyici ve dış etkenlere karşı koruyucudurlar. Önemli hormonlar uçucu yağlarda bulunurlar. Bu değerli yağlar bitkilerin çiçek, meyve, kabuk, yaprak, rizom, reçine ve odun kısımlarından elde edilmektedir (Anonymous 2009c).

Günümüzde tıbbi bitkilerin ve bu bitkilere ait uçucu yağların saf ve özellikle ana etken maddelerinin elde edilip değerlendirilmesi hem bilimsel hem de ekonomik yönden oldukça önemlidir. Elde edilen sonuçlar, bu bitkilerin uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitelerinin olduğunu göstermektedir. Uçucu yağ ve bileşenlerinin farmakolojik özellikleri de incelenerek tıp, kozmetik ve diğer endüstriyel alanlarda kullanılabilme imkânlarının yararlı olabileceği belirtilmektedir (Kırbağ ve Bağcı 2000, Çelik ve Çelik 2007).

Son yıllarda gıdaların ve yem karmalarının saklanması, zamana karşı dayandırılması için kullanılan koruyucu kimyasalların yerine kullanılacak alternatif doğal koruyuculara ilgi önemli ölçüde artmıştır. Bazı baharatlar ve bitkilerden elde edilen esansiyel yağlar, sahip oldukları antimikrobiyal aktiviteden dolayı gıda ve yem sanayinde kullanılan koruyucu maddelere alternatif olabilirler. Bu bileşiklerin gıda ve yem katkıları gibi kullanılmalarında, gıda ve yem kaynaklı zehirlenmelere neden olan patojen mikroorganizmaların gelişmesini inhibe etmeleri ya da gıda ve yem bozulmalarının gecikmesini de teşvik etmelerinin önemli payları vardır (Nychas 1995, Tassou ve ark. 2000, Cang ve ark. 2001, Ultee ve Smid 2001, Uçan 2008).



İlaçlarda selüloz, nişasta, pektin, protein, şeker gibi tedavi yönünden etkisiz maddeler yanında çok az miktarlarda bile, farmakolojik etkilere sahip bileşikler de bulunmaktadır. Bu bileşiklere "etkili madde" ismi verilmektedir. Bu maddelerden biri olan esanslar, esas itibarıyla terpenlerden oluşmuş karışımlardır. Oda sıcaklığında sıvı, bazen donabilen uçucu, kuvvetli kokulu ve yağimsı karışımlardır (Tanker ve ark. 1990, Çelik ve Çelik 2007). Su buharı ile sürüklenir, suda çözünmez, organik çözücülerde kolaylıkla çözünürler. Özellikle çiçek ve meyvelerde bulunmakla beraber bitkinin diğer organlarından da elde edilebilirler. Bu amaçla su buharı distilasyonu veya organik çözücüler ile ekstraksiyon yöntemleri kullanılmaktadır (Baytop ve Başer 1995).

Uçucu yağlar ya bitkinin belirli organlarında örneğin taç yaprak, yaprak, meyve, kabuk, meyve sapı, odunsu doku gibi ya da bitkinin tüm organlarında ayrıca bazen bir organın belirli dokularında da bulunabilirler. Bu yağlar bitkilerin bağlı bulunduğu familyalara göre salgı tüyünde, salgı ceplerinde, salgı kanallarında veya salgı hücrelerinde bulunmaktadır. Bugüne kadar uçucu yağlarda 2000'den fazla kimyasal bileşenlerin bulunduğu gösterilmiştir ki, bunların en önemlileri terpenler, fenilpropanlar vs.dir. Ayrıca çok sayıda su buharında uçucu olan azot ve kükürt içeren bileşiklerin varlığı da görülmüştür. Bu maddeler fizyolojik etkileri nedeni ile bazen tek tek veya bazen de karışım şeklinde terapide kullanılmaktadırlar (Ceylan 1987, Çelik ve Çelik 2007).

Uçucu yağlar eski çağlardan günümüze kadar tedavide kullanılan ilaçlar arasında yer almaktadırlar (Kubeczka 1979). Halk tıbbında kullanılma amaçları esas alınarak bu ilaçlar üzerinde yapılan farmakolojik araştırmalar sonucunda bazı biyolojik etkileri bilimsel olarak da açıklanmıştır (Şarer 1991, Kıvanç ve Akgül 1986, Deans ve Dorman 2000).

Baharatlar ve esansiyel yağlarının antimikrobiyal etkileri, esansiyel yağın konsantrasyonuna, miktarına, etki ettiği mikroorganizma grubuna, mikroorganizma sayısına, saklama sıcaklığına, ortamda bulunan suya, ortamın su aktivite değerine, asitliğine, tuz konsantrasyon değerine göre farklılık gösterdiği uzun zamandan beri bilinmektedir. Baharat bitkilerinden elde edilen ekstraktların gıdalarda ve yemlerde doğal koruyucu olarak kullanılması ile ilgili çalışmalar her geçen gün önem kazanmaktadır. Eczacılık, gıda, yem, parfüm ve kozmetik gibi birçok alanda kullanılan hammaddeler olmaları nedeni ile doğal bitkiler ve esansiyel yağlar, anti mikrobiyal etkileri açısından çok sayıda araştırmada ele alınmış ve koruyucu etkilerin

olduğuna dair önemli sonuçlar elde edilmiştir (Farag ve ark. 1989, Aureli ve ark. 1992, Akın 1996, Nielson ve Rios 2000, Karanika ve ark. 2001, Uçan 2008).

Günümüzde esansiyel yağ bileşenleri, antimikrobiyal, antifungal, antioksidatif aktivitelerinden dolayı gıda ve yemlerin saklanması, dayanıklılığının artırılmasında doğal antimikrobiyallerin kaynağı olarak büyük ilgi görmektedirler (Ultee ve ark. 2000, Periago ve Moezelaar 2001, Uçan 2008). Doğal antimikrobiyal bileşiklerin gıda ve yemlerin dayanıklılığının artırılmasında kullanılmasının dışında bitki, hayvan ve insan hastalıklarının kontrolünde de eski zamanlardan beri var olan bir uygulamadır (Barata ve ark. 1998, Uçan 2008). Bitkisel ekstraktların antimikrobiyal aktivitelerin araştırmaları; yüksek bitkilerin, yeni antiinfektif maddelerin potansiyel bir kaynağı olmadıklarını (Pres 1996, Uçan 2008) bununla birlikte asıl öncü bileşimler doğal ürünlerden ilaçların ortaya çıkarılmalarına yardımcı olduklarını göstermektedir (Lawrence 1999, Ojala ve ark. 2000).

Baharat bitkilerin esansiyel yağları, bitkilerin farklı kısımlarının soğuk preslenmesi veya distilasyonu ile elde edilir. Bitkilerin esansiyel yağları önemli ölçüde antimikrobiyal etki gösterirler. Ancak kompleks ve değişken yapıda olmaları, bu etkilerinin belli bir bileşenle ilişkilendirilmesini zorlaştırmaktadır. Esansiyel yağların bileşenlerinin olası antagonistik ve sinerjik etkileri söz konusu olabilir. Esansiyel yağların antimikrobiyal etkileri aromatik halkalı C<sub>10</sub> ve C<sub>15</sub> terpenlerin varlığı ve fenolik hidroksilik gurubun bazı enzimlerin aktif merkezleri ile hidrojen bağı oluşturabilmesi ile açıklanmaktadır. Bununla beraber, diğer aktif terpenler, alkoller, aldehitler ve esterler de esansiyel yağların toplam antimikrobiyal etkisine katkı yapabilirler (Juven ve ark. 1994, Deans ve Dorman 2000, Uçan 2008). Esansiyel yağlarda bulunan terpenler, oksijenle doymuş ve uçucu olmayan bileşikleri içeren 100'den fazla bileşiğin karışımından meydana gelir.

Esansiyel yağların kompleks ve değişken yapıda olmalarından dolayı antimikrobiyal etkilerinin belli bir bileşenle ilişkilendirilmesini zorlaştırmaktadır. Esansiyel yağların bileşenlerinin olası antagonistik ve sinerjik etkileri söz konusu olabilir. Bu çalışmanın amacı; baharat bitkilerinin esansiyel yağlarını alarak bazı küfler üzerine olan etkilerini disk difüzyon ve minimum inhibe edici konsantrasyon (MİK) testleri ile tespitinin yapmak, dane yemler hazırlanan karışımlarının depolama süreçlerine olan etkilerinin ölçülmesi, kimyasal katkıların yerine alternatif olarak kullanılıp kullanılmayacağı araştırmaya çalışılmıştır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1. Araştırma Materyallerine İlişkin Genel Bilgiler

#### 2.1.1. Buğday Tarımı ve Ülkemizdeki Yeri

Ülkemizde buğday 92.530.333 dekar alana ekilmekte ve 19.289.333 ton üretim gerçekleşmiştir (Anonymous 2009b). Buğday dünya genelinde ve ülkemizde çok geniş bir yayılma göstermiş çeşitli iklim ve toprak şartlarına uyum sağlayan bir bitkidir. Belirgin bir toprak seçiciliği göstermeyen bir yapısı vardır. Bununla birlikte belli cins, tür ve çeşitler için en uygun olan toprak tipleri de vardır. Genellikle tınlı alüviyal topraklar buğday için uygundur. Buğday toplam ekilen tahılların içerisinde % 66 lık bir oran ile ekilebilir alanlarımızın nerede ise birçoğunda ekilmektedir. Hızla artan nüfusumuzun beslenmesi ve stratejik bir ürün olan buğdayda dünyanın gerisinde kalmamak için hububat yetiştiriciliğinde yetiştirme tekniğine uygun olarak üretim yapmamız gerekmektedir.

Ülkemiz için ana ürün olan buğday bitkisi bizden günümüzde verim ve kaliteyi bir arada bulandıran tarımsal uygulamaları talep etmektedir. Un, makarna ve misküvi sanayinin talep ettiği buğdayı üretmemiz bunu yaparken de ülkemizin iklim koşulları başta olmak üzere dikkate almamız gerekmektedir. Şekil 2.1.1.1. Buğdaydan görünüm verilmektedir.



Şekil 2.1.1.1. Buğdaydan görünüm

Ülkemizde ekimler için en uygun ekim zamanı Eylül–Ekim dönemleri en uygun zamanlardır. Bu tarihlerde ekilen buğdayın çim kökleri kışa kadar geliştirecek bu sayede kışı daha kuvvetli geçirecek ve kıştan çıktıktan sonra baharda daha çabuk gelişip verimi artacaktır. Uygun sıklıkta ekilen buğday yağışın iyi olduğu yıllarda zaten kardeşlenmeyi arttırarak tarlayı kapatacaktır. Sulu şartlarda ise sık ekim cılız dane ve kalite sorunlarına sebep olmaktadır. Ekim sırasında tohumlarımız mikrobiyal hastalıklara, ekin kurduna (zabrus) karşı ilaçlanmış olmalıdır. Hasat zamanı danedeki nem miktarı %13,5 e düştüğü zamandır. Hasatta geç kalınır ve nem %12 nin altına düşerse fabrikasyon işlemleri zorlaşacak ve kalite bozulacaktır (Süzer 2007).

### 2.1.2. Mısır Tarımı ve Ülkemizdeki Yeri

Ülkemizde mısır 2.345.575 dekar alana ekilmekte ve 2.611.132 ton üretim gerçekleştirilmiştir (Anonymous 2009b). Yem ve silaj için ekimi yapılan mısır, toplam ekilen yem bitkileri içerisinde % 22,8 lik ekim alanına sahiptir. Mısır çok değişik iklim koşullarında yetişebilen bir bitkidir. Literatürler tane mısırın 55<sup>0</sup> kuzey - 40<sup>0</sup> güney enlemleri arasında ve denizden 3800 m yüksekliğe kadar olan yerlerde yetişebileceğini; bu alan içinde 60 cm 'den 6–8 m 'ye varan ve 60 – 70 gün ile 330 gün arasında olgunlaşabilen çok değişik çeşitlerin olduğunu bildirilmektedir. Mısır bitkisinden görünüm Şekil 2.1.2.1 'de verilmiştir.



Şekil 2.1.2.1. Mısır bitkisinden görünüm verileri verilmiştir

Mısır tohumunun çimlenebilmesi için sıcaklık 10 °C 'nin üzerinde olmalıdır. Çimlenme ve özellikle bitkinin toprak yüzeyine çıkışı, toprağın 10 cm derinliğindeki sıcaklık 16–18 °C olduğunda daha üniform ve daha hızlı olmaktadır. Toprak sıcaklığı 20 °C olduğunda ise bitki, ekim gününden 5 – 6 gün sonra toprak yüzeyine çıkabilmektedir. Mısır üretim sezonunda ortalama gece sıcaklığı 13 °C altına düşüyor ve gündüz ortalama sıcaklığı 45 °C nin üzerine çıkıyorsa bu bölgelerde mısır bitkisi yetiştiriciliği mümkün olmamaktadır. Sıcaklıkların 35 °C nin üzerinde olması verimi azaltır. Tozlanma süresince yüksek sıcaklık ile düşük bağıl nem birleşirse tozlanma ve dölllenme üzerinde olumsuz bir etki meydana gelir. Buna ek olarak toprak nemi de düşük ise koçanda düşük tane oluşumu meydana gelerek koçan püskülü oluşumu geçikir ve verim azalır.

Mısır bitkisi diğer birçok tahıllara göre, suyun hem az oluşuna ve hem de aşırılığına hassastır. Mısır, büyüme sezonu süresince büyük miktarda organik madde miktarı oluşturur ve dolayısıyla su ihtiyacı yüksektir. Tahıllar çiçek çıkarma ve püskül oluşumu süresince en yüksek derecede neme ihtiyaç duyar. Bu yüzden mısır bitkisi aşırı su isteyen bir yapısı vardır. Mısır için ideal topraklar; derin, iyi yapılı, iyi havalanabilen, iyi drene olabilen, organik maddece zengin, tarla su tutma kapasitesi yüksek olmalıdır. İdeal pH değerleri 6 – 7 dir. En kötü değerler ise 4,5 ile 8,5 tur.

Mısırın hasadına karar vermek için en iyi yol tane rutubetini ölçmektir. Rutubet ölçme imkânının olmadığı durumda ise genel bir ifade ile koçanı saran kavuzların tamamen sarardığı ve koçan üzerindeki tanelerin ucunda "siyah noktacak" meydana geldiği görüldükten sonra uygun bir dönemde hasat yapılabilir. En uygun hasat nemi % 21 – 28 arasında olması gerekmektedir (Anonymous 2008).

### **2.1.3. Kekiğin Özellikleri, Tarımı ve Ülkemizdeki Yeri**

Çalı ya da çalimsı görünümde ve kokulu olan kekikler (labiatae) lamiaceae familyasının dünya üzerinde 40 türle temsil edilen bir cinstir. Genellikle derin olmayan gevşek, ılımlı, humuslu ve kalkerli toprakları seven bu bitkiler Avrupa ve Asya'da, akdeniz bölgesinde, kuzey Afrika'dan Habeşistan' a kadar uzanan yerlerde ve Kanarya adalarında bulunmaktadır. Ülkemizde ise yaklaşık olarak 35 kadar kekik türü 1500 m rakıma kadar olan yerlerde ve yaylalarda yaygın olarak bulunurlar. Bu türlerden bir kısmının endemik olduğu literatürlerde yer almaktadır.



Ülkemizde 14 âdeti endemik olarak yetişen 37–40 arasında tür mevcuttur. *Thymus vulgaris*, (adi kekik, kekik, büyük kekik, sater) ülkemizde doğal olarak yetişmez. *Thymus serpyllum* (kır kekiği, yabani kekik, kekik, sater) ülkemizde, Asya ve Avrupa'da yaygındır. Ülkemizde yaygın olduğu yerler: Bursa, İzmit, Doğu Karadeniz, Kayseri' dir. *Thymus longicaulis sp. Chavbardii var. Antelyensis*, Antalya'da yetişen endemik taksonlardan'dır. Beyaz kekik batı ve Güney Anadolu bölgesin' de kurak yerlerde yetişir. Yabani kekik, Akdeniz bölgesi ve Anadolu' da pek çok varyetesi var. İzmir Kekiği ya da Peynir kekiği, Batı ve Güney Anadolu genel yayılış sahasıdır. İstanbul Kekiği ya da Mercan Köşk Ender olarak da eşek kekiği olarak anılır. Trakya ve Batı Anadolu genel yayılış sahasıdır. Beyaz Kekik, Güney ve Batı Anadolu'da bilhassa Manisa ve Muğla civarında yayılış gösterir. Farklı yerlerde yetiştirilen kekiklerden görünümeler Şekil 2.1.3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1.3.1. Kekiklerden görünümeler

Kekik türleri dezenfekte edici ve balgam söktürücü olarak eski zamanlardan beri bilinmektedir. Etken maddesi olan eterli uçucu yağlar kana karışıp, bronşiyal kasları etkileyerek, krampları çözücü özelliğindedir. Aynı zamanda o bölgelerde bakteri oluşumunu da önler. Öksürük ve üst solunum yolları iltihabında çay içimi ve gargara biçiminde kullanılmaktadır.

İlaç sanayinde antiseptik imalatında kullanıldığı gibi bronşlardaki koyu kıvamlı salgıyı sıvılaştırdığından öksürük şuruplarının bileşimine girer. Antibiyotik etki olarak mikroorganizmaların üremesini geciktirdiği veya tamamen durdurduğu için, ağız antiseptiği olarak gargara yapımında faydalanılmaktadır. Derideki mantar hastalıklarına karşı inhibör etkisi olduğundan, mantar ilaçlarının bileşiminde de yer almaktadır. Kimya sanayinde ise değerli bir kimyasal madde olan timolun elde edilmesinde kullanıldığı gibi parfümeri ve kozmetik sanayinde de banyo köpüklerinin yapımında ve problemlili ciltlerin tedavisinde kullanılmaktadır. Dolaşım uyarıcısı, antispazmatik, idrar söktürücüdür. Düşük dozlarda kullanıldığında balgam söktürücü, yüksek dozlarda alındığı takdirde antiseptik ve bazı barsak kurtlarını düşürücü etkisi vardır.

### **2.1.3.1. Kekiğin Tarımı**

Kekik bitkisi 50–100 cm boylanabilen, yarı çalimsı, çok yıllık bir bitkidir. Buğday tarımı yapılmasının uygun olmadığı kır, yamaç ve taşlık alanlarda yetişebilmekte ve tahıllara göre birim alandan daha fazla gelir sağlamaktadır. Uzun süre yeşil kalması nedeniyle yamaç alanlarda erozyonu önlemek amacıyla örtü bitkisi olarak kullanılmaktadır. Elde edilen ürün ham veya işlenmiş olarak yurtdışına ihracı ile döviz girdisi sağlamakta ve kırsal alanlarda göçü belirli oranda düşürmektedir. Son yıllarda doğada yoğun olarak bulunan kekik türlerinin bilinçsiz, gelişi güzel ve kontrolsüzce toplanması endemik türlerin yok olmasına ve erozyonun artmasına yol açmaktadır. Ayrıca doğadan toplamada, türlerin birbirine karışması ve erken hasat gibi nedenlerle ürün kalitesi düşmektedir. Orta Avrupa koşullarında ilk yıl 100 – 150 kg/da, ikinci yıl 200 – 450 kg/da kuru herba, 1000 – 1800 kg/da yaş herba alınmaktadır. Üçüncü yıl verim azalır. Genelde 3 yıl için üretim yapılır (Bayram 2004).

Ülkemizde son 4 yılda kekik için ayrılan 32.831 dekar ekilir alan oluşmuştur. Buna karşın 4.000 ton üretim gerçekleştirmiştir. Son dört yılın ortalama 122 Kg / da kekik elde edilmiştir (Anonymous 2009b).

Bu çalışmamızda halk arasında şifalı bitki olarak bilinen kekik bitkisi seçilmiştir. Kekik bitkisi çimenlik tarla kıyılarında, orman kıyılarında ve çayırıldaki karınca yuvalarının üstünde yer almaktan hoşlanan bir bitkidir. Güneş ve sıcak istediği için, toprak sıcaklığının fazla olduğu kayalık ve dağlık bölgelere çoğalır. Kendilerine özgü bir kokuya sahiptir. Eterli uçucu yağ;

Thymol (%50 civarında), Carvacrol, Borneol, Cymol, Pimen, Tanen ve flavonlar içerdiği bilinmektedir. Kekik öncelikle baharat olarak kullanılmaktadır. Yağlı ve ağır yemeklerin tadını zenginleştirmede, sindirimi rahatlatmada önemli rolleri bulunan bir baharattır.

#### **2.1.4. Biberiyenin Özellikleri, Tarımı ve Ülkemizdeki Yeri**

Dünyanın birçok yerinde kültürü yapılmaktadır. Başta Türkiye olmak üzere özellikle Akdeniz'e kıyısı olan ülkelerde 1500–1700 m yüksekliklere kadar yetişme ortamı bulmuştur. Çok sayıda varyete ve forma sahiptir. Akdeniz havzası başta olmak üzere ılıman ve sıcak iklim bölgelerinde kültüre alınmıştır. Akdeniz ülkelerinde yabani olarak yetişir. Yayıldığı ülkeler Portekiz, Yugoslavya, Fransa, İspanya, Tunus, Fas, Cezayir ve İtalya'dır.

Ülkemizin batı ve güney kıyılarında yabani olarak yetişir. Park ve bahçelerde yetiştirilir. Baharat v.b. amaçlarla kültürü yapılamaz. Baharat olarak da fazla kullanılmaz. Uçucu yağ üretimi yok denecek kadar azdır. Bunun yanında, birçok ülkede doğal yetişen biberiye toplanmakta ve değerlendirilmektedir. Ancak istatistiği tutulmamaktadır. Bu nedenle rakamla ekonomik önemi belirtilememektedir.

Çalimsı karakterli bir bitkidir. Sapı lifsi yapıda, ince, narin, çok dallı ve diktir. Genç dalları dört köşelidir. Yaprakları karşılıklı, sapsız ve kulakçısızdır. Yaprakları çam yapraklarına benzer. Yaprak ayası uzunca, oldukça etli, üst tarafı tüysüz, koyu renkli; alt tarafı ise çok tüylü ve beyazımsı yeşil renklidir. Yaprak kenarları alt tarafa doğru kıvrık olup kışın yapraklarını dökmez. Yaprakları dil şeklinde, 2–3 cm uzunlukta, 2–4 mm genişliktedir. Yaprak ayası derimsi, dar, şeritsi veya mızraksıdır. Yaprak ucu küttür. Taban kısmı çok kısa sap şeklinde daralmıştır. Şekil 2.1.4.1 de görülmektedir.

Çiçekleri, dalların ucunda ve yaprak koltuklarında küçük topluluklar halindedir. Bütün sene çiçeklidir. Ve çiçekleri bir eksen üzerinde salkım şeklindedir. Çanak yaprakları tüp şeklinde, iki dudaklı ve çok tüylüdür. Taç yaprakları da tüp şeklinde ve iki dudaklıdır. Çiçekleri mavimsi beyaz, mor ve eflatun renklidir. Üst dudakta iki dar lop, alt dudakta üç dar lop bulunur. Alt dudağın orta lobu diğerlerinden daha büyük ve çukurdur. Stamerler iki tanedir. Flament, korolla tüpünden daha uzun, kıvrık, mor renklidir ve tabanında küçük bir diş yapısında çıkıntısı vardır. Dişi organ iki karperli, stilusu uzun ve kıvrık, stigması iki



parçalıdır. Çiçeklerinde nektarium bulunur. Meyvesi esmer, küçük fındıksı yapıdadır. Yapraklarında % 8 tanen, % 1–2 uçucu yağ ve acı maddeler bulunur.



Şekil 2.1.4.1. Biberiyeden görünümler

Gıda sanayinde baharat ve yan ürünleri başta olmak üzere, alkolsüz içecek, çeşni ürünü ve etlerde, ayrıca şekerleme, dondurma ve fırın ürünlerinde kullanılır. Gıda sanayinin kullanımının dışında, son zamanlarda sentetikler kadar etkili biberiye antioksidanları üretilmekte ve değerlendirilmektedir. Ayrıca parfümeri, kozmetik ve eczacılıkta kullanılır. Özellikle spazm çözücü, romatizma, gargara, travma, burkulmalara karşı fiziksyon, idrar söktürücü, tencer, ateş düşürücü, astım ve birçok hastalığa karşı faydalıdır.

#### **2.1.4.1. Biberiye Tarımı**

Yetiştirildiği yerler yazları kurak, kışları yağışlı geçen bölgelerdir. 1500–1700 m yüksekliğe kadar yayılmasında iklim değişikliklerine dayanıklı olması ve serin iklim koşullarında da rahatlıkla üretilmesi etkindir. Toprak isteği yönünden fazla seçici bir bitki değildir. Kendisi doğal olarak yetişmekte olan bir bitkidir. Tohumlarını saçarak koloniler oluşturmaktadır. Tohumları ekilerek kolay üretilmediği gibi, çok koku yayan biberiye bitkileri vejetatif olarak çelik alma yoluyla da üretilir. Bahçelerde, tarlalarda ve kısmen gölgelik yerlerde rahatlıkla yetiştirilir. Ticari olarak değerlendirilmesi son yıllarda olmasından dolayı tarımsal verilere ancak İzmir ilinde rastlanılmıştır. İzmir tarım verilerine (2002 – 2006) göre ortalama 28 ton / yıl biberiye hasat edilmiş (Anonymous 2009b).

### 2.1.5. Defnenin Özellikleri, Tarımı ve Ülkemizdeki Yeri

Defne, *Lauraceae* familyasının *Laurus* cinsine ait piramidal şekilli ağaç ya da büyük çalı formunda bir bitkidir. Tropik ve subtropiklerde 2200 kadar türü vardır. Bunlardan *L. nobilis* Akdeniz bölgesinde maki elemanı olan tipik küçük ağaçlardır. Çoğu tropikal bölgelerde ve Akdeniz havzasında da yetişir ve kışın yapraklarını dökmez. Tüysüz 2 evcikli bir çalı veya 10 m yüksekliğe ulaşan bir ağaçtır. Gövdenin koyu, gri, siyaha yakın düzgün, kabuğu vardır. Taze sürgünler yeşil sonraları kırmızı siyah ve tüysüzdür. Defnenin yapraklarında bitkiye özel kokusunu veren esansiyel yağlar ve %50 oranında cineol bulunur. Ayrıca eigenol ve  $\beta$  ve  $\alpha$  pinenler, phellandren, linalool, geraniol, asetil eigenol, metil eugenol ile terpineol ihtiva etmektedir (Cengiz 1979, Baytop 1991, Floridata 1996, Laurel 1998, Ölmez 2004, Toroğlu ve ark. 2006). Defnenin meyveleri kaynatılarak tehnel yağı elde edilir. Şekil 2.1.5.1'de Defneden görünüm verilmektedir.



Şekil 2.1.5.1. Defneden görünüm

Defnenin yapraklarından ve meyvesinden yararlanılır. Defne yaprakları kuru meyvelerin ambalajlanmasında, balık ve konservede, kuru halde et yemeklerinde ve toz halde baharat olarak kullanılmaktadır. Defnenin parfümeri, sabun, gıda, ilaç ve cila ile kimya sanayiinde geniş bir kullanımı bulunmaktadır. Toplam defne üretiminin %20'si sabun sanayiinde kullanılmaktadır. Defnenin en önemli ürünü, yağı ve esansıdır. Defne yağı defne meyvelerinden; defne esansı ise, defne yaprağı ve meyvesinden çıkartılan yağdan elde edilir.

### **2.1.5.1. Defne Tarımı**

Defne yaprağının toplama mevsimi bitkinin vejetatif büyümesinin durduğu Temmuz - Ekim ayı arasındadır. Defne meyveleri Eylül - Ekim aylarında olgunlaşanların toplanması ile elde edilir. Toplanan meyvelerin küflenmeden işlenmesi veya uygun bir biçimde depolanması gerekmektedir. 2 kg yaş defne yaprağından 1 kg kuru yaprak elde edilir. 10 kg meyveden 1 kg yağ elde edilmektedir. İhracatçı birlikleri, özellikle İzmir- Karaburun yarımadasında yayılış gösteren defneleri, yaprak formu ve aromatik özellikler bakımından tercih etmekte ve daha iyi fiyat vermektedir. 15 – 20 sene önce Karaburun yarımadasından yıllık 300 ton yaş defneyaprağı üretildiği, son yıllarda ise aynı yarımadadan birkaç ton yaş yaprak alınabildiği belirtilmektedir (Anonymous 2009e).

Ülkemizde birçok coğrafyada yetişen defne için tarımsal değerleri 1990 yılından sonraki dönemlerde rastlanılmıştır. Bu veriler ışığında ortalama 5.299 ton / yıl şeklinde gerçekleşmiştir (Şafak ve Okan 2004, Anonymous 2009c).

## **2.2. Yem ve Gıdalarda Mikrobiyal Gelişmeyi Etkileyen Faktörler**

Mikroorganizmalar yem ve gıdalarda olumlu olumsuz bir dizi değişimlere neden olurlar. Yem ve gıdalarda gelişen patojen mikroorganizmalar veya bunların toksik metabolitleri ise gıda ve yemin tüketimine bağlı olarak canlıda sağlık sorunlarına neden olmaktadır. Mikroorganizmaların yem ve gıdalarda gelişmesi yemin veya gıdanın sahip olduğu karakteristik özelliklere, yem ve gıdada bulunan mikroorganizmalar arası etkileşimine, yem ve gıdanın içinde bulunduğu çevre koşullarına bağlı olarak değişebilmektedir.

Yem ve gıdalarda mikrobiyel gelişmeyi etkileyen faktörler iç ve dış faktörler olarak iki gruba ayrılır. Yem ve gıdanın sahip olduğu kendine ait özellikleri “iç faktörler”, yem ve gıdanın içinde bulunduğu çevre koşullarını ise “dış faktörler” olarak tanımlamak daha doğru olacaktır.

## **İç Faktörler**

Yem ve gıdanın sahip olduğu kendine ait özellikleri;

- I. Su aktivitesi,
- II. Antimikrobiyal bileşikler (inhibitörler),
- III. pH,
- IV. Oksidasyon / Redüksiyon Potansiyeli (O/R: Eh),
- V. Besin içeriği ve
- VI. Koruyucu biyolojik yapılar

## **Dış Faktörler**

Yem ve gıdanın içinde bulunduğu çevre koşullarına;

- I. Sıcaklık,
- II. Çevrenin nisbi nemi ve
- III. Çevredeki gazlar ve konsantrasyonları

İç ve dış faktörlerin değişmesi mikrobiyal gelişimi olumlu veya olumsuz yönde değiştirecektir. Çalışmada iç faktörlerden sadece oksidasyon/redüksiyon potansiyeli dikkate alınmamıştır. Yine çalışmada dış faktörlerin tamamı göz önünde bulundurularak çalışma tasarlanmıştır (Ünlütürk ve Turantaş 1996).

### **2.2.1. Potasyum Sorbat**

Doymamış bir karboksilik asittir. Sudaki çözünürlüğü düşüktür. 20 °C'de 0,16 g/100 ml, 20 °C'de alkol, propilen glikol ve sıvı yağdaki çözünürlüğü 14,8 g/100 ml, 5,5 g/100 ml ve 0,52 g/100 ml'dir. Sorbik asit ve sodyum ve potasyum tuzları düşük konsantrasyonları peynir, meyve suları, ekmekçilik ürünleri, kurutulmuş meyve ve sebzeler, kuru tahıllar, gazlı içecekler, turşu ve silajlarda antimikotik etkisinden dolayı küf ve maya engelleyici olarak kullanılabilir. Tüm katı gıda ve yemlerde tuz, un veya mısır nişastası ile karıştırılarak ilave edilerek kullanılmaktadır. Üretim proseslerinde ısı işlem uygulaması var ise potasyum veya sodyum sorbat etkinliği azalmaktadır. Potasyum sorbat suda 20 °C'de suda çözünürlüğü 139,2 g/100 ml, alkolde 20 °C'de 200 g/100 ml'dir. Sudaki çözünürlüğünün yüksek olması nedeni ile daldırma ve püskürtme uygulamalarında potasyum sorbatın yüksek konsantrasyonu kullanılır. Sorbik asit ve tuzları küf ve mayalara karşı geniş spektrumlu antifungal etkiye sahiptir. Bakterilere karşı etkisi çok azdır. Sorbatlar pH 6,5 ve daha düşük pH'larda optimum

etkiye sahiptir. Sorbatların antimikrobiyal etkileri ortamın pH'sı düştükçe artmaktadır. Ortamda tuz molekülü bulunduğunda yani iyon değeri arttıkça etkisi artmaktadır (Ünlütürk ve Turantaş 1996a-b).

Sorbik asitler veya sorbatlar vücutta diğer yağ asitleri gibi metabolize edilmektedir. FDA'nın yaptığı toksisite çalışmaları sonucunda güvenli olarak tanımlanmışlardır. Sorbatlar yem ve gıdalara püskürtme veya daldırma yöntemi ve ambalajlar üzerine uygulanabilir. Kuru meyve sebzeler, kuru baklagillere, tahıllara, turşu ve silajlara püskürtme veya daldırma yöntemi ile uygulanır.

### 2.3. Küf Gelişimi ve Mikotoksin Oluşumu

Yem ve gıdaların mikrobiyal florasını, yem - gıda hammaddesinde doğal olarak bulunan mikroorganizmalar ile depolama, taşıma ve işleme gibi faaliyetler sırasında dış çevrelerden bulaşan mikroorganizmalar oluşturur (Tunçel 1993). Yem hammaddelerinin işlenerek kesif yem haline gelebilmesi için geçen sürede bulaşmanın nicelik ve nitelikleri, sonuçta oluşacak bozulma veya zararlanmaların şeklini ve boyutunu belirler. Mikroorganizmalarla oluşan, üründe bozulma veya hayvanda yem kökenli hastalık ve zehirlenmelere kadar yol açabilen sorunlar, kullanılan ürün veya işleme tekniğine bağlı olarak etkileşim gösterir. Yemler için önemli olan mikroorganizmalar temel özelliklerine göre;

- a. Bozulma yapan mikroorganizmalar; özellikle  $10^6/g$  veya  $cm^2/ml$  düzeyine geldiklerinde kalite ve ekonomik kayıplara neden olanlar (bakteriler, küfler ve mayalar)
- b. Patojenik karakterliler; hayvanlarda çeşitli yollarla hastalık yapanlar (*Salmonella*, *Shigella*, *Clostridium spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* v.b.,)
- c. Faydalı etkileri olanlar; aroma ve yapı geliştirerek, fermente ürünlerdeki laktik asit bakterileri gibi, ürünü koruyucu özellik kazandıranlar şeklinde gruplandırabilirler (Topal 1996).

Gerek kesif yem kaynaklı intoksikasyonlar ve enfeksiyon hastalıklarının önlenmesi ve gerekse yemlerin depolama ömürlerinin uzatılabilmesi açısından kontaminasyon kaynaklarının bilinmesi ve bu kaynaklardan gelebilecek kontaminasyonların önlenmesi veya minimize

edilmesi için gerekli önlemlerin alınması gerekmektedir. Mikroorganizmaların gelişmelerini ve metabolik faaliyetlerini sürdürmeleri için su, temel gereksinimdir. Bu bakımdan bölgesel ve mevsimsel olarak koşullara bağımlı tarımsal üretim dezavantajlarının ortadan kaldırılması ve yem maddelerinin bozulmadan uzun süre dayandırılmalarının sağlanması için kontrol edilmesi gereken en önemli faktörlerden biri sudur. Düşük aktiviteli su, bir tür bağlı sudur. Bağlı su ise, bir yem maddesinde çözücü olarak bulunmadığı gibi, dondurulamayan veya reaksiyona girmeyen su olarak tanımlanabilir. Gıda ve yem maddesinde mikroorganizmanın yararlanabildiği su ise, o yem maddesinin “su aktivitesi” olarak ifade edilmektedir.

Su aktivite değerlerine göre gıda ve yemleri 3 gruba ayırmak mümkündür. Buna göre; 0,90 – 1,00 aw arasında olanlar, (**nemli gıda ve yemler**) et unları, süt yan ürünleri, süt ürünleri, balık unları, tavuk unları v.b.’dir. 0,60 – 0,85 aw arasında olanları, (**orta nemli gıda ve yemler**) kurutulmuş meyveler, un, tahıllar (buğday, mısır, pirinç, arpa ve soya fasülyesi vb.), jelâtin, melas, tuzlu balıklar, et ekstratları, bazı olgun peynirler, fındık v.b.’dir. Bu grubun bağıl nemi %20- 40 arasında verilmekte olup, grup içinde pek çok üyede patojenik mikroorganizma gelişmesinin, genellikle inhibisyon nedeniyle görülmediği; ancak kserofilik, osmofilik, halofilik organizmaların söz konusu olabildiği bildirilmektedir. aw < 0.60 olanlar ise (**esas düşük nemli gıda ve yemler**) grubuna alınmış, bu yemler içinde baharat, kurutulmuş yumurta, süt ve yeşil yem bitkileri sayılabilmektedir. Bu grubun bağıl nem değerleri % 3 – 16 arasında değişmektedir. Bu grubun en önemli özelliği olarak mikroorganizmaların bu aw değerinde çoğalmadan uzun süre canlı kalabildikleri ifade edilmiştir (Anonymous 1980a). Çizelge 2.3.1’de Su aktivite değerlerine göre gıda grupları ve olası mikrobiyal floraları verilmiştir (Topal 1988).

Çizelge 2.3.1. Su aktivite değerlerine göre gıda grupları ve olası mikrobiyal floraları (Topal 1988).

Gelişmeye elverişli min aw (olası mikroflora için)	Su aktivitesi (aw)	aw Sınırlarına göre gıda grupları BOZULMA SÜRELERİ
<b>NEMLİ ÇOK ÇABUK BOZULAN GIDALAR</b>		
<i>Salmonella sp.</i> ve en çok Gr (-) bakteriler	1,00	Taze sebze ve meyveler, et, balık, kanatlı etleri, süt
<i>Clostridium botulinum</i>	0,95	1–2 GÜN Tuzlanmış ve dumanlanmış etler, pişmiş sosis (kan ve k.ciğer sosisi), işlenmiş diğre et ürünleri, bazı peynirler, ekmek.
En çok Gr (+) bakteriler	0,90	Salam, kuru peynirler, nemli kekler, meyve şurupları
<b>ORTA NEMLİ GIDALAR</b>		
En çok maya ve küfler, <i>Staphylococcus aureus</i>	0,85	1–2 HAFTA Meyveli kekler, şekerli kondanse süt (Reçel, marmelat, jöle, badem ezmesi gibi şekerli gıdalar), tuzla muhafaza edilmiş gıdalar
En çok <i>Penicillium</i> , mikrotoksijenik, <i>Aspergilluslar</i> , <i>kserotolerant</i> mayalar	0,80	Bal
	0,77	
Halofilik bakteriler, ( <i>Wallemia sebi</i> ), küfler	0,75	1–2 AY
<b>KURUTULMUŞ GIDALAR</b>		
<i>Aspergillus glaucus</i> grubu üyeleri ve	0,70	Yulaf, şekerleme, lokum, bazı tahıllar
<i>Kserotolerant</i> ve osmofilik maya ve küfler ( <i>Saccharomyces rouxii</i> , <i>Aspergillus chinulatus</i> , <i>Monascus bisporus</i> )	0,65	Kurutulmuş meyva, bazı şekerlemeler ve karameller
Mikrobiyal gelişmeye elverişsiz	0 – 0,60	Kurabiyeler, kuru gıdalar (çorba, sebzeler, yumurta tozu), baharat, mısır gevreği çikolata, bazı şekerlemeler, rafine şeker

### 2.3.1. Mikrobiyal Bulaşmalarla Oluşan Sorunlar

Düşük nemli yemlerde ürün işleme yöntemleri ve karakteristiklerine göre 2 grupta toplamak mümkündür. Bunlar;

1. Isıl işlem görerek sporsuz patojenlerin elimine edildiği grup (süttozu, yumurta tozu, hayvan yemi katkıları, kuru aminoasitler vb.),
2. Isıl işlem uygulaması olmayan veya çok önemsiz boyutlarda ısıl işlem uygulanan (tahıllar ve ürünleri, güneşte kurutulan ürünler vb.) gruptur ki, mikrofloraları değişken olabilir.

Düşük nemli yemlerde en sık rastlanan kontaminantlar spor formu bakteriler olup genellikle *Bacillaceae* türleridir. Ancak bazı durumlarda *Bacillus cereus*, *Bacillus. mesentericus* veya *Clostridium perfringens* gibi patojenik formları da bulunabilmektedir. Zaman zaman unda söz konusu olabilen *Serratia spp.* “kanlı ekmek” olarak adlandırılan kırmızılık sorununu yaratabilir. *B. mesentericus*’la kontamine üründe “rop-sünme” olayına neden olan *Bacillus* sporları da sorun olabilir. Bütün bunlar yanında *Shigella spp.*, *Klebsiella spp.*, *Salmonella spp.*, tahıllar, süttozu, baharatlarda olmak üzere düşük nemli yemlerde sorun olabilirler. Bu tür yemlerde esas sorun küflerden kaynaklanabileceği, bu küfler içinde *Kserofilik* türlerin dominant olmakla birlikte özellikle ürünün heterojen yapısı gereği hammaddeden, işleme, depolama koşullarındaki kontaminasyondan kaynaklanan *Eupenicillium*, *Penicillium*, (*P. corylophilum*), *Aspergillus*, (*A. candidus*, *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. penicilloides*, *A. restirictes*), *Eurotium*, (*A. glaucus*), *Xeromyces bisporus*, *Byssochlamys*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Wallemia*, (*W. sebi*), *Rhizopus* türleri gibi toksik küflerin bulunabileceği ifade edilmektedir (Anonymous 1980b).

### 2.3.2. Hayvan veya Sürü Sağlığının Etkilenmesi

Yem kökenli hastalıklar genelde sindirim sistemi rahatsızlıkları, karın ağrıları, ishal, ateş, kusma, yem yememe, süt verimi düşüşü vs. sorunlar yaratabilir. Sorunlar birkaç saat veya gün içinde geçebileceği gibi, bazen de haftalarca, aylarca sürebilir ve ölümler olabilir.

Patojenler veya toksik karakterli mikroorganizmalar kontamin veya bunları belli düzeyde içeren yemler tüketilmesi ile hayvan veya sürüde önemli sorunlar oluşturur ve epidemik rahatsızlıklar belirlenebilir. Hastalık hafif ya da şiddetli olabilir. En çok etkilenenler yavrular, yaşlı ve bağışıklığı zayıf olan hayvanlarda etkisini gösterir.



### 2.3.3. Sosyal ve Ekonomik Sorunlar

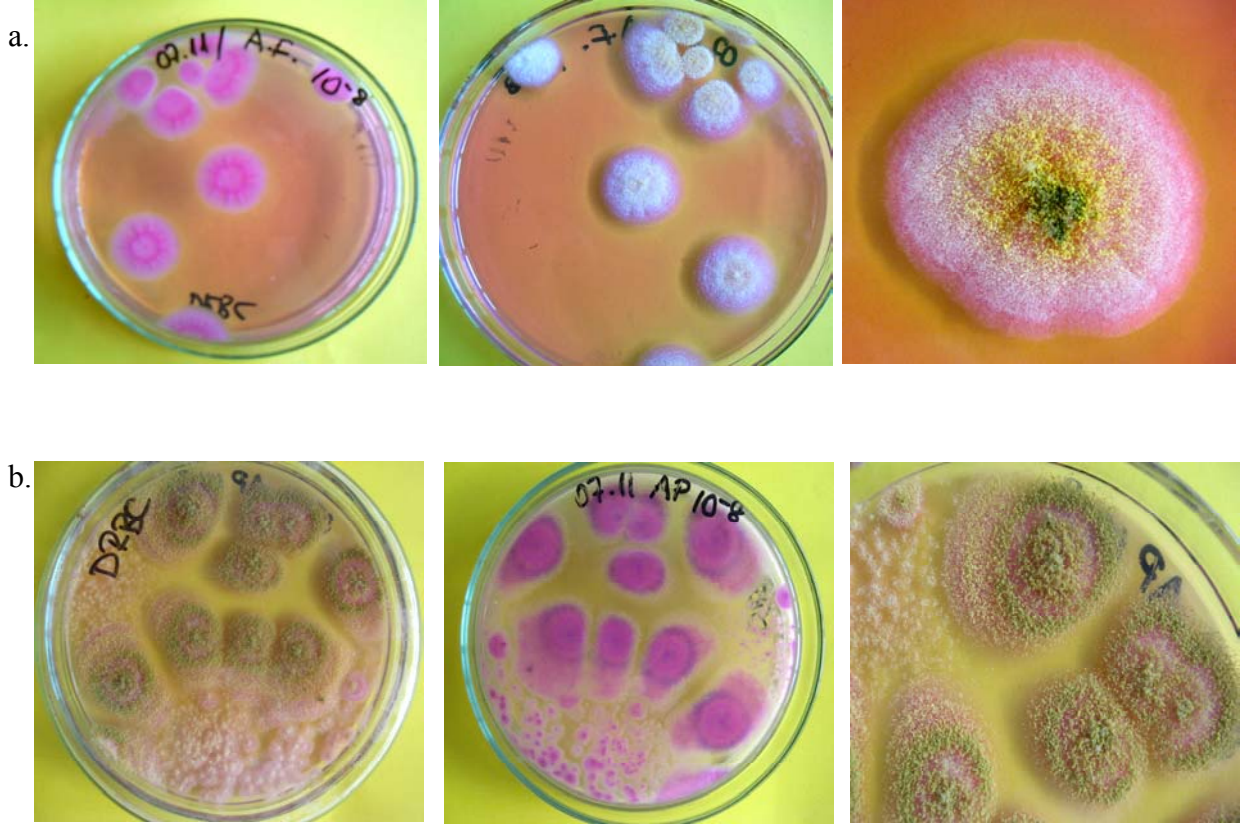
Hastalıkların yanı sıra üretim – yetiştirme, hasat – kesim, avlama, işleme, dağıtım, depolama ve tüketim zincirinde oluşan mikrobiyal bozulmanın çok önemli riskler, ekonomik kayıplar getirir. Dünyadaki tarımsal ürünlerin yaklaşık % 25’i mikrobiyal bozulma sonucu kayba uğradığı tahmin edilir (Anonymous 1985a). Sadece küfler – bakterilerin oluşturduğu dünya genelindeki kayıp % 6 – 12’dir. İnsan ve hayvanlar tarafından tüketilmeyecek düzeydedir. Buda yıllık değer yaklaşık 16 – 17 milyar dolar olduğu ifade edilmektedir (Pitt ve Hocking 1985, Topal 1996). Bu ürün kayıpları yanında oluşan hastalıklar nedeniyle iş verim kaybı, performans düşüklüğü, tedavi masrafları da ekonomik boyutu daha da büyötmektedir.

Ayrıca sosyo – ekonomik başlık altında dikkate alınacak diğer bir husus, kontamine yemlerle oluşan kötü beslenmeye bağlı olarak sağlıksız hayvan ve sürleri oluşur. Bulaşmayla semptomsuz taşıyıcı ve gizli taşıyıcı olarak tanımlanan enfekte hayvanlar diğer vir riski oluşturur. Sık tekrarlanan yem kökenli hastalık olayları başlangıç veya ileri düzeyde malnütrasyonlara da sebep olabilmektedir.

### 2.4. Küflerin Genel Özellikleri

Küfler farklı özelliklere sahip ökaryotik organizmalar olup çok hücreli canlılardır. Küfler, doğada hemen her yere yayılmış olan, filamentli ve çok hücrelidirler. Küf hücreleri ardı ardına dizilerek, hif adı verilen hücre iplikçiklerini oluştururlar. Hifler çeşitli dallanma ve budaklanmalar yaparak, karmaşık bir hif topluluğu oluşturacak şekilde bir araya gelirler. Bu hif topluluklarına miselyum denilmektedir. Besiyeri yüzeyine, temas edecek şekilde paralel olarak uzanan veya besiyeri içine giren hiflere vejetatif hif yâda beslenme hifi, besiyerinin üstünde kalan ve çoğunlukla küflerin üreme organelleri olan sporları taşıyan hiflere ise förtül hif yâda hava hifi adı verilmektedir. Küfler genel olarak sporlarla çoğalmaktadır. Küf sporları ise eşeyli (cinsel, seksual) ve eşeysiz (cinsel olmayan, aseksual) spor olarak ikiye ayrılır. Küflerin tanımlanması ve ayrımında, büyük ölçüde eşeysiz sporlar ve bunlarla ilgili yapılar, sınıflandırmalarında ise daha çok eşeyli sporlar ve bunlarla ilgili yapılar dikkate alınmaktadır. Bir küf kültüründen, bu sporların tesadüfi olarak bir öze ile alınması ve steril bir besiyerine aktarılması durumunda, sporlar besiyerinde gelişerek rahatlıkla yeni bir küf kültürü oluşturabilirler (Ünlütürk ve Turantaş 1996a-b).

TÜBİTAK–MAM'dan temin edilen *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* suşunun çoğaltılması ve süspansiyonlarının hazırlanması, ön zenginleştirilmesi ve Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC) agara ekimlerinin görüntüleri Şekil 2.4.1.a'da *Aspergillus flavus*, Şekil 2.4.1.b'de *Aspergillus parasiticus* gösterilmiştir.



Şekil 2.4.1.a ve 2.4.1.b. *Aspergillus flavus* (a) ve *Aspergillus parasiticus* 'un (b) DRBC agarda görünüşleri

## 2.5. Mikotoksinler ve Özellikleri

Mikotoksinler, bazı küfler tarafından, küfün genetiğine bağlı olarak *invitro* (vücut dışı) ortamlarda üretilen toksik kimyasal maddelerdir. Her küf mikotoksin sentezleyemediği gibi mikotoksin sentezleyebilen küfler de uygun koşullar sağlanamadığı takdirde mikotoksin sentezleyemezler. Bu uygun koşullar arasında, başlıca ortamın nemi, pH'ı, sıcaklığı ve ürünün su aktivitesi yer almaktadır. Mikotoksin sentezlenebilmesi için doğal şartlarda ortalama olarak pH'ın 2–11, sıcaklığın 25–35°C, ürünün su aktivitesinin 0,85' in üstünde ve nemin % 15–60 arasında olması gerekir. Mikotoksinler tarım ürünlerinde ya hasat öncesi tarlada, ya da hasat sonrası depolama sırasında, toksin sentezleyen küflerin gelişmesi sonucunda oluşurlar. Vücut

içinde mikotoksin sentezi gerçekleşemediği için mikotoksinler insan ve hayvanlar tarafından dışarıdan genellikle gıda ve yemler ile alınırlar (Anonymous 1990b, Özay ve Yılmaz 2000).

Günümüzde çeşitli küfler tarafından sentezlenen 300'e yakın mikotoksin belirlenmiştir. Bunlar içerisinde en önemli olanı aflatoksindir. Aflatoksin *Aspergillus flavus* ve *A. parasiticus* küfleri tarafından sentezlenir. Aflatoksin difuranokumarin (difuranocoumarin) bileşiğidir ve pek çok türevi bulunmaktadır. Fakat bunlar içerisinde en önemlileri B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> ve M<sub>1</sub>' dir. B<sub>1</sub> canlı organizmalara etkileri yönünden en toksik olanıdır. M<sub>1</sub> ise B<sub>1</sub> 'in hayvan yemleriyle alınması sonucu hayvanın bünyesinde oluşarak süt ve süt ürünlerinde görülmektedir. Aflatoksinlerin canlı organizmalar üzerine kanserojenik, mutajenik, teratojenik ve toksijenik etkileri bulunmaktadır. Aflatoksin oluşumu, kuruyemişlerde (yerfıstığı, antepfıstığı, fındık vs.), yağlı tohumlarda, tahıllarda (mısır, arpa, buğday, vs.) baharatlarda (kırmızıbiber vs.) ve kuru meyvalarda (incir vs.) oldukça yoğun olarak tesbit edilmiştir (Anonymous 1979).

### 2.5.1. Aflatoksinler

Akut ve kronik toksisite, kanserojen etki yönünden büyük önem taşır. Bifuran halkası lakton konfigürasyonu taşıyan yüksek moleküllü cumarin bileşiği olarak belirlenmiştir. Af B<sub>1</sub> formu C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub> şeklindedir. Organizmanın esas fonksiyonlarına etkilidirler. Gelişmeyi durdururlar. Karaciğer ve böbrek başta olmak üzere çeşitli organlarda kanser oluştururlar. Cumarin çekirdeği DNA ve RNA mekanizmasını bozup germinasyona engel olurlar. Koyun hariç kasaplık hayvanlarda ve kanatlılarda kanserojen etkili olup, çok küçük dozları dahi ördek palazlarını öldürür. Birçok küf mantarı aflatoksin yapıcıdır. Bunlar; *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. ochraceus*, *A. nidulans*, *Penicillium chrysogenum*, *cyclopium* gibi küfler önde gelmektedir (Anonymous 1990b).

### 2.5.2. Sterigmatosistin

Bifuracumarin bileşiği ve anthrochinon derivatıdır. Yapıca aflatoksine benzer. Daha ilerki safhalarda Af B<sub>1</sub>'e dönüşür. Yapısı C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub> şeklindedir. *Aspergillus versicolor* baş yapıcısıdır. Bunu takiben *A. nidulans*, *A. bipolaris*, *A. flavus* ve bazı *Penicillium* türleri üreticisidir. Başta hububatlar olmak üzere et ürünlerinde ve süt ürünlerinde, ekmek ve sebzelerde rastlanılmaktadır (Anonymous 1990b).

### 2.5.3. Patulin

Başlangıçta tıpta antibiyotik olarak kullanılmıştır. Sonraları toksik etkisi olduğu tespit edilmiş ve mikotoksinlere dâhil edilmiştir. Doymamış bir lakton bileşiğidir,  $C_7H_6O_4$  yapısındadır. Kan hücresi olan lokositlere toksik etkilidir. Japonya’da küflenmiş malt yedirilen sığırlarda oluşan şiddetli zehirlenmenin, malttaki *Penicillium urticae* tarafından sentezlenen patulinden olduğu tespit edilmiş (Özay 1988). Patulin hücre kültürlerinde kromozomlara etki yapar, deri altı enjeksiyonlarda maligni ödem teşekkülü oluşturur. Patulin hücre respirasyonunu inhibe ettiğini, *invivo* olarak nükleik asit ve protein sentezini etkilediği belirlenmiştir. Yapısı gereği sülfidril gurubu ile nötralize olup aktivitesini kaybeder. Bakterilere etkisi aynı şekilde gerçekleşir.

### 2.5.4. Penicillin asidi

Doymamış bir lakton bileşiğidir,  $C_8H_{10}O_3$  yapısındadır. Sülfidril nötralize olma özelliği ve antibiyotik etkisi vardır. Toksik ve kanserojen bileşiktir. Genelde *Penicillium* üreticisidir. Başlıcaları; *P.expansum*, *P. cyclopium*, *P. frequentans*, *P. martensii*, *P. palitans*, *A. nidulans*, *P. simplicissium*’dur (Anonymous 1990b).

### 2.5.5. Citrinin

Küflenmiş pirinçten izole edilmiştir. Sıçanlardaki denemelerde, böbrek değişikliği, iç hemorajiler, nefroz, renal tubellerde patolojik gelişmeler olur. Gram (+) bakterilere etkir. Benzopyran bileşiğidir. Birçok *Penicillium* tarafından kompoze edilir. En önemlileri *P. citrinum*, *P. simplicissum*, *P. frequentans*, *P. expansum*, *P. notatum*’dur.

### 2.5.6. Ochratoksin

*Aspergillus ochraceus* üreticisidir. A, B, C olmak üzere üç fraksiyonu vardır. Primer nekrotik ve hepatotoksik etkilidirler. Bulduğu ortamda penicillin asidinin varlığı kanserojen etkisini maximize eder. Mısır ve hububatlarda çokça rastlanır. Letal doz ördek palazları için 25mg/kg’dır. Ochratoksin yapan küf ile kontamine olmuş yemlerle beslenen bir günlük civciv ve palazlarda ölüm oranı %100 olur. *A. ochraceus*’tan başka *P. cyclopium*, *P. frequentans*, *A. nidulans*’lardır.  $C_{20}H_{18}Cl-NO_3$  ochratoksin-A’nın yapısıdır (Anonymous 1990b).

### 2.5.7. Penitrem

Tromorgan bir toksindir. Deneysel olarak tavşanlara verildiğinde sinir sistemini etkileyerek, epileptik adale titremeleri, hareket koordinasyon bozuklukları, kramplar meydana getirir. Ölümle ağır intoksikasyonlarla olur.  $C_{37}H_{44}Cl_7NO_6$  penitrem-A'nın yapısıdır. Başlıca üreticisi *Penicillium* sınıfıdır. *P. patilans*, *P. patulum*, *P. expansum*, *P. cyclopium* ve *P. puberulum*'dur. Mikotoksinlerin gerek sağlık gerekse ekonomik yönden yarattığı problemler, araştırmacıları gıdalarda mikotoksinlerin azaltılması veya tamamen yok edilmesine yönelik çalışmalara yöneltmiş ve “detoksifikasyon” olarak tanımlanan uygulamalar geliştirilmiştir. Gıda ve yemlerde mikotoksinlerin zararlı etkisinin önlenmesi için prensip olarak üç seçenek bulunmaktadır (Özay ve Yılmaz 2000). Bunlar;

- a. Kontaminasyonun engellenmesi
- b. Gıda ve yem maddelerinde mikotoksinlerin detoksifikasyonu
- c. Sindirim kanalında mikotoksinlerin absorpsiyonunun inhibisyonudur.

Günümüzde mikotoksinlerin detoksifikasyonu amacıyla kullanılan yöntemler fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak üç bölümde incelenebilir. Başarılı bir detoksifikasyon için gerekli bazı koşullar;

- a. Uygulanan detoksifikasyon metodu sonucunda mikotoksinler inaktive edilmeli, yıkımlanmalı veya uzaklaştırılmalı,
- b. İşlem sonrası gıda ve yem maddelerinde toksik kalıntı oluşmamalı,
- c. Gıda ve yem maddesi işlem sonrası besin değerleri ve yenilebilir özelliğini korumalı,
- d. Ürünün fiziksel özelliklerinde mümkün olduğunca bir değişiklik olmamalı,
- e. Tekrar kontaminasyonun engellenebilmesi için küf sporları ve miselleri yıkımlanmalı,
- f. Ekonomik olarak fizibil olmalıdır (dekontaminasyon gideri kontamine ürün değerinden az olmalı).

## **2.6. Mikotoksinlerin Dekontaminasyon Yöntemleri**

### **2.6.1. Isı ile inaktivasyon**

Aflatoksinler kararlı kimyasal moleküler yapılarından dolayı yüksek sıcaklık derecelerine oldukça dayanıklıdır. Af B<sub>1</sub> kuru ısıya dayanıklı olup erime noktası 260 °C ve termal dekompozisyon derecesi ise 269 °C'dir. Mikrodalga ile aflatoksin inaktivasyonuna yönelik yapılan bir çalışmada 6 kilowatt 4 dakika mikrodalga ile kavurma ile % 95 oranında aflatoksin yıkımlanması meydana geldiği belirtilmiştir (Özay ve Yılmaz 2000).

### **2.6.2. Işınlama ile inaktivasyon**

Işınlamanın mikotoksinler üzerine etkisi birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir. Aflatoksinler gamma ışınlarına karşı dirençli olmakla beraber indirekt yolla etkilendikleri belirlenmiştir. Aflatoksinle kontamine yerfıstığı küspesinde 1 ve 10 kGy gamma ışığı uygulaması sonucu sırasıyla %75 ve %100 oranında yıkımlanma olduğu tespit edilmiştir. 10 kGy üzerindeki dozlarda tohum germinasyonu inhibe olmakta, yağda peroksit değeri artmaktadır. Gamma ışığının ortamda su varlığında uygulanması aflatoksin yıkımlanması üzerine etkisini artırmaktadır. Dimetilsülfoksit - su (% 10 v/v) solusyonuyla 10 kGy gamma radyasyon uygulamasının Af B<sub>1</sub>'in tamamını, Aflatoksin G<sub>1</sub>'in ise % 95 oranında yıkımlanmasına neden olduğu belirlenmiştir. Aflatoksinler UV ışınlarına duyarlıdır. Af B<sub>1</sub>, 222 nm, 265 nm ve 362 nm dalga boyunda ultraviyole ışınlarını absorbe edebilir ve absorpsiyon 362 nm de daha yoğundur. Af B<sub>1</sub>'in UV ışımına karşı en yüksek olduğu durum pH'nın 3'den küçük olduğu veya 10'dan büyük olduğu durumlardır. UV ışını uygulanması sonucu Af B<sub>1</sub> yıkımlanmasını takiben şekillenen bir dizi reaksiyon sonucu 12 yeni aflatoksin inaktivasyon komponentlerinin oluştuğu ve bunların bir kısmının Af B<sub>1</sub>'den düşük olsa da toksik etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Özay 1988, Anonymous 1990b).

### 2.6.3. Kimyasal Yöntemler

Gıdalarda mikotoksinlerin inaktivasyonuna neden olan birçok kimyasal madde denenmiştir. Kimyasal maddelerin mikotoksinleri inaktive edebilme veya yıkımlama özelliğinin olması, son ürünlerde toksik veya kanserojenik kalıntı bırakmaması, işlem sonrası oluşan yeniden kontaminasyonu engellemek için küf sporları ve miselyumları da yok edebilmesi, yem - gıda maddesinde bulunan besin unsurlarına zarar vermemesi, yem - gıdanın tadını bozmaması ve yem - gıda maddesinin teknolojik özelliklerinde kayda değer bir değişiklik yapmaması sayılabilir. Kimyasal detoksifikasyon işleminde asit ve alkaliler, okside edici ajanlar, klor, ozon ve amonyak gibi gazlar kullanılmaktadır. Fakat bu kimyasal maddelerin hepsi yukarıda bildirilen kriterlerin tamamını içermemektedir.

Sodyum hipoklorit kullanılması ilk olarak kontamine yüzeyler ve cam malzemelerden aflatoksin uzaklaştırılmasında önerilmiş ve gıdalarda da aflatoksin yıkımlanmasında etkili bulunmuştur. Sodyum hipokloritin konsantrasyonu kadar pH'nın da yıkımlanmada önemli olduğu ve asidik şartlarda klorinasyonun daha etkili olduğu bildirilmiştir (Özay ve Yılmaz 2000).

Hidrojen peroksit, ucuz oluşu, hazırlanmasının kolaylığı ve aflatoksin yıkımlanmasında etkili bir kimyasal madde olduğu için birçok araştırmacı tarafından önerilmektedir. Hidrojen peroksitin aflatoksin yıkımlanmasında etkili olduğu ve aflatoksin yıkımlanmasının maksimum düzeyde (%85,5) olabilmesi için gerekli optimum koşulların % 0,08 hidrojen peroksitin 40 saniye uygulanması sonucu % 100 etkili olduğu sonucuna varılmıştır (Özay ve Yılmaz 2000).

Yeni teknolojiler (proton değişimi sağlayan membran ve elektroliz) sayesinde çabuk ve yüksek konsantrasyonda ozon verilmesiyle tahıllarda mikotoksinlerin yıkımlandığı ve gıdanın besin değerinde minimal kayıp oluşturduğu bildirilmiştir. Sodyum bisülfitin mikotoksinler üzerine yıkımlayıcı etkisi bulunduğunu, Af B<sub>1</sub>'i tamamen yıkımladığı fakat Aflatoksin B<sub>2</sub>'nin dirençli olduğu ve %59 oranında yıkımlandığını görülmüştür. Yine aynı çalışmada nem oranının, sodyum bisülfit konsantrasyonunun ve ısının aflatoksin yıkımlanmasında etkili rol oynadığı belirlenmiştir. Sodyum bisülfitin değişik konsantrasyonlarının Deoksinivalenol (DON) üzerine de yıkımlayıcı etkisi olduğu tespit edilmiştir (Özay ve Yılmaz 2000).

#### **2.6.4. Biyolojik Yöntemler**

Biyolojik yöntemlerle fermentasyon yoluyla ve bakteri, küf ve mayaların direkt olarak kullanımıyla yapılan detoksifikasyon çalışmaları günümüzde önemli hale gelmiştir. Zearlenon (ZEN) ile kontamine olmuş mısırlardan fermentasyonla etanol elde etmiş ve elde edilen etanolde ZEN varlığına rastlanılmamıştır. Etanol eldesi sırasında oluşan yan ürün olan ve hayvan yemi olarak kullanılan cibrede ise ZEN varlığı tesbit edilmiştir (Özay ve Yılmaz 2000).

#### **2.7. Antimikrobiyal Maddeler ve Test Yöntemleri**

Antimikrobiyal maddeler mikroorganizmaları öldüren (mikrobisid etki) veya onların üremesini/gelişmesini engelleyen (mikrobiyostatik etki) kimyasal maddelerdir. Bu tanıma; dezenfektanlar, antiseptikler, antibiyotikler ve inhibitör etkili diğer bazı maddeler girmektedir. Hipokloritler, kloraminler, iyodoforlar, quarterner amonyum bileşikleri, amfoterik bileşikler, oksidan maddeler (hidrojen peroksit, perasetik asit, ozon vb), alkaliler (sodyum hidroksit, kostik veya kostik soda, potasyum hidroksit gibi), asitler, alkoller, aldehytler (formaldehit gibi), fenol türevleri, sabunlar, ağır metal iyonları ve tuzları gibi çeşitli dezenfektanlar ve antiseptikler, penisilin streptomisin ve tetrasiklinler gibi çeşitli antibiyotikler, metilen mavisi kristal violet ve brilliant green gibi inhibitör etkili çeşitli mikrobiyostatik boyalar ve sodyum klorür ve sodyum nitrit gibi koruyucu olarak kullanılan bazı gıda katkı maddeleri antimikrobiyal maddelerdir (Bauer 1982, Bilgehan 1989, Temiz 2000).

Antimikrobiyal maddelerden dezenfeksiyon ve antisepsi yaratma amacıyla veya enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde ilaç (antibiyotik) olarak ya da yem ve gıdalarda koruyucu katkı maddesi olarak yararlanılmaktadır. Dezenfektanlar alet ekipman, cansız materyal (su gibi) ve cansız yüzeyler ile küçük oda ve bölmelerin atmosferine, antiseptikler ise canlıların deri ve mukozasına uygulanan dezenfeksiyon etkili antimikrobiyal maddelerdir. Dezenfektanlar; hastane ve benzeri sağlık kuruluşları, gıda işletmeleri, yem işletmeleri, hayvan üretim çiftlikleri gibi alanlarda yer alan her türlü alet ekipman ve yüzey (taban, tavan, duvar, tezgah, tank, bidon, kova, vb.) ile küçük oda veya bölmelerin atmosferi ve su gibi diğer bazı cansız materyalin dezenfeksiyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır. Diğer taraftan, bazı antimikrobiyal maddelerden selektif besiyerlerinde selektivite ajanı olarak yararlanılabilmektedir.



## **2.7.1. Antimikrobiyal maddelerin etkinliğini etkileyen faktörler**

### **2.7.1.1. Antimikrobiyal maddelerin kimyasal özelliği**

Organik antimikrobiyal maddelerin etkinliği genelde yapılarındaki karbon ve hidrojen sayılarıyla orantılı olarak artmaktadır. İnorganik olanların etkinliği ise suda iyonize olma güçleriyle ilişkilidir. Buna göre de iyonize olma güçleriyle ilişkilidir. Buna göre de, iyonize olma gücü yüksek olan inorganik asitler (HCl ve H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gibi) ve alkaliler (NaOH ve KOH gibi) iyonize olma güçleri düşük olanlara göre daha etkilidirler.

### **2.7.1.2. Antimikrobiyal maddelerin konsantrasyonu**

Antimikrobiyal maddelerin pek çoğu yüksek konsantrasyonlarda mikrobisid, düşük konsantrasyonlarda ise mikrobiyostatik etkiye sahiptir. Ancak yoğunluk artışı ile mikrobisidal etki arasında sürekli ve doğrusal bir ilişki yoktur. Belli bir yoğunluktan sonra antimikrobiyal maddelerin mikrobisidal etkisinde herhangi bir değişim görülmemektedir. Antimikrobiyal maddelerin mikrobisidal etkili bu yoğunluğunun aşılmasına özen gösterilmelidir. Çünkü yüksek konsantrasyonda antimikrobiyal maddeler kullanımın önemli sakıncaları vardır. Böylesi bir durumda her şeyden önce ekonomik bir kayıp olmaktadır. Bunun yanı sıra antimikrobiyal maddelerin yüksek konsantrasyonları yüzeyde kalıntı sorunu yaratabilmekte, uygulandığı yüzeye zarar verebilmekte ve en önemlisi de insanda toksik etki oluşturabilmektedir. Diğer taraftan bazı antimikrobiyal maddeler, özellikle bazı metal iyonları (Cu, Au ve Ag gibi) yüksek konsantrasyonlarda mikrobisid etkili olurken, düşük yoğunluklarda mikroorganizmanın üremesini teşvik edici etkiye sahip olabilmektedir. Buna “oligodinamik etki” adı verilmektedir. Bu nedenlerden dolayı çalışmalarımızda antimikrobiyal maddelerin konsantrasyonunun seçim sürecinde geçirerek çalışmalar yürütülmüştür.

### **2.7.1.3. Uygulama sıcaklığı**

Antimikrobiyal maddelerin etkinliği sıcaklık arttıkça artar. Ancak antimikrobiyal maddeler çözeltilerinin belli sıcaklıkları da aşmaması gereklidir. Çünkü her antimikrobiyal maddelerin etkin olduğu sıcaklık farklıdır. Önemli olan sıcaklığın antimikrobiyal maddeleri çözecek kadar yüksek fakat inaktif hale dönüştürecek kadar düşük olmasıdır. Örneğin iyotlu dezenfektan çözeltileri etkisinin azalacağı dikkate alınarak 40 °C dolaylarında uygulanmakta ve çözelti

sıcaklığının 50 °C'yi aşmamasına özen gösterilmektedir. Sıcaklık artışı genellikle ortamdaki yüzey gerilimini ve viskoziteyi düşürür, pH'yı ve maddenin iyonlaşma gücünü yükseltir ve mikrobisidal etkiye yol açacak reaksiyonların hızlarını arttırır. Bütün bunlara göre de sıcaklık artışı ile uygulama süresi sırasında ters bir ilişki vardır. Bitki esansiyel yağların etkinliklerinin kaybolmaması ve küflerin inkübasyon sıcaklığının doğru ayarlanması bağlamında 2 farklı depolama deneme ayarlanmıştır.

#### **2.7.1.4. Uygulama süresi**

Antimikrobiyal maddelerin etkili olabilmesi için, uygulandığı ortamdaki mikroorganizmalarla yeterli bir süre temas içinde olması gereklidir. Temas süresi kısa olursa mikrobisid etkiden daha çok mikrobiyostatik etki söz konusu olmakta ya da etki azalmaktadır. Kısa temas süresinin yarattığı diğer bir olumsuzluk ise mikroorganizmaların kullanılan antimikrobiyal maddelere karşı dirençlik kazanma olasılığıdır. Uygulama süresi kısaldıkça madde konsantrasyonu arttırılması tavsiye edilmektedir (Bauer 1982, Bilgehan 1989, Temiz 2000). Çalışmada yaklaşık 28 günlük deneme süresi dikkate alınarak çalışmada kullanılan esansiyel yağların konsantrasyonu minimize edilerek ayarlanılmıştır. Bu amaçla küflerin esansiyel yağlara olan etkinliğinin seyrini izleyebilmek ve gelişim eğrisini takip etmek amaçlanmıştır.

#### **2.7.1.5. Çözelti pH'sı**

Her antimikrobiyal maddelerin etkili olduğu bir pH değeri vardır ve pH'daki ufak değişiklikler antimikrobiyal maddelerin etkinliği üzerinde büyük değişiklikler yaratır. Ancak antimikrobiyal maddelerin çözelti pH'sının belirlenmesinde uygulanacak yüzeyin özelliği önem kazanmaktadır.

#### **2.7.1.6. Ortamdaki organik ve inorganik kir ve kalıntılar**

Ortamdaki kir ve kalıntılar antimikrobiyal maddeler ile mikroorganizmaların karşı karşıya gelmelerini engelleyebildiği gibi, kir ve kalıntılar ile antimikrobiyal maddeler arasında antimikrobiyal maddelerin etkinliğini azaltacak veya yok edecek olumsuz reaksiyonlarda (antagonist etki) gerçekleşebilme ihtimallerine karşı çalışmanın başından sonuna dek aseptik şartlarda çalışılmıştır.

### **2.7.1.7. Diğer faktörler**

Esansiyel yağlar uygulama yüzeyinde yüzey gerilimi düştükçe küfler ile daha kolay ve direkt olarak temasa geçebilmekte ve böylece de etkinliği artmaktadır. Birçok esansiyel yağın yüzey gerilimini düşürücü etkiye sahiptir. Esansiyel yağlar çözeltinin ozmatik basıncını belli ölçülerde arttırmaları. Bu da esansiyel yağın küfler üzerinde etkinliği arttırıcı etki yaptığı bildirilmektedir (Bauer 1982). Antimikrobiyal maddelerin uygulama tekniği de etkinliği etkileyen önemli bir faktördür. Antimikrobiyal maddelerin uygulamada küfe direkt temas sağlayacak şekilde petrilere yerleştirildi.

### **2.7.2. Mikroorganizmalara ait faktörler**

#### **2.7.2.1. Mikroorganizmanın Karakteri**

Bakterilerin kapsül tabakası ve sporları antimikrobiyal maddelerin 'lere karşı vejetatif hücrelere göre genelde daha dirençlidirler. Bakteri sporlarının dirençliliği yapısındaki kimyasal dirençlilik sağlayan koruyucu kalın tabakalardan kaynaklanmaktadır. gram pozitif ve gram negatif bakterilerin antimikrobiyal maddelerin duyarlılığında farklılıklar olabilmektedir. Bu nedenle bazı antimikrobiyal maddelerin gram pozitif, bazıları ise gram negatif bakteriler üzerinde etkilidir. Bazı antimikrobiyal maddelerin ise geniş spektrumlu olup hem gram pozitif hem de gram negatif bakterilere etkili olabilmektedir. Gram pozitif ve gram negatif bakterilerin duyarlılığındaki bu farkların büyük ölçüde hücre duvarları ve zarlarındaki farklılıktan kaynaklandığı (Temiz 2000) tarafından düşünülmektedir. Diğer taraftan, mikobakterilerin hücrelerini çevreleyen balmumu tabakası, bu bakterilere antimikrobiyal maddelere karşı dirençlilik özelliği kazandırmaktadır. Küf ve sporlarının antimikrobiyal maddelere karşı duyarlılığı ise genel olarak azdır (Bauer 1982, Bilgehan 1989, Temiz 2000). Bütün bunların yanı sıra, antimikrobiyal maddelerin duyarlılıkta mikroorganizma türleri ve hatta suşları arasında bile farklılıklar olabilmektedir. Bu nedenle antimikrobiyal maddelerin seçiminde hedef mikroorganizma özelliklerinin çok iyi ayarlanması gerekliliği vurgulanmaktadır (Temiz 2000).

### **2.7.2.2. Mikroorganizma eşidi**

Çalışmada kullanılacak baharat ve tahıllardaki popülasyonun çok ve çeşitli olması denenecek antimikrobiyal maddelerin duyarlılığını değiştirecektir. Numunelerde farklı olan mikroorganizmaların varlığı antimikrobiyal maddelerin etki süresinin uzamasına neden olacaktır. Diğer taraftan popülasyonda mutant formların bulunması antimikrobiyal başarısını olumsuz yönde etkilemektedir. Bu riski elemine etmek için TÜBİTAK – MAM Gıda bölümünden özel suşlar temin edilerek çalışma hazırlanmıştır.

### **2.7.2.3. Mikroorganizma Yaşı ve Sayısı**

Mikroorganizmalar antimikrobiyal maddelere karşı genel olarak üremelerinin logaritmik döneminde sabit ve ölüm dönemlerine göre daha duyarlıdırlar. Deneme kullanılacak küfler canlandırma için ön zenginleştirme yapılarak sayıları ve canlılıkları - etkinlikleri test edilmiştir. Ortamdaki canlı mikroorganizma sayısı arttıkça antimikrobiyal maddelerin etki süresi de o derecede artmaktadır. Etkinlik testlerinde küflerin genç olmaları esasiyel yağların etkinliğinin daha net tespit edilmesine ve hata kaynaklarını engellemesi düşünülerek etkinlikleri ölçülmüştür (Topal 1996).

### **2.7.3. Antimikrobiyal Madde Etkinliğinin Test Yöntemleri**

Antimikrobiyal maddelerin belli bir test mikroorganizması üzerinde etkisi minimal inhibitör konsantrasyonu (MİK) veya minimal letal konsantrasyonu (MLK) şeklinde belirlenebilmektedir. Antimikrobiyal maddelerin etkinliğinin test edilmesinde birçok yöntemden yararlanılabilmektedir. Tüp dilüsyon yöntemi ve agar difüzyon yöntemi birçok araştırmacı tarafından kullanılan ve tavsiye edilen en yaygın yöntemlerdir

#### **2.7.3.1. Tüp Dilüsyon Yöntemi**

Bu yöntemle daha çok antimikrobiyal maddelerin MİK ve/veya MLK değerleri belirlenmeye çalışılmaktadır. MİK değerleri; denenen test mikroorganizma suspansiyonunda (belli sayıda canlı organizma içeren kültür sıvısı) test koşullarında üremeyi (mevcut canlı hücre sayısının artışını) inhibe eden en düşük antimikrobiyal maddelerin konsantrasyonudur. Yöntem bir dizi tüp içersine uygun steril sıvı besiyeri ve mikroorganizma alınır. Antimikrobiyal maddelerden aynı

hacimde olacak şekilde değişik dilüsyonlardan tüplere sırası ile eklenerek vortex mikserde homojenize olana dek karıştırılır. Mikroorganizmanın cinsine göre uygun inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonunda tüplerdeki türbiditeye göre bakılır. Türbidite var ise (+), yok ise (-) değer verilir. Türbidite olmayan en düşük tüpteki antimikrobiyal madde konsantrasyonu MİK değeri olarak seçilir (Temiz 2000, Uçan 2008).

### **2.7.3.2. Agar Diffüzyon Yöntemi**

Bu yöntemle özellikle antibiyotikler, dezenfektanlar, ve antimikrobiyal diğer kompanantlerin etkinliği kolay ve kısa sürede gerçekleşmektedir. Agar diffüzyon yöntemi iki şekilde gerçekleşmektedir. Her iki yöntemin birbirinden tek farkı ilkinde mikroorganizma suşu dökme usul petrilere alınmakta ve donan besiyeyinde uygun aralıklarda ve yaklaşık 10 – 12 mm delik (küvetler) açılarak farklı konsantrasyonlu antimikrobiyal maddelerden dikkatlice küvetlere doldurarak inkübasyona bırakmaktır. Diğer yöntemde ise mikroorganizma suşu daha önce petrilere dökülmüş besiyeri ortamına yayma olarak ekimini yapmak ve ardında 10 – 12 mm ölçülerinde steril kağıt disk aracılığı ile farklı konsantrasyonlu antimikrobiyal maddelere daldırarak (fazla sıvı süzölmüş) uygun aralıklar ile petri kabına yerleştirilerek inkübasyona bırakılır. Her iki yöntem sonucunda disklerin veya küvetlerin etrafındaki temiz alan (mikroorganizmasız alan) ölçölmesi esasına dayanır (Temiz 2000, Uçan 2008).

### **2.8. Baharat Bitkilerinin Antibakteriyal ve Antifungal Aktiviteleri**

Conner ve ark. (1984), yenibahar, tarçın, karanfil, sarımsak, soğan, defne, biberiye, kekik otu ve kekik esansiyel yağlarının *S. cerevisiae* ve *Hansenula anomala* üzerine etkisini incelemişlerdir. Yenibahar, tarçın ve karanfil esansiyel yağlarının *S.cerevisiae*'de etil alkol üretimi üzerine çok az etkisi olduğunu veya hiç olmadığını gözlemlemişlerdir. Diğer taraftan soğan, biberiye, defne, kekik otu ve kekik esansiyel yağlarının etil alkol üretimini geciktirdiğini veya azalttığını belirtmişlerdir. Bu esansiyel yağların, *Hansenula anomala*'nın etil alkol üretimini etkili bir şekilde durdurduğunu da gözlemlemişlerdir. Sarımsak esansiyel yağının *Hansenula anomala*'nın gelişimini tamamen inhibe ettiğini, soğan esansiyel yağının da maya gelişimini geciktirdiğini bildirmişlerdir.

Knobloch ve ark. (1986) yaptıkları çalışmada, esansiyel yağlardan izole ettikleri 40'dan fazla terpenoidin mikroorganizmaların ana enerji metabolizmalarındaki reaksiyonlar üzerine bazı etkilerini araştırmışlardır. Yüksek bitkilerden elde edilen antimikrobiyel maddelerin, mikrobiyal metabolizmanın enzimatik reaksiyonları durdurabileceğini, ortamdan besin maddelerinin alımını engelleyebileceğini, membran yapısını değiştirebileceğini, çekirdeksel veya ribozomal seviyede enzim sentezini engelleyebileceğini veya ara metabolizmada sınırlı bir faktör olarak başka maddelerle yer değiştirebileceğini belirtmişlerdir.

Ramanoelina ve ark. (1987), bazı esansiyel yağların enteropatojenik ve bozulma yapan mikroorganizmalar üzerine minimum inhibe edici konsantrasyonlarının (MİK) belirlenmesi amacıyla yaptıkları bir çalışmada, *Labiatae*, *Myrtacea* ve *Compositae* familyalarından aromatik bitkiler kullanmışlardır. Araştırmacılar esansiyel yağların engelleyici etkilerini antibiyotiklerle karşılaştırmışlar ve 12 enteropatojenik bakteri üzerinde test etmişlerdir. Kekik, esansiyel yağının geniş bir spektrum üzerinde belirgin etkili olduğu gözlemlenmiştir.

Bağcı ve Dığrak (1996) yaptıkları bir çalışmada, Fırat Üniversitesi Kampusü bahçesinde bulunan *Pinus silvestris* ve *Thuja orientalis* bitkilerinin esansiyel yağlarının bakteri ve mayalar üzerinde antimikrobiyel aktivitelerini araştırmışlardır. Sonuçta, *Pinus silvestris* esansiyel yağının bakteri (*B. megaterium* ve *Enterobacter aerogenes*) ve mayalara (*C. albicans* ve *S. cerevisiae*) karşı en yüksek antimikrobiyel aktiviteyi gösterdikleri saptanmıştır.

Perez ve ark. (1998) yaptıkları bir çalışmada, *Seneico graveolens* bitkisinden elde edilen esansiyel yağın mayalar üzerine antimikrobiyel etkisini incelemişler ve MİK değerini *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *S. aureus* ve *C. albicans* mayaları için sırası ile 8,73 mg / mL, 10,91 mg / mL ve  $2,13 \times 10^{-2}$  mg/mL olarak belirlemişlerdir.

Habsah ve ark. (2000) *Alpinia*, *Costus* ve *Zingiber* cinslerinin, *Zingiberaceae* türüne ait 13 bitkinin dichloromethane ve methanol ekstraktlarının antimikrobiyel ve antioksidant aktivitelerini incelemişlerdir. Ekstraktların çoğu antimikrobiyel aktivite göstermiştir. *Costus discolor* methanol ekstraktı sadece antibakterial aktivite göstermiştir ve *Aspergillus ochraceous*'a karşı antifungal aktivite göstermiştir. Ekstraktların tamamı yüksek antioksidant aktiviteye sahip oldukları tespit edilmiştir.

Farklı bitki türleri tarafından üretilen esansiyel yağlar, çoğu kez biyolojik olarak aktiftirler ve antimikrobiyel, allelopatik, antioksidan ve biyo-düzenleyici etkiye sahiptirler. Baharat ve esansiyel yağların antimikrobiyel özellikleri uzun süreden beri bilinmektedir. Aromatik bitki ve baharatlar esansiyel yağlarca zengin olup antimikrobiyel etkiye sahip doğal ürünlerdir. Dolayısıyla, patojenik ve bozulmaya neden olan mikroorganizmaların gelişmesini geciktirmek veya inhibe etmek için kullanılabilirler (Chaibi ve ark. 1997, Bağcı ve Digrak, 1998, Barata ve ark. 1998, Caccioni ve ark. 1998, Jantova ve ark. 2000, Delaquis ve ark. 2001, Özcan ve Erkmen 2001).

Hulin ve ark. (1998) esansiyel yağları, bakteri maya ve küflere karşı denemişler ve geniş bir etki spektrumuna sahip olduklarını saptamışlardır. Araştırmacılar, esansiyel yağlar ve aroma bileşenlerinin bakterilerde gelişme (*E. coli O 157: H7*, *Listeria monocytogenes*), spor oluşumu (*Cl. botulinum*) ve toksin oluşumu (*S. aureus*) üzerinde negatif bir etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir. Mayalarda, gelişme ve yalancı misel oluşumu üzerinde bazı etkileri görülmüştür. Küflerde ise spor oluşumu, misellerin uzaması (*Aspergillus flavus*), spor gelişimi ve toksin oluşumunu (*Aspergillus ochraceus*) engellemiştir. Araştırmalar genellikle sentetik kültür ortamında denenmiş ve gıda ve yemlerde doğrulanmıştır. Fakat yüksek miktarda esansiyel yağ ilavesinin gıdanın potansiyel kalitesinin değişimi üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir.

Esansiyel yağlar, baharatlar ve diğer birçok bitkisel materyalin başlıca çeşni ve özellikle koku bileşikleridir (Canillac ve Mourey 2001). Bitkilerden ya da bitkisel unsurlardan, su veya buhar distilasyonu yoluyla elde edilen, oda sıcaklığında sıvı halde olan ve bazen donabilen, uçucu, kuvvetli kokulu ve yağimsı karışımlardır (Akın 1996). Esansiyel yağlar, bitkinin gelişme sahaları, ekolojik şartlar ve diğer faktörler ile kalite ve miktar farkı gösteren, organik maddelerin kompleks karışımlarının heterojen bir grubudur (Özcan ve Erkmen 2001). Fenol, alkol, ester, keton, aldehit vb. yapıları oksijenli bileşikler, birçok esansiyel yağın ana ve özgün bileşenleridir (Akgül 1993). Esansiyel yağların aktiviteleri esansiyel yağların tipine, kompozisyonuna ve konsantrasyonuna; etki ettiği mikroorganizmaların cinsine ve sayısına; substratın kompozisyonuna ve işleme ve depolama şartlarına bağlıdır (Pandit ve Shelef 1994, Skandamis ve Nychas 2000, Marino ve ark. 2001). Esansiyel yağların antimikrobiyel etkisi, enerji üretimi ve yapısal bileşiklerin sentezinde etkili olan enzimleri inhibe etmelerinden (Tassou ve ark. 2000, Lambert ve ark. 2001) veya membran yapısını parçalamalarından

kaynaklanmaktadır (Brul ve Coote 1999). Bu esansiyel yağların farklı mikroorganizmalara karşı antibakteriyel ve antifungal etkileri çeşitli çalışmalarda belirlenmiştir. Diğer koruyucularda olduğu gibi değişik baharat yada esansiyel yağ miktarlarının antimikrobiyel etkileri, denenmiş mikroorganizmaların saf kültürlerinin belirli yoğunluk ve optimum inkübasyon şartlarında uygun besiyerinde incelenmiştir (Conner 1993, Juven ve ark. 1994, Ultee ve ark. 1998, Ultee ve Smid 2001).

Kekik esansiyel yağının (% 3) bilinen kompozisyonu ile birlikte koruyucu özelliği farmasötik ya da kozmetik kullanım için iki formülasyonda araştırılmıştır. İstenilen koruma etkisi kriteri bakteri suşlarına, mayalara karşı formülasyonun birinde sağlanmıştır. Fakat, bu çalışmada küf suşlarına karşı etki sağlanmamıştır (Manou ve ark. 1998). *Pelargonium* (*Geraniaceae*) cinsleri ve kültürlerinin kokulu yapraklarından, buhar distilasyonu ile ekstraksiyonun yapıldığı bir çalışmada, ekstraktların antibakteriyel etkileri, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *B. cereus* ve *Staphylococcus epidermisi*' e karşı in vitro olarak incelenmiştir. Sonuçlar önemli antibakteriyel aktivite göstermiştir ve *Pelargonium* esansiyel yağlarının yeni antibakteriyel ajan olarak kullanılabilmesi öne sürülmüştür. Sonuçlar *Pelargonium* esansiyel yağlarının ve çözücü ekstraktlarının gıda ve kozmetikte yeni antimikrobiyel ajan olarak kullanılabilmesini göstermiştir. En güçlü antibakteriyel etki; citral, citronellal, citronellic acid, geraniol, linalool ve  $\alpha$ -pinene esansiyel yağlarında gözlemlenmiştir (Lis-Balchin ve ark. 1998).

Chaibi ve ark. (1997) esansiyel yağların *Bacillus cereus* ve *Clostridium botulinum* 62A'nın vejetatif büyüme ve spor oluşumu üzerine etkilerini inceledikleri bir çalışmada, portakal ve altıntop esansiyel yağlarının bu bakterilerin sporları üzerinde etkili olduğu MİK değerlerini belirlemişlerdir. Buna göre araştırmacılar portakal esansiyel yağı MİK değerinin *B. cereus* için 250ppm, *Cl. botulinum* 62A için 400 ppm olduğunu, altıntop esansiyel yağı MİK değerinin *B. cereus* için 300 ppm, *Cl. botulinum* için 500 ppm olduğunu göstermişlerdir. Mikrodilüsyon sıvı besiyeri ile yapılan bir çalışmada da Combertum molle bitkisinin ekstresi, *Staphylococcus aureus*'a karşı denenmiş ve MİK değeri 0,56 mg/mL olarak bulunmuştur. Ayrıca bu çalışmada, tetrazolyum tuzları kullanılarak mikrotitrasyon petrilinde sonucu değerlendirmenin daha kolay olduğu ortaya konmuştur (Eloff 1998a). Biyootografi yöntemi ile yapılan bir diğer çalışmada Combertum bitkisinin farklı çözücülerle elde edilmiş ekstraktları, *S. aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas (P.) aeruginosa*'ya karşı denenmiş ve *S. aureus*'a karşı güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. Biyogram



plağında on dört ayrı aktif fraksiyon olduğu ve bu fraksiyonların üzerinde net gözlenebilen zonların oluştuğu bildirilmiştir; ancak bu fraksiyonların hangi maddeler olduğu aydınlatılmamıştır (Martini ve Eloff 1998a).

Caccioni ve ark. (1998), turunçgil esansiyel yağlarının *Penicillium digitatum* ve *P. italicum* üzerine etkilerini inceledikleri bir çalışmada portakal, mandarin, greyfurt ve limon esansiyel yağlarının bu mikroorganizmaların gelişimini engelleyici etkileri olduğunu ve *P. digitatum*'un bu yağlara karşı daha duyarlı olduğunu belirlemişlerdir. Smith-Palmer ve ark. (1998) yaptıkları araştırmada, 21 bitki esansiyel yağının ve 2 esansın antimikrobiyel özelliklerini, *Camphylobacter jejuni*, *Salmonella Enteritidis*, *E. coli*, *S. aureus* ve *Listeria monocytogenes*'e karşı denemişlerdir. Defne, tarçın, karanfil ve kekik yağlarının, % 0.075 ya da daha düşük konsantrasyonlarda bakteriostatik etki ile en büyük etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Genelde Gram (+) bakterilerin, bitki esansiyel yağlarına Gram (-) bakterilerden daha hassas oldukları gözlemlenmiştir. *Camphylobacter jejuni*, bitki esansiyel yağlarına karşı en dirençli bakteri olarak belirlenmiş, sadece defne ve kekik esansiyel yağları % 1 ve daha az konsantrasyonlarda bakteriosidal etkiye sahip bulunmuşlardır. 35°C'de *L. monocytogenes* en büyük hassasiyeti küçük hindistancevizi (nutmeg) yağına karşı göstermiştir. Bakteriostatik etki % 0,001'den daha düşük konsantrasyonlarda ve bakteriosidal etki % 0,05'lik konsantrasyonlarda gözlenmiş, ancak sıcaklıktaki 4°C'lik azalma bakteriostatik konsantrasyonu % 0,5'e ve bakteriosidal konsantrasyonu % 1'e yükseltmiştir.

Değişik *Abies* türlerinden izole edilen esansiyel yağların antimikrobiyel aktivitelerinin, disk difüzyon metodu kullanılarak 10 bakteri (*E. coli*, *B. megaterium*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. brevis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* ve *Staphylococcus aureus*) ve 2 maya (*S. cerevisiae* ve *C. albicans*) türüne karşı test edildiği bir çalışmada, elde edilen sonuçlara göre, test edilen esansiyel yağlar antimikrobiyel aktivitelerinin güçleri bakımından 3 grup içinde sınıflandırılmışlardır. İlk grup antimikrobiyel aktiviteye sahip olmayan ve *Abies pinsapo* ve *Abies concolor*'dan elde edilen esansiyel yağlardır. *Abies alba* ve *Abies firma*'dan elde edilen ikinci grup esansiyel yağlar az miktarda etkili iken, *Abies koreanna*, *Abies cilicia subsp. cilicia*, *Abies cilicia subsp. isaurica*, *Abies nordmanniana subsp. nordmanniana* ve *Abies nordmanniana subsp. bornmüelleriana*'dan elde edilen üçüncü grup esansiyel yağlar ise test edilen maya ve bakterilere karşı en yüksek antimikrobiyel aktivite göstermiştir. Bu çalışmada kullanılan

esansiyel yağların çoğunun *E. coli*'nin gelişmesi üzerine çok düşük etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Antimikrobiyel aktivitelerinin belirlenmesi için test edilen 9 *Abies* türünün esansiyel yağları maya türlerine karşı bakteri türlerinden daha etkili olmuştur ve esansiyel yağların antimikrobiyel aktivitesinin farklılığı bakteriyel türlere ve esansiyel yağın kaynağına bağlanmıştır (Bağcı ve Dıgrak, 1996).

Hammer ve ark. (1999) yaptıkları bir çalışmada, 20 bitkiye ait uçucu yağ mikrodilüsyon sıvı besiyeri yöntemi kullanarak test etmiş, 16 uçucu yağın %2'lik (v/v) konsantrasyonunda, kullandıkları tüm test mikroorganizmalarının gelişimini inhibe ettiğini diğer 4 uçucu yağın ise MİK değerlerinin % 8 (v/v) değerinden büyük olduğunu ortaya koymuşlardır.

El-Sakhawy ve ark. (1998), Mısır'da yetiştirilen *Murraya exotica L.*'nin taze çiçek, yaprak ve meyvelerinden elde edilen esansiyel yağın, *C. albicans*'a karşı antifungal; *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Sarchina lutea*'ya karşı ise antimikrobiyel etkili olduğunu gözlemlemişlerdir.

Türkiye'de yapılan bir çalışmada da farklı ülkelere ait *Mentha piperita L.* (nane) uçucu yağları *C. albicans*'a karşı biyootografi yöntemi kullanılarak denenmiş ve inhibisyon zonları gözlenmiştir. Bu zonları oluşturan maddeler izole edilmiş ve GC-MS analizi ile tayin edilmiştir. Sonuç olarak nane uçucu yağının *C.albicans*'a karşı göstermiş olduğu antimikrobiyel etkinin mentolden ileri geldiği bildirilmiştir (İşcan ve ark. 2001).

Saxena ve Sharma (1999a), *Lantana aculeata* yapraklarının esansiyel yağının antimikrobiyel aktivitesini disk difüzyon yöntemi kullanarak incelemişler ve *S. pullularum*, *E. coli*, *Klebsialla pnemoniae* ve *Vibrio (V.) cholera*'ya karşı etkili olduğunu, 1/20 seyreltmelerde bile aktivite gösterdiğini saptamışlardır. Esansiyel yağın ayrıca *Penicillum digitatum*, *Rhizophus stolonifer*, *Microspermum gypsum* ve *Penicillum notatum*'a karşı da 1/20 seyreltmelerde aktif olduğunu belirlemişlerdir. *Saxena ve Sharma (1999b)*, *Toddalia asiatica* yapraklarının esansiyel yağının antimikrobiyel aktivitesini disk difüzyon yöntemi kullanarak araştırmışlar ve *S. newport*, *E. coli*, *Klebsialla pnemoniae* ve *Pseudomonas aeuriginosa* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı etkili olduğunu, 1/20 seyreltmelerde bile aktivite gösterdiğini saptamışlardır. Esansiyel yağın ayrıca, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Rhizophus stolonifer* ve *Microspermum gypsum*'a karşı da 1/20 seyreltmelerde aktif olduğunu belirlemişlerdir.

Koutsoumanis ve ark. (1999) çalışmalarında, bir Yunan aperatifi olan ev yapımı balık yumurtası salatasını (taramasalad), *S. Enteritidis* ile aşılama ve değişik konsantrasyonlarda mercan köşk esansiyel yağı ekleyerek (% 0,0, 0,5, 1,0, 2,0 h/a) farklı sıcaklıklarda (5, 10, 15, 20 °C) depolamışlardır. Ürünlerin pH'sı limon suyu ile 4,3 – 5,3'e ayarlanmıştır. Çevresel faktörlerin her bir kombinasyonunda, patojenlerin kinetik parametrelerini hesaplamak için bakteri sayısı zamanın bir fonksiyonu olarak modellenmiştir. Karşılaştırma için iki farklı model kullanılmıştır. *S. Enteritidis*'in indirgenmesi bütün durumlarda incelenmiş ve ölüm oranları pH, depolama sıcaklıkları ve esansiyel yağ konsantrasyonlarına bağlı bulunmuştur.

Rahman ve ark. (1999), *Amomum subulatum*, *Cinnamomum verum*, *Coriandrum sativum*, *Cuminum cyminum*, *Elettaria cardamomum*, *Myristica fragrans* (Mace) ve *Myristica fragrans* (Nutmeg) bitkilerinden su distilasyonu ile esansiyel yağları elde etmişlerdir. Bunların sırasıyla 1,8-cineole, cinnamaldehyde, linalool, cuminaldehyde, 1,8-cineole, terpinen-4-ol içerdiklerini GC-MS tarafından belirlemişlerdir. Çeşitli patojenik mantarlara (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *C. albicans*, *Fusarium oxysporum* var. *lycopersici*, *Microsporum canis*, *Pseudallescheria boydii*, *Trichopyton mentagrophytes*, *Trichopyton Simi*) karşı esansiyel yağların antifungal etkisini araştırmışlar ve gelişmeyi inhibe edici etkilerinin olduğunu gözlemlemişlerdir.

Basım ve ark. (2000), *Thymbra spicata* L. var. *spicata* bitkisinin uçucu yağını, ekonomik bakımdan önemli bitki patojenleri olan *Erwinia amylovora*, *Erwinia caratovora* pv. *caratovora*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Agrobacterium tumefaciens* ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *Vesicatoria* bakterilerine karşı test etmişler ve sırasıyla 59, 569, 91, 684, 98 ve 41 mg/mL'lik konsantrasyonları minimum bakterisidal konsantrasyonlar olarak bildirmişlerdir.

Farklı coğrafik orjinli Propolis örneklerinin antibakteriyel, antiviral ve antifungal aktivitelerinin incelendiği bir çalışmada, bütün örneklerin küflere ve Gram (+) bakteri türlerine karşı etkili olduğu ve çoğunun antiviral aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir (Kujumgiev ve ark., 1999). Kimyasal bileşenlerinin farklı olmasına karşın bütün örneklerin aktiviteleri aynı bulunmuştur. Ilıman bölge örneklerinde flavanoidler ve fenolik asitlerin esterleri Propolis'in belirtilen aktivitelerinden sorumlu tutulurken, tropikal örneklerde bu bileşikler bulunmadığı halde, aynı aktiviteyi göstermişlerdir.

Sarımsak, bakeri sarımsak, çin pırasası, frenk soğanı, taze soğan, soğan ve arpacık soğanı ekstraktlarının antifungal aktivitesi ve minimal fungisidal konsantrasyonu *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus fumigatus* 'a karşı test edilmiştir. Bu *Allium* bitkileri, sarımsağın en düşük MFK göstermesiyle birlikte antifungal aktiviteye sahiptir. Taze soğan dışında, *Allium* bitkilerinin 3 *Aspergillus* cinsine karşı inhibitör etkileri inkübasyonun ve sıcaklığın artmasıyla azalmıştır ( $P<0.05$ ). Ekstraktların asetik asit ile muamelesi bütün bitkilerin 3 mantara karşı inhibitör etkilerini arttırmıştır ( $P>0.05$ ) ve araştırılan 3 pH değerinde (2, 4, 6 ) bu etkide önemli farklılıklar yoktur. Asetik asit (pH 4'te) ve ekstraktların ısıl işlem uygulaması bütün allium bitkilerinin 3 küf mantarına karşı, sadece sıcaklıkla muameleye göre daha fazla inhibitör etki göstermiştir ( $P<0.05$ ). Ekstraktların 0,2M ve 0,4M konsantrasyonlarında NaCl ile muamelesi, bitkisel esansiyel yağların inhibitör etkilerini etkilememiştir. Asetik asit muamelesi *Allium* bitkileri kombinasyonunu etkin bir antifungal etki göstermiştir (Yin ve Tsao 1999).

Deena ve Thoppil (2000), *Lantana camara* esansiyel yağının antimikrobiyel ve antifungal etkisini yedi bakteri ve sekiz mantarda incelemişler ve bunlardan çoğu bakteri ve mantarın gelişiminin inhibe edildiğini gözlemlemişler, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus niger*, *Fusarium solani* ve *C. albicans* diğerlerine göre daha hassas olduğunu bildirmişlerdir.

*Artemisia afra*, *Pteronia incana* ve *Rosmarinus officinalis* esansiyel yağlarının antimikrobiyel aktiviteleri 41 mikrobiyal türe karşı test edilmiştir. Test mikroorganizmaları patojen olanlardan seçilmiştir. Agar difüzyon deneyi nutrient agar ve antibiyotik ortam kullanılarak yapılmıştır. Test edilen yağların hepsinin bazı antimikrobiyel aktiviteler sergilediği, bununla birlikte, bu etki test edilen mikrobiyal türlerin yanı sıra yağların tipine ve konsantrasyonuna da bağlı olduğu gözlenmiştir. *Artemisia afra* ve *Rosmarinus officinalis*, *Pteronia incana*'dan daha yüksek antimikrobiyel aktivite göstermişlerdir. Bu yağların geniş antimikrobiyel aktivitelerinin yanı sıra gıda, yem ve kozmetik endüstrisinde koruyucu olarakta kullanılabilecekleri bildirilmiştir (Mangena ve Muyima, 1999).

Yapılan bir çalışmada *Peucedanum cervaira* (L.) bitkisinin köklerinden izole edilen faltarindiol ve juglon maddeleri, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium herbaum* ve *Fusarium avenaceum* küflerine karşı kâğıt disk difüzyon yöntemi kullanılarak denenmiştir. 9 mm'lik kâğıt disklere 20 µL maddenin çözeltilisinden emdirilerek, üzerinde 104 cfu/mL spor solüsyonu

bulunan besiyerine yerleştirilmiştir. Disklerin çevresinde oluşan inhibisyon zonları ölçülmüş ve kâğıt diskteki madde miktarı MİK değeri olarak verilmiştir. Aynı zamanda mikrodilüsyon yöntemi sıvı besiyerinde denenmiş ve iki yöntem sonuçlarının hemen hemen birbirine benzediği bildirilmiştir (Hadacek ve Greger 2000).

Mehrabian ve Majd (2000), tarafından yapılan bir çalışmada *Rubia tinctorum*, *Carthamus tinctorius* ve *Juglans regia* bitkilerinin su, metanol ve kloroformlu ekstraktlarının, havayla taşınan bazı bakteri ve funguslara karşı antimikrobiyel etkileri agar difüzyon yoluyla araştırılmıştır. Saboraud Dextrose Agar plakları üzerinde 6,4 mm çapında çukurcuklar açılarak içlerine 200'er µl ekstrakt konulmuştur. Çalışma sonucunda, özellikle *Carthamus tinctorius* bitkisinin sulu ekstresinin tüm mikroorganizmalara karşı (*B. subtilis*, *B. cereus*, *Fusarium solani*, *Alternaria alternata*) etki gösterdiği ve 25 – 40 mm arasında değişen inhibisyon zonları oluşturduğu bildirilmiştir. Diğer bitki ekstraktlarının de orta derecede antimikrobiyel etkiye sahip oldukları kaydedilmiştir.

Demirci ve ark. (2001), *Pistacia eurycarpa* esansiyel yağının antimikrobial etkisini incelemişlerdir ve bu yağın *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella typhimurium*, *C. albicans*'ın gelişimini inhibe ettiğini gözlemlemişlerdir.

Haznedaroğlu ve ark. (2001), 1,8-cineol (% 17), β-caryophyllene (% 11), cyclofenchene (%10) ve δ-cadinene (% 6) bileşiklerinden oluşan *Salvia tomentosa* esansiyel yağının antimikrobiyel etkisini incelemişler ve bu esansiyel yağın *Pseudomonas aeruginosa* bakterisi dışında test edilen bütün gram pozitif ve gram negatif bakterilerinin gelişimini inhibe ettiğini bildirmişlerdir.

Larhsini ve ark. (2001) Fas'a özgü bazı tıbbi bitkilerin antibakteriyel etkilerini incelemişlerdir. *Calotropis procera*'nın yaprak ve çiçeklerinden elde edilen ekstraktlar *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *S. typhi*' e karşı sırasıyla 12,2 mm, 10,5 mm, 12,3 mm inhibisyon zonu oluşturarak antibakteriyel etkisinin olduğu gözlemlenmiştir. *E.caryophyllata* (karanfil) ekstraktının da antibakteriyel etkili olduğu gözlemlenmiştir. Bu antibakteriyel etki, gentamycin ve tetracylin antibiyotikleri kullanılarak karşılaştırılmış ve benzer sonuçlar alınmıştır.

Nostro ve ark. (2001), *Helichrysum italicum* ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538P, MRSA ve MSSA)'un gelişmesi ve enzimatik aktivitesi üzerine etkisini incelemişlerdir. Sonuçlar; hem *Helichrysum italicum* ekstraktının *Staphylococcus aureus* türlerinin gelişmesi hem de koagülaz, DNase, lipaz, termonükleaz gibi bazı enzimlerin aktivitesi üzerine inhibitör etkiye sahip olduğunu göstermiştir. MİK değerlerinin 250 – 500 ppm arasında olduğu bildirilmiştir.

Quiroga ve ark. (2001), 10 bitkinin etanol ekstraktlarının antifungal etkisini incelemişlerdir. Antifungal değerlendirmeyi disk difüzyon metodu, kuyu difüzyon metodu, broth dilüsyon testleri kullanarak yapmışlardır. *Larrea divaricata*, *Zuccagnia punctata* ve *Larrea cuneifolia* ekstraktları test mantarlarının çoğuna karşı olağanüstü aktivite göstermiştir. Ayrıca, *Prosopanche americana* ekstarktı da maya gelişimini inhibe etmiştir. *Phytolacca dioica* ve *Zinnia peruviana* ekstraktları Gr (+) ve Gr (-) mikroorganizmalara karşı antimikrobiyel aktivite göstermiştir. *Larrea divaricata* ve *Larrea cuneifolia*, *Rhodotorula spp.*'nin gelişimini çok yüksek oranda inhibe etmiştir. *S. carlsbergensis* ve *Rhodotorula spp.* karşı *Larrea cuneifolia*'nın MİK değeri, 100–130 µg/mL olarak belirtilmiştir.

Karaman ve ark. (2001), Türkiye için endemik bir bitki olan *Thymus* grubunun esansiyel yağının kimyasal bileşimini GC-MS ile belirlemişler ve 22 bileşikten oluştuğunu ve carvacrolun bu yağın bileşimindeki en etkili bileşik olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, esansiyel yağı 11 bakteri ve 4 mantara karşı farklı konsantrasyonlarda test etmişler, sonuçta bu yağın önemli miktarda antibakteriyel ve antifungal etki sergilediğini gözlemlemişlerdir. *Cannabis sativa*'nın beş farklı çeşidinin esansiyel yağları başlıca  $\alpha$ -pinene, myrcene, trans- $\beta$ -ocimene,  $\alpha$ -terpinolene, trans-caryophyllene ve  $\alpha$ -humulene bileşiklerini içermektedir.  $\alpha$ -terpinolene içeriğine göre çeşitleri iki ayrı grupta toplamak mümkündür: Batı Avrupa grubu çeşitleri yaklaşık % 8 ve Fransa grubu çeşitleri %16 civarında  $\alpha$ -terpinolene içerirler. *Cannobis sativa* esansiyel yağının antimikrobiyel aktivitesi az olarak kabul edilebilir. Yine de kültür farklılıkları görülebilir.  $\Delta$ -9-tetrahydrocannabinol (THC) hiçbir esansiyel yağda belirlenmemiştir ve diğer cannabiol miktarları bakımından da çok fakirdir. Esansiyel yağların antimikrobiyel aktivitesi için 21 test suşu kullanılmıştır. Antimikrobiyel aktivite sadece *Swiss Mix*, *Felina 34*, *Fedrina 74*, *Kompolti*, *Secuemi* kültür organizmaları üzerinde gözlemlenmiştir (Novak ve ark. 2001).

Singh ve ark. (2002), *Anethum graveolens*, *Carum capticum*, *Coriandrum sativum*, *Cuminum cyminum*, *Foeniculum vulgare*, *Pimpinella anisum* ve *Seseli indicum* olmak üzere yedi bitkinin tohumlarından elde edilen esansiyel yağların 8 patojenik bakteriye karşı antibakteriyel etkisini incelemişler ve *Carum capticum* esansiyel yağının bütün test bakterilerine karşı etkili olduğunu gözlemlemişlerdir. *Cuminum cyminum* ve *Anethum graveolens* esansiyel yağlarından da benzer sonuçlar alınmıştır. Bu yağların çok düşük bir konsantrasyonda standart antibiyotiklerle karşılaştırıldıklarında eşit veya daha etkili olduklarını gözlemlemişlerdir.

Oumzil ve ark. (2002), *Mentha suaveolens* bitkisinin esansiyel yağlarının antibakteriyel ve antifungal etkisini incelemişlerdir. Esansiyel yağların inhibisyon etkilerinin kimyasal bileşimlerine bağlı olduğunu belirtmişlerdir. *Mentha suaveolens* bitkisinin önemli esansiyel yağlarını pulegone, PEO (polietilenoksit), PO (propilenoksit), limonen, carvone ve menthone olarak belirlemişlerdir. Pulegone esansiyel yağının, test edilen bütün Gr (+) ve Gr (-) bakterilerine karşı güçlü inhibe edici etkisinin olduğunu gözlemlemişler; *Chloramphenicol* ve *Streptomycin* antibiyotikleriyle karşılaştırarak kontrollerini yapmışlardır. Test edilen mayalara karşı inhibisyon etki Pulegone> PEO>PO olarak belirlenmiştir. Limonene, carvone ve menthone esansiyel yağları Pulegone esansiyel yağı ile karşılaştırılmıştır ve sonuçlar pulegone esansiyel yağının diğerlerine göre daha güçlü inhibisyon etkisine sahip olduğunu göstermiştir.

Schwob ve ark. (2002), *Hypericum coris* bitkisinden buhar distilasyonu ile elde ettikleri esansiyel yağın antimikrobiyel aktivitesini ve bileşimini incelemişlerdir. Beş mikroorganizma kullandıkları bu çalışmada maksimum aktiviteyi *S. cerevisiae* göstermiştir. Antimikrobiyel aktivitenin belirlenmesi için sıvı difüzyon metodu kullanmışlardır. Esansiyel yağda yalnız terpenoidler bulunduğunu ve alkanlara rastlamadıklarını belirtmişlerdir. Bu esansiyel yağın büyük bir kısmını  $\alpha$ -curcumenenin (% 40) oluşturduğunu gözlemlemişlerdir.

Juteau ve ark. (2002), *Artemisia annua* esansiyel yağının antimikrobiyel etkisini incelemişler ve Gr (+) bir bakteri olan *Enterococcus hirae* ve her iki test mantarını (*C. albicans* ve *S. cerevisiae*) inhibe ettiğini gözlemlemişlerdir. Esansiyel yağın camphor, germacrene D (1-methyl-5-methylene-8-(1-methylethyl)-1,6-cyclodecadiene, trans-pinocarveol,  $\beta$ -selinene,  $\beta$ -caryophyllene ve *artemisia* ketone bileşiklerinden oluştuğu saptanmıştır. Antioksidant aktivite, referans bileşiğin ( $\alpha$ -tocopherol) % 18'ine eşit olduğunu belirtmişlerdir.

Kalemba ve ark. (2002), ana bileşenleri 1,8-cineole ve selin-11-en-4 $\alpha$ -ol ve monotermen alkol fraksiyonları olan *Artemisia asiatica Nakai* esansiyel yağının antifungal ve antibakteriyel aktivitesini *B.subtilis*, *Staphylococcus aureusi*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* *C.albicans*, *Rhodotorula rubra* ve *Aspergillus fumigatus* 'a karşı incelemiştir. Bu esansiyel yağ, bakteri ve mayalara karşı iyi bir inhibitör aktivite sergilemiştir. Monotermen alkol fraksiyonları da en yüksek antibakteriyel aktiviteyi göstermiştir.

*Pimpinella tirupatientsis* (*Apiaceae*) bitkisinin tüber köklerinden elde edilen esansiyel yağın antimikrobiyel aktivitesi, 8 bakteri ve 3 fungal patojene karşı test edilmiştir. Önemli bileşenler; alkolooidler, flavonesler (flavonoidlerin bir sınıfı), flavonoller, terpenler ve uçucu yağlardır. Aktif ekstraktların MİK değerlerini 6 bakteri ve 2 mayada araştırmışlardır. Hexane ve etil asetat fraksiyonlarının antimikrobiyel aktivitesi geniş bir spektrum sergilemiş ve farklı fitokimyasallar için analiz edilmiştir. Sonuçlar standart antibiyotiklerle karşılaştırılmıştır. Bitkisel esansiyel yağlar standart antibiyotiklerle benzer aktivite göstermiştir. Ampicillin Gr (+)'leri; tetracycline Gr (-)'leri; Vancomycine fungal türleri inhibe etmiştir (*K. pneumoniae* ve *Proteus vulgaris* hariç). Ekstraktların MİK değerleri, etil asetat ekstraktları ile karşılaştırıldıklarında hexane ekstraktlarının test edilen organizmaların çoğuna karşı etkili olduklarını göstermiştir. Ekstraktların ikiside *Pseudomonas aeruginosa*'ya maksimum inhibitör etki göstermiştir (Bakshu ve ark. 2002).

Alippi ve ark. (2002), Kekik otu (*Satureja hortensis*), Melez lavanta (*Lavandula hybrids*), ökaliptus (*Globulus*), Limon otu (*Cymbopogon citratus*), nane (*Mentha x piperita*), oregano (*Origanum vulgare*), Biberiye (*Rosmarinus officinalis*) ve kekik (*Mountain thyme*) esansiyel yağlarının antimikrobiyel aktivitelerini *Paenibacillus larvae* 'ye karşı test etmişlerdir. Test edilen esansiyel yağların hepsi, *Paenibacillus larvae* 'ye karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir. Limon otunun MİK değerleri 50–100 $\mu$ l/l arasında iken, kekiğin MİK değerleri 100–150 $\mu$  l/l arasında değişmiştir. Biberiye ve Ökaliptus için MİK değerinin 700  $\mu$ l/l'den daha fazla olduğunu, Kekik otunun esansiyel yağının MİK değerlerinin 250–450  $\mu$ l/l arasında değiştiği bildirilmiştir.

Stange ve ark. (2002)'nın, *Penicillium* türleri üzerinde farklı *Citrus* kabuk ekstraktlarının etkisini araştırdıkları çalışmada, 7 farklı *Citrus* kabuğundan % 80'lik etanolle elde edilen ekstraktların *Penicillium* türleri üzerindeki etkisi incelemiştir. Sonuç olarak, bu ekstraktların;



*Penicillium* türlerinden bazılarını (*Penicillium expansum*, *Penicillium italicum*, *Penicillium digitatum*) teşvik edici etkisinin olduğu, ancak bunun yüksek seyreltmelerde etkisinin azaldığı bildirilmiştir. Bu küflere karşı en fazla etkili olan maddelerin ise seskuiterpen ve monoterpen (limonen dışında) olduğu ifade edilmiştir. Bunun dışında; *Penicillium expansum* üzerinde daha az çalışma yapıldığı bunun nedeninin ise bu küfün 21 tür bitkide hastalığa yol açmasına rağmen *Citrus* meyvelerinde hastalığa neden olmaması olarak belirtilmiştir.

Baydar ve ark. (2003), Türkiye’de ticari öneme sahip *Origanum*, *Thymbra* ve *Satureja* cinsi bitkilerden elde edilen esansiyel yağların antibakteriyel etkileri ilgili yaptıkları çalışmada % 0,01 (v/v) esansiyel yağ konsantrasyonlarının incelenen bakteri türlerinin tümünün gelişimini inhibe ettiğini belirtmişlerdir.

Yıldırım ve ark. (2003), eter ve etanol ekstraktlarının, Gr (+) bakteriler olan, *Staphylococcus aureus* ve *B. Subtilis*’e karşı antimikrobiyel aktivite gösterdiğini buna arşın su ekstraktının göstermediğini bildirmişlerdir. Bazı fenolik bileşikler, özellikle polar olmayanlardan, daha iyi antimikrobiyel aktivite göstermiştir. Etanol ve su ekstraktları yüksek miktarda fenolik bileşikler içermesine rağmen, *S. aureus* ve *B. Subtilis*’e karşı yalnız etanol ekstraktı antimikrobiyel aktivite göstermiştir. Küçük miktarlarda fenolik bileşik içeren eter ekstraktı bu her iki mikroorganizmaya karşı antimikrobiyel etki göstermiştir.

Rasooli ve ark. (2006), *L. monocytogenes*’de kekik esansiyel yağının antimikrobiyel etkisini araştırmışlar ve bu etkiyi elektron mikroskopunda gözlemlemişlerdir. Elde edilen esansiyel yağın güçlü antimikrobiyel etkisi olduğu belirlenmiştir. Kekikten elde edilen esansiyel yağlarla muamele edilen *Listeria monocytogenes*’in sitoplâzmasının zarar gördüğü elektron mikroskopunda gözlemlenmiştir. Ayrıca, inhibisyon zonu *Thymus eriocalyx* ve *Thymus x-parlock*’da sırasıyla 27 ve 33 mm; MİK ise 250 ppm olarak belirlemişlerdir.

Ngono-Ngane ve ark. (2003) *Piper guineense* tohumlarının etanol ekstaktlarının antifungal aktivitesini filamentli maya ve mantarlar kullanarak incelemişlerdir. Bu mikroorganizmalarda önemli bir antifungal etki gözlemlenmemiş, sadece *C. albicans*’ın tüm konsantrasyonlara karşı dirençli olduğu, *Aspergillus flavus* ve *Cryptococcus neoformans*’ın denenen 3 konsantrasyondan ikisine karşı dirençli olduğu gözlemlenmiştir. Diğer organizmalar hassas kabul edilmiştir.

Ngassouma ve ark. (2003) *Ocimum gratissimum* bitkisinin taze yapraklarından elde edilen esansiyel yağların ve *Zanthoxylum xanthoxyloides* bitkisinin kuru meyvelerinden elde edilen esansiyel yağların antimikrobiyel aktivitesini araştırmışlardır. Bu yağların yoğun inhibisyon zonları gösterdiğini gözlemlemişlerdir. *Ocimum gratissimum* esansiyel yağının oluşturduğu inhibisyon zonu, *Zanthoxylum xanthoxyloides* esansiyel yağının oluşturduğu inhibisyon zonundan daha büyük olduğu gözlemlenmiştir. *B. cereus* ve *Enterococcus faecalis* bakterilerinin en yüksek hassasiyet gösterdiğini, buna karşın *B. subtilis*'in bu yağa karşı hassas olmadığını bildirmişlerdir.

Belletti ve ark. (2004), 9 farklı *Citrus* esansiyel yağlarının *S. cerevisiae* üzerine antimikrobiyel etkisini incelemişlerdir ve *Citrus* esansiyel yağlarının mayaların gelişimini tamamen inhibe ettiklerini gözlemlemişlerdir. Bu etkinin aynı konsantrasyonlarda sıvı ortamda katı ortama göre daha düşük olduğunu da belirlemişlerdir.

*Anthemis xylopoda* bitkisinin yaprak ve çiçeklerinden izole edilen esansiyel yağların kimyasal kompozisyonunu ve antimikrobiyel etkisinin incelendiği bir araştırmada, her iki yağın antimikrobiyel aktivitesi 13 mikroorganizmaya karşı incelenmiştir. Sonuçlar, her iki yağın önemli antimikrobiyel etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Uzel ve ark. 2004).

Rasooli ve ark. (2004), *Aspergillus niger*'de *Thymus eriocalyx* ve *Thymus x-porlock*'dan ekstrakte edilen esansiyel yağların antifungal etkilerini incelemişler ve bu mikroorganizmada gelişmenin inhibisyonu sonucu meydana gelen morfolojik değişiklikleri elektron mikroskopuyla görüntülemişlerdir. MİK değerleri, minimum fungisidal konsantrasyonu ve bu yağların fungisidal kinetiklerini belirlemişlerdir. İlk deneyler disk difüzyon yöntemi ve broth dilüsyon metodları olmuş; *Thymus eriocalyx* ve *Thymus x-porlock* esansiyel yağları *Aspergillus niger* için sırasıyla 90 mm ve 13 mm inhibisyon zonu vermiş, fungisidal konsantrasyonlar ise 250–500 ppm arasında değişmiştir. MİK seviyeleri göz önüne alınarak esansiyel yağla muamele edilen *Aspergillus niger*'in hücre duvarı, hücre membranı ve organellerinde meydana gelen zararlar transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ile gösterilmiştir.

*Scutellaria barbata* bitkisi esansiyel yağının buhar distilasyonu ile elde edildiği bir araştırmada, esansiyel yağın temel bileşenleri olarak hexahydrofarnesylacetone (%11,0 ), 3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadecen-1-ol (%7,8), mentol (%7,7) ve 1-octen-3-ol (%7,1) bulunmuştur. Antimikrobiyel aktivite 17 mikroorganizmaya karşı disk difüzyon ve broth mikroseyreltme metodu kullanılarak değerlendirilmiştir. Gr (+) bakteri, metisillin dirençli *Staphylococcus aureus*, bu yağa Gr (-) bakteri ve mayalardan daha hassastır. En hassas mikroorganizma 29 mm zon çapı ile *S. epidermidis* olmuştur. *S. aureus* ve *S. heamolyticus* 21–26 mm ile güçlü inhibisyon zonları tespit edilmiştir. MİK sonuçlarına göre, bu yağ *S. paratyphi-A* dışında, diğer tüm mikroorganizmaları inhibe etmiştir. Sonuç olarak, bu yağın güçlü bir bakterisidal etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir (Yu ve ark. 2004).

Toroğlu ve ark. (2005), aktarlarda ticari olarak satılan ve halk arasında özellikle çay, baharat ve tıbbi amaçla tüketilen, *Teucrium polium L.var. Thymbra spicata*, *Ocimum basilicum L.*, *Foeniculum vulgare Miller'in* esansiyel yağlarının antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri in-vitro olarak disk difüzyon metoduna göre *Micrococcus luteus* LA 2971, *B. megaterium* NRS, *B. brevis* FMC 3, *Enterococcus faecalis* ATCC 15753, *Pseudomonas pyocyaneus* DC 127, *Mycobacterium smegmatis* CCM 2067, *E. coli* DM, *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966, *Yersinia enterocolitica* AÜ 19, *Staphylococcus aureus* Cowan 1, *Streptococcus faecalis* DC 74, bakterileri, *S. cerevisiae* WET 136 ve *Kluyveromyces fragilis* DC 98, mayaları, üzerinde test edilmiştir. Ayrıca bu bitki esansiyel yağlarının Gentamisin (10µg), Cephalothin (30µg) ve Ceftriaxone (10µg) antibiyotikleriyle beraber kullanıldığında bu antibiyotiklerin etkinliğinde meydana gelen değişimler in vitro olarak araştırılmıştır. Çalışma sonucunda bu bitki esansiyel yağlarının adı geçen test mikroorganizmaları üzerine farklı değerlerde antibakteriyel veya antifungal aktiviteleri olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca denenen bu esansiyel yağlarının üç farklı antibiyotik ile birlikte kullanıldığında in-vitro etkinin farklılık gösterdiği belirlenmiştir.

Maksimovic ve ark. (2005), *Chenopodium botrys* bitkisinden buhar distilasyonu yolu ile elde ettikleri esansiyel yağı seçilmiş mikroorganizma suşlarına karşı incelemişler ve bu esansiyel yağın önemli bakterisidal ve fungisidal aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. Konsantrasyonlar göz önüne alındığında, *Chenopodium botrys* esansiyel yağının seçilen referans antibiyotiklerle karşılaştırıldığında antimikrobiyel aktivite gösterdiğini açıklamışlardır.

Bisht ve ark. (2006), *Hedychium spicatum* (Zingiberaceae) bitkisinin gövdesinden elde edilen ekstraktların antifungal ve antibakteriyel aktivitesini incelemişlerdir. Esansiyel yağ, petrol eteri ve kloroform ekstraktlarının, Gr (+) ve Gr(-) bakteri kültürlerine karşı inhibitör etkisi olduğu ve geniş bir spektrum gösterdiği bulunmuştur.

Keleş ve ark. (2001), Türkiye’de geleneksel sağıltımda kullanılan ve çeşitli yörelerden toplanan 13 bitki türüne ait 14 ekstraktan 12 tanesinin Gr (+) ve Gr (-) bakteri türlerine karşı değişen derecelerde antibakteriyel etki gösterdikleri belirlenmiştir. Araştırmada disk difüzyon yöntemi ile antibakteriyel etkileri incelenen 13 bitki türüne ait 14 etanol ekstraktının 7 bakteriye karşı üreme inhibisyon değerlerine bakılarak yapılmıştır. Bu bitki ekstraktlarından 12 tanesinin (12 / 14) birden fazla sayıda mikroorganizmaya karşı antibakteriyel aktivitesi saptandı. Bitki ekstraktları tarafından üremeleri inhibe edilen bakteri türlerinin sayısı dikkate alındığında en geniş antibakteriyel etki spektrumu *Malva sylvestris* (% 8,3) ile görüldü. Bu bitkinin *E.coli* ve *S.enteritidis* hariç diğer Gr (+) ve Gr (-) 5 bakteri türlerine karşı etkili olduğu saptandı. Buna karşın *Verbascum spp.* ekstraktının (% 8,3) sadece *S.aureus*’a karşı etkili olduğu belirlendi. Diğer yandan *Cichorium intybus*, *Tanacetum partheneum*, *Origanum vulgare*, *Pistacia terebinthus* ve *Urtica dioica* ekstraktlarının (5/12) 3 bakteri türüne, bunların dışında kalan bitki ekstraktlarının ise 2 bakteriye karşı değişen derecelerde antibakteriyel etkisi bulundu. Bitki ekstraktlarına karşı en duyarlı bakterinin *S.aureus* olduğu ve antibakteriyel etkiye sahip bitkilerin tümünün bu bakteriyi değişen derecelerde inhibe edebildiği belirlendi. Antibakteriyel aktivitenin nicelik yönünden incelenmesi sırasında, bitki ekstraktları içinde MiK değerinin en düşük ve inhibisyon zonunun en büyük oluşu gözönüne alınarak yapılan değerlendirilmelerde en yüksek etki, *Hypericum perforatum* ile *S. aureus*’a (MiK 0,125 mg/ml, zon çapı 16 mm) karşı gözlemlendi. Bu etkiyi yine *S.aureus*’a karşı daha büyük MiK değerine sahip olan ve orta büyüklükte inhibisyon zonu oluşturan bitki ekstraktlarının etkisi izledi. Orta derecede antibakteriyel etki oluşturan bu bitki ekstraktları *Tanacetum vulgare* (MiK 1mg/ml, zon çapı 14 mm), *Tanacetum partheneum* (MiK 1mg/ml, zon çapı 14 mm), *Verbascum spp.* (MiK 1mg/ml, zon çapı 14 mm), *Marrubium parvisorum* (MiK 1mg/ml, zon çapı 12mm) ve *Fumaria officinalis* (MiK 1mg/ml, zon çapı 12mm) dir. İncelenen bitkilerin Gr (+) bakterilere oranla Gr (-)’lere karşı etkilerinin daha düşük olduğu dikkati çekti. Bunun yanısıra bitkilerin Gr (-) bakterilere karşı en yüksek etkisi *Malva sylvestris* ile *K.pneumonia*’ ya (MiK 2mg/ml, zon çapı 12mm) karşı elde edildi. Gr (+) bakterilere karşı aktivite gösteren bitkilerden *Urtica dioica* hariç diğer ekstratların MiK değerleri 0,125 - 2 mg/ml iken Gr (-) bakterilere karşı bu değer 2-4 mg/ml arasında değişmektedir. *Pistacia terebinthus*

ekstraktının *S. enteritidis*'e karşı 8 mm çapında bir inhibisyon zonu oluşturmasına karşın MiK değerinin saptanmasında kullanılan başlangıç dilüsyonunda (4 mg/ml) bile üremenin inhibe edilemediği gözlemlendi.

Baharatın bakteriler, küf ve mayalar üzerine etkilerini ortaya koymak amacıyla çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Ehrlich ve ark (1995)'te 38 çeşit baharatın CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu ile elde edilen uçucu yağlarının tipik bozulma mikroorganizmaları olan *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus plantarum*, *Penicillium crysogenum*, *Candida kruse* ve acid-ozmotolerant mikroorganizmalar olan *Lactobacillus casei subsp. rhamnosus*, *Aspergillus glaucus*, *Zygosaccharomyces rouxii* ve *C.haemulonii*'ye karşı etkilerini araştırmışlardır. İncelenen ekstraktlar içinde en yüksek antimikrobiyal etkiyi gösterenler şerbetçiotu, defneyaprağı, karanfil, adaçayı, kekik, andızotu, tarhun, yaban kerevizi ve yabani mercanköşk olarak belirlenmiştir. Şerbetçiotu ve tarçın ekstraktlarının antimikrobiyal etkisinin sorbik asit ve benzoik asit etkisine eşit, hatta daha fazla olduğu da tespit edilmiştir.

Deans ve Ritchie (1987)'nin çalışmasında ise, 50 bitkinin uçucu yağlarının 25 bakteri türüne karşı antibakteriyel özellikleri incelenmiştir. Sonuçta en çok inhibisyon özelliğine sahip on uçucu yağın kekik, tarçın, defne, karanfil, acıbadem, yenibahar, mercan köşk, ve melekotu olduğu bulunmuştur. Melekotu 25 türe karşı inhibisyon özelliği gösterirken, defne yaprağı 24, tarçın, karanfil ve kekik 23, acıbadem, mercanköşk ve yenibahar 22, sardunya 21, yaban kerevizi ise 20 türe karşı etki göstermiştir.

Kekik, nane, defne yaprağı ve bunların alkol ekstraktlarının gıda zehirlenmesine yol açan bakterilerden *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* ve *Vibrio parahaemolyticus*'un gelişimi üzerine engelleyici etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada Aktuğ ve Karapınar (1988) *Salmonella typhimurium*'un üç baharat karışımında da en az duyarlılık gösterdiği belirlenmiştir. *S.aureus*'un gelişimini % 0,05 konsantrasyonda inhibe eden kekik, en etkili baharat olarak göze çarpmıştır. Öğütülmüş defne yaprağı ise *S.aureus*'un gelişimini ancak % 0,5 konsantrasyonda etkileyebilmiştir. *Vibrio parahaemolyticus*'un üremesi ise nane, kekik ve defneyaprağınının 1000, 5000 ve 6000 ppm konsantrasyonlarında dahi engellenememiştir. Böylece test edilen baharata karşı en dirençli bakteri olduğu tespit edilmiştir.

Farag ve ark. (1989), adaçayı, biberiye, çörekotu, kimyon karanfil ve kekik baharatının ve bunların temel bileşenlerinin inhibitör etkilerini analiz etmişlerdir. Çalışmada çeşitli uçucu yağların 0,25 – 12 mg/ml oranlarında dahi mikrobiyal gelişimi önlediği, uçucu yağların ve temel bileşenlerinin Gr (-) bakteriler üzerine Gr (+) bakterilere oranla daha etkili olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmada en etkili yağların kekik ve kimyon yağları olduğu bulunmuştur.

Biberiye, adaçayı, kekik, yabani mercanköşk, soğan, sarımsak, karabiber, tarçın, karanfil ve yenibaharın gıda kökenli mantarlardan *Trichoderma harziannum*, *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*, *F.culmorum*, *Mucor circinelloides*, *F.griseocyanus*, *Rhizopus stolonifer*, *Clodosporium clodosporioides*, *Aspergillus versicolor* ve *Penicillium citrinum* üzerine antimikrobiyel etkileri araştırılmıştır. (Schmitz ve ark. 1993) Yenibahar ve karanfil test edilen tüm mantarlarda toplam inhibisyon gösterirken; tarçın, *Rhizopus stolonifer*, *Mucor circinelloides*, *F.griseocyanus* ve *Fusarium oxysporum* hariç tüm mantarların gelişimini engellemiş, kekik de benzer fungisidal etki göstermiştir. Diğer baharatın böyle bir etkisi tespit edilememiştir.

Toroğlu ve ark. (2005) te yaptıkları bir çalışmada çay, baharat ve tıbbi amaçlı tüketilen *Teucrium polium L.*, *Thymbra spicata L. var. spicata*, *Ocimum basilicum L.*, *Foeniculum vulgare* uçucu yağlarının antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri in-vitro olarak disk difüzyon metodu'na göre *Micrococcus luteus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus brevis*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas pyocyaneus*, *Mycobacterium smegmatis*, *Escherichia coli*, *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, bakterileri, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Kluyveromyces fragilis* mayaları üzerindeki etkileri Gentamicin (10µg), Cephalothin (30µg), Ceftriaxone (10µg) antibiyotikleriyle ayrı ayrı ve birlikte kullanıldığında; bu antibiyotiklerin etkinliğinde meydana gelen değişimler in-vitro olarak değerlendirilmiş ve bitki uçucu yağlarının adı geçen test mikroorganizmaları üzerine farklı değerlerde antibakteriyel veya antifungal aktiviteleri olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca denenen bu uçucu yağlarının üç farklı antibiyotik ile birlikte kullanıldığında in-vitro etkinin farklılık gösterdiği belirlenmiştir.

*Thymbra spicata L. var. spicata* bileşiminde %1,2 – 1,8 oranında uçucu yağ bulunmaktadır. Uçucu yağları içerisinde bilhassa carvacrol bulunmaktadır. İnfüzyon halinde antiseptik ve uyarıcı etki yapmaktadır (Baytop 1984). Uçucu yağının 0,5 µl ve 1 µl'lik uygulamalarında

oluşturduğu inhibisyon zonları çalışmada kullanılan bakteri ve mantarların tamamında etkili zonlar oluşturduğu Çizelge 2.7.1’de verilmiştir.

Çizelge 2.7.1. *Thymbra spicata* uçucu yağının antimikrobiyal aktiviteleri Toroğlu ve ark. (2005)’in sonuçlarından uyarlanmıştır (Gentamisin, Cephalothin, CeFtriaxone).

Mikroorganizmalar	İnhibisyon zonları (mm)							
	Uçucu Yağ		Antibiyotik			Anti biyotik + Uçucu Yağ		
	0,5 µl	1 µl	G	C	F	G	C	F
<i>Escherichia coli</i>	15	28	25	25	38	31	23	41
<i>Micrococcus luteus</i>	15	30	26	16	8	31	20	18
<i>Staphylococcus aureus</i>	19	36	30	17	9	34	21	16
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	16	34	25	18	10	33	21	15
<i>Pseudomonas pyocyaneus</i>	9	18	26	16	9	29	20	15
<i>Yersinia enterocolitica</i>	22	46	25	14	9	28	18	14
<i>Aeromonas hydrophila</i>	22	46	25	18	11	32	21	15
<i>Enterococcus faecalis</i>	24	46	24	36	20	28	37	18
<i>Bacillus megaterium</i>	17	34	24	15	9	26	16	14
<i>Streptococcus faecalis</i>	17	36	25	17	10	25	16	12
<i>Bacillus brevis</i>	12	26	23	15	10	25	16	13
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	37	36	Test edilmedi					
<i>Klyveromyces fragilis</i>	38	80	Test edilmedi					

Çizelge’den de anlaşıldığı üzere *Thymbra spicata*, bütün mikroorganizmalarda antimikrobiyal aktivite gösterdiği, 1 µl kullanıldığında antibiyotiklerin etkisinden daha fazla olduğu görülmektedir. Bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal etkilerinin farklı olduğunu, bitkinin sahip olduğu kimyasal kompozisyonundan, kullanılan mikroorganizma türünden, bitki ekstraksiyonu yapıyorsa ekstraksiyonda kullanılan maddeden ve yöntemdeki farklılıklardan kaynaklanabileceği (Dülger ve ark. 1999) sonucuna varılmış. Uçucu yağlar ile birlikte kullanılan antibiyotiklerin etkileri kimi mikroorganizmalarda sinerjik etki, kiminde additive etki ve kimisinde de antagonistik etki yaptığı da belirlenmiştir.

Toroğlu ve ark. (2006) da yaptıkları başka bir çalışmada defne (*Laurus nobilis*) ve zencefil (*Zingiber officinale*) kullanılmış. Defnenin uçucu yağ kompozisyonu içerisinde % 35 – 50 oranında sineol bulunur. Terletici, antiseptik ve midevi etkilere sahiptir (Baytop, 1984). Defne uçucu yağının antibakteriyal ve antifungal aktiviteleri in-vitro olarak disk difüzyon metodu’na

göre *Micrococcus luteus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus brevis*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas pyocyaneus*, *Mycobacterium smegmatis*, *Escherichia coli*, *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, bakterileri ile *Saccharomyces cerevisiae* ve *Kluyveromyces fragilis* mayaları üzerindeki etkieri Gentamicin (10µg), Cephalothin (30µg), Ceftriaxone (10µg) antibiyotikleriyle ayrı ayrı ve birlikte kullanıldığında; bu antibiyotiklerin etkinliğinde meydana gelen değişimler in-vitro olarak değerlendirilmiş ve *Laurus nobilis*'in uçucu yağının 0,5 µl ve 1 µl 'de, denenen tüm test bakterilerine ve funguslara karşı inhibisyon zonu oluşturmadığı gözlenmiştir. Lakin *Laurus nobilis*'in uçucu yağının 2 µl'si, bakterilerden *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas pyocyaneus*, *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila*, *Enterococcus faecalis*'e ve funguslardan *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces fragilis*'e karşı inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiş. *Laurus nobilis*'in uçucu yağı Gentamicin antibiyotik diskine uygulandığında *Micrococcus luteus*, *Mycobacterium smegmatis*, *Bacillus megaterium*, *Streptococcus faecalis*, *Bacillus brevis*'de inhibisyon zonu artmıştır (Sinerjik etki). Diğer bakterilerde inhibisyon zonu düşmüştür (Antagonistik etki). Cephalothin ve Ceftriaxone antibiyotik disklerine uygulandığında *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium simegmatis*, *Bacillus megaterium*, *Streptococcus faecalis*, *Bacillus brevis*'de inhibisyon zonu artmıştır (Sinerjik etki). Diğer bakterilerde inhibisyon zonu düşmüştür (Antagonistik etki). *Laurus nobilis* uçucu yağının bakteri ve funguslar üzerinde antimikrobiyal etkisi mevcut olup, bu etki test edilen tüm bakteri türü için geçerli değildir. *Laurus nobilis* uçucu yağı test edilen antibiyotiklerle birlikte uygulandığında, *Laurus nobilis* uçucu yağının kendi başına antimikrobiyal etki göstermediği bakterilerde inhibisyon zon değerini artırdığı, antimikrobiyal etki gösterdiklerinde ise genel olarak inhibisyon zon değerini azalttığı belirlenmiştir. Ayrıca *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium smegmatis*, *Bacillus megaterium*, *Streptococcus faecalis*, *Bacillus brevis*'in neden olduğu hastalıkların antibiyotik tedavisinde *Laurus nobilis*'in ilaçla birlikte alınması antimikrobiyal etkiyi artırırken, diğer bakterilerde ise bu antibiyotiklerle birlikte alınması halinde antimikrobiyal etkiyi azaltacağı yorumu Çizelge 2.7.2.'de yapılmıştır Toroğlu ve ark. (2006).



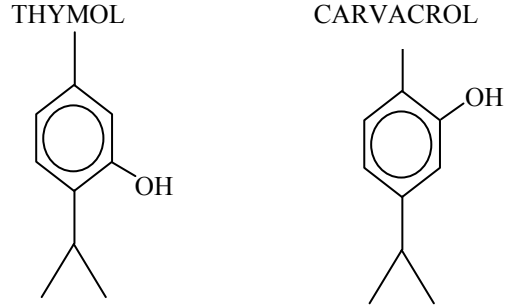
Çizelge 2.7.2. *Laurus nobilis* uçucu yağının antimikrobiyal aktiviteleri Toroğlu ve ark. (2006)'in sonuçlarından uyarlanmıştır (Gentamisin, Cephalothin, CeFtriaxone).

Mikroorganizmalar	İnhibasyon zonları (mm)							
	Uçucu Yağ		Antibiyotik			Anti biyotik + Uçucu Yağ		
	0,5 ve 1 µl	2 µl	G	C	F	G	C	F
<i>Escherichia coli</i>	Ø	8	25	25	38	32	25	40
<i>Micrococcus luteus</i>	Ø	Ø	26	16	8	36	21	16
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ø	7	30	17	9	35	25	17
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	Ø	Ø	25	18	10	29	25	17
<i>Pseudomonas pyocyaneus</i>	Ø	12	26	16	9	31	21	16
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Ø	8	25	14	9	31	21	15
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Ø	8	25	18	11	31	22	17
<i>Enterococcus faecalis</i>	Ø	8	24	36	20	28	40	18
<i>Bacillus megaterium</i>	Ø	Ø	24	15	9	28	19	14
<i>Streptococcus faecalis</i>	Ø	Ø	25	17	10	30	18	13
<i>Bacillus brevis</i>	Ø	Ø	23	15	10	30	20	14
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Ø	10	Test edilmedi					
<i>Klyveromyces fragilis</i>	Ø	20	Test edilmedi					

Carvalho ve ark. (2003) te mine çiçeğinin (*Lippia Sidoides*) farklı konsantrasyonlardaki esansiyel yağının *Aedes Aegypti* larvası ile yaptığı çalışmada ve mine çiçeğinin iki temel bileşeni olan Carvacrol ve Thymol saf kimyasallarının etkilerini birlikte ölçümleyerek *Aedes Aegypti* larvasının ölüm oranı ve zamanı olarak kayıt etmiştir. Çalışma sırası ile % 100, % 50, % 20, % 10, % 5 oranlarında esansiyel yağ ve % 0 (saf su) kullanılmış. Seyreltme oranı % 100 ve % 50 seyreltmelerde mortality (% 100) / 5 dk., % 20 mortality (% 100) / 20 dk., % 10 seyreltmede mortality (% 100) / 24 saat, % 5 seyreltmede mortality (% 50 ± 8) / 24 saat, gerçekleştiği rapor edilmiştir.

Carvacrol ve Thymol ayrı ayrı kullanımında, 1:1 oranında birlikte kullanımları ve saf su ile test edilmiş, *Aedes Aegypti* larvasının ölüm oranı ve zamanı olarak kayıt etmiştir. Carvacrol ve Thymol Şekil 2.7.1.'de moleküler yapısı verilmiştir. Çalışma sırası ile Tymol % 0,085, % 0,040, % 0,017, % 0,008, Carvacrol % 0,004, Carvacrol ve Thymol % 0,004 + % 0,004 oranlarında hazırlanmış ve % 0 (saf su) kullanılmış. Sırası ile Thymol oranı % 0,0085 konsantrasyonundaki mortality (% 100) / 30 dk., % 0,004 konsantrasyonundaki mortality (% 100) / 30 dk., % 0,0017 konsantrasyonundaki mortality (% 100) / 90 dk., % 0,0008

konsantrasyonundaki mortality (% 0) / 24 saat, Carvacrol oranı % 0,004 konsantrasyonundaki mortality (% 0) / 24 saat, Thymol + Carvacrol oranı % 0,0040 + 0,0040 konsantrasyonundaki mortality (% 100) / 30 dk., gerçekleştiği rapor edilmiştir. Her iki çalışmada da saf su ile yapılan testlerde sonuç alınamamıştır.



Şekil 2.7.1. Carvacrol ve Thymol molekülerinin yapısı

Aldred ve ark., (2008)'de yaptıkları bir çalışmada *Penicillium verrucosum* ve *Penicillium westerdijkia* tarafından üretilen Ocratoksin (OTA) oluşumu ve küf gelişimi üzerinde defne, karanfil ve tarçın esansiyel yağların etkilerini incelemişlerdir. Bu çalışmada farklı su aktiviteleri (0,9 aw, 0,95 aw, 0,995 aw) ve farklı depolama sıcaklıklarında (15 °C ve 25 °C) ışınlanmış buğday taneleri üzerinde çalışma yapılmış. Esansiyel yağların *Penicillium verrucosum* ve *Penicillium westerdijkia*'nın ürettiği OTA üzerine etkileri değerlendirildiğinde 200 – 300 mg / g'ın etkili olduğu görülmüştür. Uygulamalarda küf gelişimi üzerinde tekli, ikili veya üçlü etkileşimlerin istatistiksel olarak önemli etkileri olduğu görülmüş. Çalışmada buğday taneleri 28 gün depolanmış ve depolamanın sonunda OTA konsantrasyonunda % 60 azalma tespit edilmiş. Çalışmada aw değerinin önemli bir etken olduğu ve bu değer kritik olduğu görülmüş. Buğdayın etkin olmayan kurutma nedeniyle hasat sonrası bozulması kolaylaştırmaktadır. Çalışmalarda kullanılan esansiyel yağların küfler üzerinde etkili olmalarına karşın mikotoksin oluşumunu engellemediği hatta bazı durumlarda ters etki yaptığı birkaç çalışmada vurgulanmıştır. Buğdayların su ile aw değerleri değiştirilmesi sonucu küf gelişimi arttırdığı ve esansiyel yağın antifungal etkisinden dolayı küflerde savunma mekanizması sonucunda mikotoksin miktarında artış olabileceği vurgulanmıştır. Endüstriyel antioksidanların analitik seviyedeki kimyasallar kadar etkin olması bu kimyasalların kullanımına olanak sağlayacağı önerilmektedir.

Sartoratto A., ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada *Mentha piperita*, *M. spicata*, *Thymus vulgaris*, *Origanum vulgare*, *O. opplii*, *Aloysia triphlla*, *Ocimum granitissimum*, *O. basilicum* bitkilerinin esansiel yağları Clevenger – type distilasyon cihazında esansiyel yağları elde edilerek, MIC yöntemi ile *Candida albicans*, *E. faecium*, *Salmonella cholerasius* üzerinde yüksek derecede etki olduğunu tespit etmişler. *S. aereus* üzerinde ise orta derecede etkili olduğunu yayınlamışlardır.

Boyraz ve Koçak (2006), yaptıkları denemede çörtlük, ısırgan, kekik, nane, ökaliptus, sarmaşık, yavşan ve zakkum bitkilerinin yaprakları, ardıç ve kimyonun ise meyveleri kullanılmış ve mikroorganizma olarakta, *Alternaria mali Roberts Colletotrichum circinans (Berk.) Vogl.*, *Fusarium oxysporum Synder & Hansen*, *Botrytis cinerea Pers.* ve *Sclerotinia sclerotiorum (Libert) de Bary* kullanılmıştır. PDA da zenginleştirilen mikroorganizmalar önceden hazırlanmış bitki extreleri ile aşılansmış ve sonuçları 6 gün sonunda koloni çapları ölçülmesi ile aktivite hesaplanmıştır. In vitro koşullarda üç farklı doz seviyesinde uygulanan kekik, kimyon, okalıptus, nane, çörtlük, ardıç, yavşan, zakkum, ısırgan ve sarmaşık ekstraktlarının fitopatojen fungusların kolonyal gelişimine etkilerinin değişik seviyelerde olduğu tespit edilmiş ve her bir bitki ekstraktının farklı dozlarında yüzde engelleme oranları inkübasyonun 6. günkü değerleri üzerinden hesaplanarak ayrı ayrı şekiller halinde verilmiştir. Kekik ekstraktının değişik dozlarda fitopatojen funguslara olan antifungal etkisi değerlendirildiğinde denemeye alınan tüm fitopatojen funguslara karşı % 0,5 % 1 ve % 2 dozlarında yüksek düzeyde (% 100) antifungal etki gözlenmiş ve etkinin inkübasyon süresince devam ettiği görülmüş. Kekik ekstraktın bütün dozlarda fungisidal etki gösterdiği saptanmıştır. Diğer baharatlar sırası ile kimyon ekstraktının (% 90) engellediği görülmektedir. Çörtlük ekstraktını % 80 oranındaki engelleme ile ilk sıraları aldığı görülmüştür.

Abu-Shanab ve ark. (2004 ve 2006)'te yaptıkları bir çalışmada popüler bir ilaç olan Palestine ile farklı 5 bitkinin (*Syzyium aromaticum*, *Cinnamonmum cassia*, *Salvia officinlis*, *Tymus vulgaris* ve *Rosmarinus officinalis*) sıcak su, metanol, etanol ile elde edilen ekstraktların antibakteriyal aktiviteleri incelenmişler. Bu ekstraktların karışımları 4 farklı Gr (+) ve Gr (-) bakteri (*S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli O157* ve *B. subtilis*) türleri üzerindeki etkilerini belirlemişlerdir. Çalışmada bitkiler hava akımında kurutulmuş, ardından öğütülmüş, sıcak su, % 80 metanol ve % 80 etanol ekstraktları alınmış, filtre edilerek evaporatörde saflaştırılmıştır. NCCLS disk difüzyon yöntemi ile antibakteriyal etkileri ölçülmüştür. Tüm ekstraktların Gr (+) bakteriler üzerinde etki gösterdiği, Gr (-)

bakterilerin daha az etkilendiğini tespit etmişlerdir. Bitki ekstraktlarının kombinasyonlarının bakteriler üzerinde sinerjik etkiyi arttırmış antibakteriyal etkiyi arttırdığı görülmüştür. Bu etki mikroorganizmanın hücre duvarında bulunan proteinler ile terpenoid ve flavonoidlerin etkileşimi olduğunu bildirmişlerdir.

Gr (+) ve Gr (-) bakterilerin etkilerini ölçmek için *Tymus pubescens* (kekik) bitkisinden metanol ile ekstrakt alınmış ve 50 mg/ml, 25 mg/ml, 12,5 mg/ml, 6,25 mg/ml, 3,12 mg/ml ve 1,56 mg/ml'lik konsantrasyonları kullanılarak antibakteriyal etkiler değerlendirilmiş, bu değerlendirme sonucunda en düşük konsantrasyonları dahi etki gösterdiği (Mehrgan ve ark. 2008) tespit edilmiştir.

İlhan ve ark. (2007)'de yaptıkları bir çalışmada Hind kenevirini (*Corchorus olitarius L.*) petrol eteri ile 8 saat boyunca soxhalet ekstraksiyonuna tabi tutmuşlar. Elde edilen esansiyel yağdan 1:10 oranında alarak 40 °C'de metanol ile shakerde ikinci kez ekstrakte edilerek dimetilsülfaoksit içersinde kurutulmuştur. Hind kenevirinin esansiyel yağı Gr (+), Gr (-) bakterilere (*Bacillus cereus* (NRRL 3711), *Bacillus subtilis* (NRRL B-209), *Enterobacter aerogenes* (NRRL B-3567), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Micrococcus luteus* (NRRL B-1018), *Proteus vulgaris* (NRRL B-123), *Pseudomonas gingeri* (3146), *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Streptococcus faecium* (NRRL B-3502), *Yersinia enterocolitica*), küf ve mayalar (*Aspergillus flavus* (NRRL 1957), *A. fumigatus* (NRRL 163), *A. niger* (ATCC 10949), *A. parasiticus* (NRRL 465), *Botrytis cinerea* (9492), *Candida albicans* (NRRL Y-12983), *C. Glabrata*, *Fusarium graminearum* (wild type), *F. solani* (wild type), *Geotrichum candidum* (wild typ), üzerinde antibakteriyal ve antifungal etki gösterdiği ve inhibisyon zon çapları (11–20 mm) arasında değiştiği gözlemlenmiştir.

Thanaboripat ve ark (2007)'de yaptıkları bir çalışmada 16 esansiyel yağın *Aspergillus flavus*'a karşı etkilerini 7, 14, 21 ve 28. günlük etkilerini incelemişler. Tüm aromatik bitkilerin % 50 (v/v) oranında *Aspergillus flavus*'un gelişimini durduğu tespit edilmiştir. *Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris*, *Mentha piperita* v.b aromatik bitkilerin *Aspergillus flavus* üzerine % 3–8 (v/v) oranında optimum etkiyi yaptığı vurgulanmıştır.

*Thymus (Lamiaceae)* cinsinin Türkiye’de 38 türü bulunmakta ve bunların 24 türü endemik bitki sınıfındadır. Toplanan kekik türleri türleri su buharı distilasyonu ile esansiyel yağ elde edilmiş ve bu esansiyel yağlar GC / MS’de incelenmiştir. *Thymol* Gr (+), Gr (-) bakterilere, küf ve mayalara karşı etkilerinin olduğu bildirilmiştir. Çalışmada *Thymus* türlerinin esansiyel yağlarının yüksek miktarda mono terpen fenollerini içerdiği tespit edilmiştir (Azaz ve ark. 2003).

Bluma ve Etcheverry (2008)’de yaptıkları çalışmada mısır, fıstık, pamuk tohumu v.b tarımsal ürünlerin *Aspergillus sp.*’nin tüm türlerinin toksin oluşturduğu ve adı geçen tarımsal ürünlerin Af B<sub>1</sub> ile kirlendiği ve ürünlerde ciddi zararlar oluşturduğu, ekonomik kayıplar meydana getirdiği vurgulanmıştır. Tarımsal ürünlerde oluşan AF B<sub>1</sub>, küflerin ikincil metaboliti şeklinde oluşmaktadır. Bu durum tarımsal ürünlerin tarlada toplanma esnasında iyi kurutulmaması veya aşırı nemli depolanması sonucunda ürünün su aktivite (aw) değerindeki yükselişten kaynaklanmaktadır. Hasat edilmiş tarımsal ürünler yaklaşık % 18 – 20 neme sahiptir. Çalışmada tarımsal ürünler 12 kGy gamma ışınına tabi tutularak sterilize edilmiş ve 4 °C de saklanmıştır. Yine çalışmada kullanılan tarımsal ürünlerin su aktivite (aw) steril saf su ile 0,900 aw, 0,950 aw ve 0,980 aw’ye ayarlanmıştır. Bitki ekstraktları 500 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm ve 3000 ppm konsantrasyonları hazırlanmıştır. Su ve ekstraktların iyi karışması için yüksek devirli karıştırıcı kullanılmıştır. Tarımsal ürünlere pülverizasyon yapılarak 2 gün boyunca 4 °C de saklanmış. 11 ve 35 günlük ölçümler alınarak AFB<sub>1</sub> sonuçları alınmıştır. Esansiyel yağlardan clove (karanfil) ve anison (anasonun) az etkili olduğunu, thyme (kekik), boldus ve poleo (nane) sonuçların % 100 etkili olduğu tespit edilmiş. Aldred ve ark. (2008) yaptıkları bir çalışmada tarımsal ürün olarak (buğday) kullanmış ve çalışmasında *Penicillium verrucosum* ve *Aspergillus westerdijkae* küflerini kullanmış, Bluma ve Etcheverry (2008) yaptıkları çalışmalarında benzer çalışmasında buğdaylar gamma ışınına tabi tutulmuş, su aktivite (aw) steril saf su ile 0,900 aw, 0,950 aw ve 0,995 aw’ye ayarlanmıştır. Bitki ekstraktları 200–300 ppm konsantrasyonları hazırlanmıştır. Tarımsal ürünlere esansiyel yağlardan pülverizasyon yapılarak 3 gün boyunca 4 °C de saklanmış. 15 ve 25 °C’de 7 ve 28 günlük küf miktarlarına ve okratoksin seviyeleri ölçülmüş. Esansiyel yağlar % 60 etkili olduğu tespit etmişler. Bu çalışmalarda bitkisel esansiyel yağların depolama sürecinde tahıllardaki mikotoksinlerin gelişimini önlemede kullanılabileceği gibi depolanan ürünlerdeki korumanın sağlanabileceği, fümigant olarak kullanılabilmesi için buhar fazındaki bioaktivitelerin fazla olması gerekliliği (Bluma ve Etcheverry 2008, Aldred ve ark. 2008) tarafından vurgulanmıştır.

Başka bir çalışmada turunçgillerin gerek dalında gerekse hasadından sonraki diğer evrelerinde (depolama, sevkiyat, satış ve satış sonrası depolama) ürünlerin *Penicillium digitatum* tarafından bozulma yapması üzerine kurgulanmış araştırmada *Origanum syriacum var. bevanii*, *Artemisia annua*, *Laurus nobilis*, *Lavandula stoechas subsp. stoechas*'ın etkinlikleri incelenmiş. Bu çalışmada % 69 *Lavandula*, % 58 *Laurus* ve % 28 *Artemisia* etkin olarak sonuç verdiği tespit edilmiştir (Soylu ve ark. 2005).

Mendivil ve ark., (2006)'da yaptıkları çalışmada kekiğin su buhar distilasyonu ile yaptıkları çalışmada 60 lt kapasiteli çelik tank tasarlamışlar ve çalışmada elde ettikleri kekik esansiyel yağının kimyasal kompozisyonunu çıkarmışlar. Esansiyel yağın *Alternaria citri*'nin misel gelişimi incelenmiş ve sonuçların çok etkili olduğu tespit edilmiş. Sonuçlarda 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm 1000 ppm in – vitro şartlarda denenmiş ve kekik esansiyel yağının *Alternaria citri*'nin misel gelişimine karşı etkili olduğu görülmüştür. 1000 ppm ve daha üstündeki konsantrasyonlarda bu küfün gelişimini durdurduğu tespit edilmiştir.

Baranowska ve ark. (2002)'de yaptıkları bir çalışmada *Pinus panderosa* (Kuzey Amerika Çamı), *Pinus resinosa* (Kızıl Çam) ve *Pinus strobus* (Doğu Beyaz Çamı)'nın iğne yapraklarından elde edilen esansiyel yağların kimyasal yapıları değerlendirilmiştir. Çamlardan elde edilen esansiyel yağları *Fusarium culmorum*, *Fusarium solani*, *Fusarium poae* küfleri üzerinde etkileri % 2, % 3 ve % 5 konsantrasyonlar hazırlanmıştır. Esansiyel yağların etkisi bilgisayarlı görüntü analizörü (Impedans) yöntemi ile incelenmiş. Esansiyel yağlardan *Pinus panderosa* % 2 konsantrasyonunda *Fusarium* küflerini inhibe etmiştir. Diğer çamların esansiyel yağları % 5 konsantrasyonunda *Fusarium* küflerine etkili olduğu tespit gözlenmiş. Bu farkın nedeninin kimyasal kompozisyonlarının farklılığı neden olduğu kanısına varılmış. Çamların kimyasal yapılarına bakıldığında terpenlerin farklı oranlarda olduğudur. En etkili terpenlerin sırası ile  $\beta$ -pinene,  $\alpha$ -pinene ve Myrecene olduğuna dikkat çekmişlerdir.

Tıpta, alternatif tedavide, kozmetikte, gıda katkılarında ve diğer sanayilerde kullanılan uçucu yağların doğal olarak bitkilerden elde edilmesi; organik çözücü maddeler yardımıyla ilgili bitki kısımlarının preslenmesi, su buharı distilasyonu veya ekstraksiyonu ile olmaktadır (Deans ve Dorman 2000).

Birçok çalışmada ekstraksiyon işlemleri farklı araştırmacıların farklı yöntem izlemesine yol açmıştır. Bu yöntemleri su buharı ile ekstraksiyon, çözücü ile ekstraksiyon, baharatların çözücü içerisinde mesarasyonu (dinlendirilerek) ekstraksiyonu, çözücü ekstraksiyonu bittikten tekrar farklı bir çözücü ile ekstraksiyon gibi yöntemler geliştirilmiştir. Cowan (1999a) ve Samy ve Gopalakrishnakone (2008) farklı zamanlarda yaptıkları çalışmalarda ekstraksiyonda bitkiler içerisinde bulunan esansiyel yağların içeriğinde bulunan kimyasalların birçoğunu elde edilmesinde en etkili çözücünün farklı birçok kimyasal kompananti çözebilen solventi kullanmak çalışmanın verimi açısından iyi olacağı kanaatine varmışlardır. Çizelge 2.7.3'de birçok kimyasal maddeyi çözmede en etkili metanolün olduğu görülmektedir. Çizelgede sırası ile metanol 11, etanolün 10, su 8, eter 6 farklı kimyasal kompananti çözdüğü görülmektedir. Bitkilerden esansiyel yağı en iyi kalite ve verimde elde etmek için en doğru yöntem polar ve polar olmayan kimyasal köklerin farklı ekstraksiyonlar ile yapılmasıdır. Bu uygulama bitki esansiyel yağlarından antimikrobiyal, antifungal, antiviral ilaç yapımında kullanılmaktadır (Samy ve Gopalakrishnakone 2008).

Çizelge 2.7.3. Farklı solventlerin aktif oldukları kimyasal kompanantler (Cowan 1999a, Samy ve Gopalakrishnakone 2008).

H <sub>2</sub> O	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	CH <sub>3</sub> OH	CCl <sub>4</sub>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Eter	Hegzan	Aseton
Antisiyaninler Nişastalar Taninler Sopanınler Terpenoidler Polipeptitler Lektinler Glikosidler	Taninler Polifenoller Poliacetinler Flavonol Terpenoidler Steroller Alkoloidler Propolis Sesquiterpenler Aporfinler	Antisiyaninler Terpenoidler Sopanınler Taninler Ksantoksinin Totarol Quassinoidler Laktonlar Flavonlar Fenoneler Polifenoller	Terpenoidler Flavonoidler Steroidler Ursalik asit	Terpenoidler	Alkoloidler Terpenoidler Cumarinler Yağ asitleri Taninler Proantisiyaninler	Karvacrol	Flavonoller Alkoloidler Glikozidler Naphtoller

Bilindiği gibi uçucu yağların, uçuculuk, hidrofobiklik, bağışıklık, sinir, sindirim ve solunum sisteminde etki gösteren özel kokulara sahip olma gibi özellikleri vardır. Bu son özellikleri, biyolojik olarak aktif olabileceklerini ortaya koymaktadır. En çok rapor edilen özellikleri antimikrobiyal olmalarıdır ve bu özelliklerin ortaya çıkarıldığı testler belli bir standardizasyona bağlı değildir ve uygun laboratuarlarda yapılabilir. Genel olarak kullanılan teknikler agar difüzyon ve broth-dilüsyon yöntemleridir (Anssen 1987). Bu metotlar dışında uçucu yağların inhibisyon zon çaplarını belirlemek üzere son yıllarda kullanılan diğer bir

yöntemde disk difüzyon metodudur (Çelik ve Çelik 2007). Dilüsyon teknikleri, bir mikroorganizmanın antibiyotiklere duyarlılığını tayin etmek için geliştirilmiştir. Ancak bitki ekstraktları veya uçucu yağların da antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesinde de kullanılmaktadır. Bu metotta, ticari olarak geliştirilmiş, 80 – 100 veya daha fazla kuyucuğa sahip plaklar kullanılmaktadır. Bu kuyucuk serilerinde madde dilüsyonları hazırlanmakta ve belli bir miktarda kültürün ilavesiyle, madde ve mikroorganizma etkileştirilmektedir. İnkübasyondan sonra test edilen antimikrobiyal maddenin, kullanılan mikroorganizmaya karşı hangi konsantrasyonda etkili olduğu üremenin varlığına veya yokluğuna göre belirlenmektedir. Üremenin varlığı ya da yokluğu bulanıklık tayiniyle yapılmakta ve üremenin olmadığı en düşük konsantrasyon değeri, Minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değeri olarak tanımlanmaktadır (Anssen 1987, Konema ve ark. 1997, Elof 1998b, Deans ve Dorman 2000).

Antimikrobiyal testlerde kullanılan bir diğer metot da agar difüzyon metodudur. Uçucu yağların test edilmesinde kolaylığından dolayı en çok bu teknik tercih edilmektedir. Kalitatif ve yarı kantitatif bilgiler bu metotla ortaya çıkarılabilmektedir. Agar difüzyon tekniğinde, içinde test edilecek olan maddenin bulunduğu bir çukur sistemiyle, test organizmasının bulunduğu uygun bir besiyeri kullanılmaktadır. Besiyeri üzerine, belirli çapta açılan kuyulara homojen olarak çözülmüş uçucu yağ karışımı koyulmaktadır. Kullanılan maddenin yapısal özelliği difüze olma yüzdesini veya süresini etkileyebilmekte bu durum da deney sonuçlarında da etkili olabilmektedir. İnkübasyon süresi sonunda, kullanılan madde etkili ise çukurların etrafında belirgin biçimde üremenin olmadığı inhibisyon zonları oluşmaktadır. Oluşan inhibisyon zonlarının çapları ölçülerek kaydedilmekte ve değerlendirilmektedir. Kuyucuklara koyulan maddenin artan ya da azalan konsantrasyonlarıyla, aktivite sonucu oluşan inhibisyon zonu çaplarının da doğru orantılı olarak artması ya da azalması beklenmektedir (Anssen 1987, Konema ve ark. 1997, Elof 1998b, Deans ve Dorman 2000).

Samy ve Gopalakrishnakone (2008)'de yaptıkları çalışmada bitki esansiyel yağlarında bulunan kimyasal komponentlerin küfler, bakteriler ve virüsler üzerindeki etkileme mekanizmalarını hücre duvarlarını, membranlarını parçaladıklarını tespit etmişler. Bu işleme thymol, carvacrol,  $\gamma$  - terpinene,  $\rho$  - cymene,  $\beta$  - pinene,  $\alpha$  - pinene v.b gibi terpenlerin neden olduğunu tespit etmişler. Birçok bitkinin esansiyel yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri Cowan (1999b)'dan uyarlanarak (Çizelge 2.7.4'de) verilmiştir.



Çizelge 2.7.4. Bazı Bitkilerin Komponentleri ve Antimikrobiyal Aktiviteleri (Cowan 1999b).

Bitkinin adı		Kompanenti	Kimyasal türü	Aktivitesi	Toksik Etkisi
<i>Piper betel</i> <i>Piper nigrum</i>	Biber	Esansiyel yağ, alkaloid	Eugenol, catechols piperine,	Genel Küf, E.coli, koklar	1,0
<i>Laurus nobilus</i>	Defne	Esansiyel yağ	Terpenoid	Bakteriler, küfler	0,7
<i>Thymus vulgaris</i>	Kekik	Thymol, tanin, caffeic asit	Terpenoid, fenolik alkol, polifenol	Bakteriler, küfler, virüs	2,5
<i>Satureja montana</i>	Kekik	Carvacrol	Terpenoid	Genel	2,0
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Biberiye	Esansiyel yağ, carnosolic asit	Terpenoid, Proteaz aktivite	Genel, Anti-HIV	2,3
<i>Allium sativum</i>	Sarımsak	Allicin, ajoene	Sulfoksit, sülfat terpenoid,	Genel	
<i>Allium cepa</i>	Soğan	Alicin	Sulfoksit	Bakteri, Candida,	
<i>Syzygium aromaticum</i>	Karanfil	Eugenol	Terpenoid	Genel	1,7
<i>Mentha piperita</i>	Nane	Mentol	Terpenoid	Genel	

Genel : Bakteri (Gr pozitif bakteriler ve Gr negatif bakteriler), küf, protozoa  
Toksik Etkisi : 0 etkisiz, 1 az etkili, 2 etkili, 3 çok etkili

### **3. MATERYAL VE METOD**

#### **3.1. MATERYAL**

##### **3.1.1. Kekik (*Mountain thyme*)**

Çatalca / İstanbul bölgesinden Temmuz 2009 döneminde çiçeklenmeden önce yeşil olarak toplanmıştır. Toplandıktan sonra gölgede kurutulmuş ve öğütülerek ışısız ve kuru bir ortamda saklanmıştır. Öğütme işleminden sonra baharatların nemine, su aktivitesine, pH, küf ve mikotoksin (Af B<sub>1</sub>) değerlerine bakılarak kayıtları alınmıştır.

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

Çatalca / İstanbul bölgesinden Haziran 2009 döneminde yeşil olarak toplanmıştır. Toplandıktan sonra gölgede kurutulmuş ve öğütülerek ışısız ve kuru bir ortamda saklanmıştır. Öğütme işleminden sonra baharatların nemine, su aktivitesine, pH, küf ve mikotoksin (Af B<sub>1</sub>) değerlerine bakılarak kayıtları alınmıştır.

##### **3.1.3. Defne (*Laurus nobilis L.A.*)**

Çatalca / İstanbul bölgesinden Ağustos 2009 döneminde yeşil yaprakları toplanmıştır. Toplandıktan sonra gölgede kurutulmuş ve öğütülerek ışısız ve kuru bir ortamda saklanmıştır. Öğütme işleminden sonra baharatların nemine, su aktivitesine, pH, küf ve mikotoksin (Af B<sub>1</sub>) değerlerine bakılarak kayıtları alınmıştır.

##### **3.1.4. Potasyum Sorbat**

Merck kimyadan temin edilerek denemelerde kullanılmıştır.

### **3.1.5. Buğday (*Triticum aestivum* L), ve Mısır (*Zea mays*)**

Sakarya bölgesinden Temmuz 2009 dönemindeki hasattan alınmış ve ışıksız ve kuru bir ortamda saklanmıştır. Alındıktan sonra nemine, su aktivitesine, pH, küf ve mikotoksin (Af B<sub>1</sub>) değerlerine bakılarak kayıtları alınmıştır.

### **3.1.6 *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus***

*Aspergillus flavus* (29.12.2006 da izole edilmiş ve 123 seri nolu) ve *Aspergillus parasiticus* (11.10.2006 da izole edilmiş ve 1041 seri nolu) suşu TÜBİTAK–MAM Gıda Bölümü Küf kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.

Analizlerde kullanılacak kimyasallar, cihazları, gıda ve mikrobiyoloji laboratuvarı Elvan Gıda Sanayi Ticaret A.Ş.'de yapılmıştır.

## **3.2. METOD**

### **3.2.1. Laboratuvar Analizlerinin Yapılması**

#### **3.2.1.1. Nem Analizi**

Çalışmada klasik yöntem ile nem tayini belirlenmiştir. Nem tayini yönteminde; kullanılacak kabın “petri kabı” darası 105 °C de sabit tartıma gelinceye kadar tartımları alınır. Numune kabın son iki tartımları arasında 0,0005 g fark kalıncaya dek kabın etüvde bekletilerek kabın darası alınır.

Numuneler yeterli miktarlarda alınarak değirmende öğütülür, analitik hassasiyetli terazide 3–5 g arasında numune tartılır. Numunelere el değmeyecek şekilde maşa yardımı ile madde kaybına sebebiyet vermeden etüve yerleştirilir. 105 °C’de en az 4 saat süre kurutma işlemine bırakılır. Etüvden alınan numuneler bekletilmeden desikatöre konur. Soğuması tamamlanmış numune tartılır. Tekrar etüve konur. Etüvde 1 saat daha kurutmaya devam edilir. Tekrar çıkarılır ve desikatörde soğutulduktan sonra tekrar tartılır. İki tartım arasındaki fark 0,0002 g oluncaya kadar kurutma işlemine devam edilir (Pomeranz ve Meloan 1987, Anonymous 1990a, Dokuzlu 2000, Anonymous 2001a). Her numunedan üç paralel çalışılır.

### 3.2.1.2. Su Aktivite (aw) Analizi

Ölçümlerimizde NOVASİMA Labswift-aw model cihazı kullanılarak yapılmıştır. Cihazdan görünüm Şekil 3.2.1.2.1’de verilmiştir. Cihaz numuneleri test etmeden önce kalibrasyon kitleri ile önce ayarlanması (doğrulanması) yapılarak kullanılmıştır.



Şekil 3.2.1.2.1. Novasima Labswift – aw cihazdan görünüm

Doğrulaması tamamlanmış cihaza nem analizinde olduğu gibi tüm numuneler öğütülerek test işlemine geçilmelidir. Öğütülen numuneden su aktivite cihazının plastik kabına silme olacak şekilde doldurulur. Numune kabına dolurken numunenin ıslanmamasına, el değdirilmemesine dikkat edilmelidir. Numune kabını cihazın haznesine yerleştirilir. Cihazın kapağı kapatılır. Kapak kapanır kapanmaz ölçüm işlemi başlar. Sonuç cihazın ekranından direkt okunur. Her numuneden en az üç paralel çalışılır.

### 3.2.1.3. pH Analizi

pH analizleri, pH metre ile yapılmıştır (Anonymous 1990a, Anonymous 1999, Dokuzlu 2000). Cihazdan görünüm Şekil 3.2.1.3.1’de verilmiştir. İşlemden önce öğütülmüş numunelerden cam beher 10 g numune + 90 ml saf su konular ve manyetik karıştırıcıda homojen oluncaya kadar karıştırılır. pH ölçümü yapmadan önce pH metreler 20 °C de önce tampon 7 kalibrasyon çözeltisine daldırılır ve sapma var ise ayarlanır. Saf su ile prob yıkanır ve ardından da tampon 4 kalibrasyon çözeltisine daldırılır ve sapma var ise ayarlanır. Saf su ile prob yıkanır. pH

metreler numune çözeltilerine daldırılır ve pH ekranı sabitlenene kadar ölçüm alınır. Her ölçüm arasında pH metreler saf su ile yıkanarak kullanılır (Pomeranz ve Meloan 1987). Her numuneden en az üç paralel çalışılır.



Şekil 3.2.1.3.1. Hanna HI 8314 marka pH metre cihazından görünüm

#### 3.2.1.4. Küf Analizleri

Küf analizleri klasik yöntem kullanılarak yapılmıştır (Halkman 2007). Yöntemde Maximal Recovery Diluent çözeltisi hazırlanır. 100 ml lik erlenlere 90 ml ve dilüsyonlar içinde 20 ml lik tüplere 9 ml alınarak 121 °C de 15 dakika otoklavda steril edilir. Tüm numunelerden aseptik koşullarda 10 g tartılır ve steril erlenlere aktarılır. Çalkalayıcıda 15 – 20 dakika süreyle homojenize edilir. Homojenize olmuş örnekten 1 ml alınarak steril tüplerde dilüsyonu yapılır. Uygun dilüsyon sayısına ulaşıncaya; daha önce hazırlanmış ve steril edilmiş petri kaplarındaki DRBC agara en az iki paralel olacak şekilde ekimi yapılır (Anonymous 1989, Ünlütürk ve Turantaş 1996a-b, Anonymous 2001b, Pichhardt 2004).

26 °C'de en az 4 gün inkübasyon sonunda DRBC agar besiyerindeki koloniler küf olarak sayılır. Sertifikalı suşlardan ekimlerde küfün adı ile sayısı alınmıştır. *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* suşlarından yapılan ekimlerde  $10^{-6}$  –  $10^{-8}$  oranında seyreltme yapılarak ekim yapılmıştır.

### 3.2.1.5. Aflatoksin B<sub>1</sub> (Af B<sub>1</sub>)Analizleri

Yöntemde numunelerde bulunan aflatoksinlerin ekstraksiyon işlemine tabi tutularak saflaştırılmasından sonra, Af B<sub>1</sub>'in triflorasetikasit (TFA) ile türevlendirilmesi ve ters-faz sıvı kromatografisinde floresans dedektörle tayin edilmiştir. Yöntemde 0,1 ng/g Af B<sub>1</sub>'i ölçülebilir olmalıdır.

50 g numune 1 lt'lik blendre alınır ve sırasıyla 200 ml metanol 50 ml 0,1 N HCl ilave edilerek 3 dakika yüksek hızda karıştırılır. Süspanse çözelti 1000 d/d 10 dakika santrifüj edilerek süzgeç kağıdından süzme işlemi gerçekleştirilir (Anonymous 1985, Pomeranz ve Meloan 1987, Anonymous 1997, Anonymous 2002b). 50 ml süzüntü 250 ml lik ayırma hunisine alınır, berrak olmamış ise 50 ml %10'luk NaCl çözeltisi ilave edilip hafifçe döndürerek karıştırılır. 50 ml hekzan konulup 30 saniye yavaşça çalkalanır. Fazların ayrılması beklenir ve alttaki sulu faz başka bir 250 ml'lik ayırma hunisine alınıp, üst faz atılır. 25 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> ilave edilerek 30 saniye orta şiddette çalkalanır. Eğer emülsiyon meydana gelirse, bir pastör pipeti yardımıyla giderilir. Fazlar ayrılınca alttaki CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> fazı cam süzme tüpüne yerleştirilmiş olan 4 cm yüksekliğindeki susuz Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan geçirilir. Süzüntü 250 ml lik beherde toplanır. Bu işlem 2 defa daha tekrarlanır, ancak bu kez çalkalama şiddeti yapılır. Süzüntü su banyosunda azot gazı altında 2–3 ml kalıncaya kadar buharlaştırılır (beherin tabanını kaplayacak 1 – 2 mm lik bir seviye kalması yeterli olmaktadır. Ekstraksiyon sıvıları +4 °C'de işaretlenerek saklanmıştır.

HPLC ölçüm kolonu Af B<sub>1</sub>'in triflorasetikasit (TFA) ile türevlendirilmesi ve ters-faz sıvı kromatografisinde floresans dedektörü (HP 1100 cihazı ve HP 1046A flöresans dedektörü)

150 mm x 4,6 mm (iç çap), Supelcosil LC – 18 No. 5 – 8230 (5 µm) kullanılmıştır.

### 3.2.2. Baharat Bitkilerin Kurutulması ve Öğütülmesi

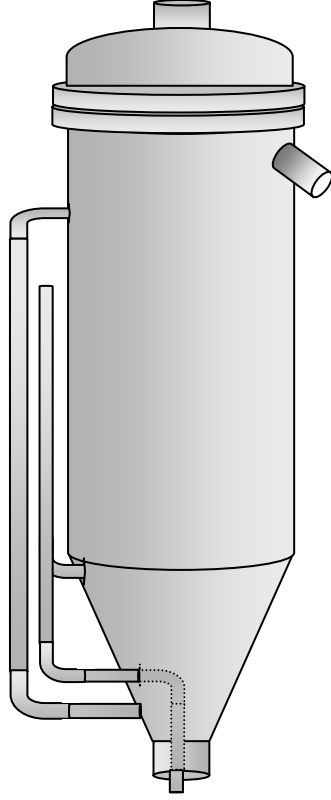
Baharat bitkileri gölgede ve hafif hava akımının altında bekletilerek 6–8 günde kurutulmuştur. Kurutma esnasında sıcaklık ve bağıl nem değerlerinin değişmesine ve ortamın bağıl nm değerinin artmamasına özen gösterilmiştir. Bu bitkilerin kurutma esnasında ortalama 33 – 35 °C de ve % 50 – 55 RH'ta kurumaya bırakılmıştır. 800 d/d güçlü bir blenderde kuru baharatlar toz haline getirildi. Toz haline getirilen baharatlar ile mısır ve buğday da nem, su aktivitesi, pH, küf analizi ve Af B<sub>1</sub> ölçümleri yapılmak üzere numuneler serin, kuru ve ışık görmeyecek şekilde laboratuarda saklanmıştır.

### 3.2.3. Baharat Bitkilerinin ve Tahılların Gamma Işınlanması

Çalışmada kekik, biberiye ve defne bitkileri kurutulduktan sonra, buğday ve mısır örnekleri ile birlikte 12 kGy gamma ışınlamasına gönderilmiştir. Tahıllar ve baharatların doğal florasında bulunan mikroorganizmaları (küf) ve yapılarında analizler ile tespit edilen Aflatoksinlerin analiz sonuçlarını doğru yönlendirmek için yapılmıştır. Işınlama sonucunda ürünlerde ortalama 14,5 kGy Co-60 izotopu kullanılarak ışınlama yaptırılmıştır (Anonymous 2009d). Literatürlerde 10 kGy üzerindeki dozların tohum germinasyonu inhibe ettiği vurgulanmaktadır. Yine gamma ışığının ortamda suyun olması ile aflatoksin yıkımlanması (min % 95) ve mikrobiyal inaktivasyon (% 100) etkisini arttırdığı birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Özay 1988, Anonymous 1990d). Baharat ve tahılların gamma ışınından önceki analiz sonuçları (Çizelge 4.1.2.'de) ve gamma ışınından sonraki analiz sonuçları ise (Çizelge 4.1.3.'de) verilmiştir. Işınlanmış tahıl ve baharatlar aseptik koşullarda analiz gününe dek saklanmıştır. Buğday ve mısır numuneleri aseptik şartlarda 3'e bölünmüştür. Baharat bitkileri ise esansiyel yağ eldesinde kullanılmıştır.

### 3.2.4. Kuru bitkilerin Metanol Ekstraksiyonu ile Esansiyel Yağ Eldesi ve Evaporasyonu

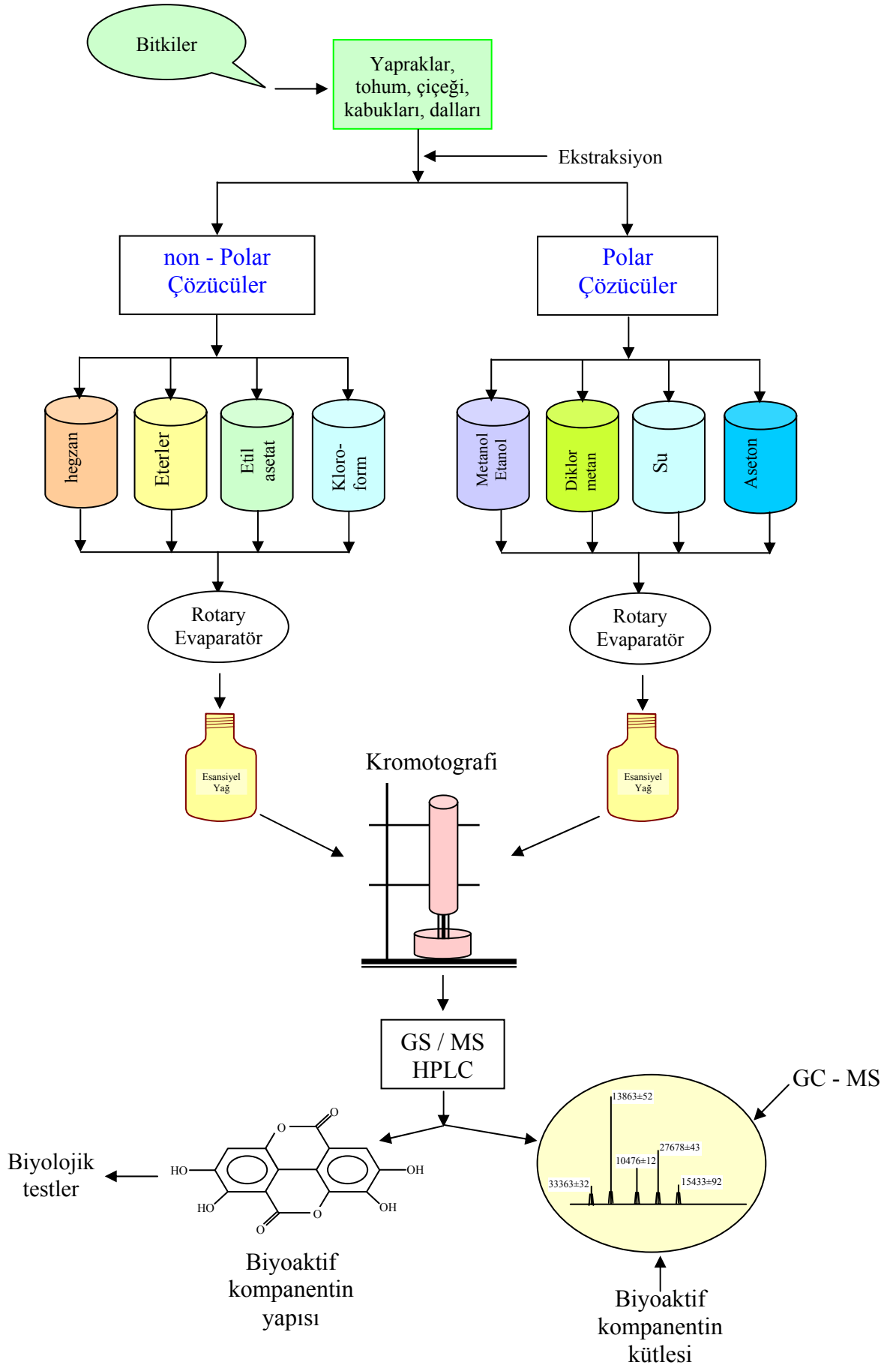
Araştırmada kullanılacak olan Kekik (*Mountain thyme*), Biberiye (*Rosmarinus oficalis L.*), Defne (*Laurus nobilis L.A.*), ekstraktları, sürekli distilasyon yöntemi olan sürekli soxhlet distilasyon yöntemi kullanılarak metanol ile gerçekleştirilmiştir. Özcan ve ark. (2008)'de yaptıkları bir çalışmada metanol, aseton, diklorometan, kloroform ve hekzan ile ekstraksiyon işlemi gerçekleştirmişler. Sırası ile % 23,43 metanol, % 7,15 aseton, % 6,14 kloroform, % 5,0 diklorometan, % 3,94 hekzan, şeklinde ekstraksiyon verimlilik sonuçları alınmıştır. Çalışmada homojen bir ekstrakt alabilmek için 12 Lt lik hacme sahip AISI 304 çelik gövdeli soxhlet kartuş gövdesi, Şekil 3.2.4.1.'de görüldüğü üzere ekstraksiyon sistemi yapılmıştır. Ekstraksiyon işleminde yaklaşık 1-1,5 Kg lık kuru baharatlar kartuşa yerleştirilerek soxhalet düzenek 24 saat boyunca ekstrakte edilmiştir.



Şekil 3.2.4.1. 12 Lt'lik, AISI 304 Soxhalet ekstraksiyon düzeneği

Methanol ekstraktı yapıldıktan sonra bir kez daha su ve klorofom ile süspanse hale getirilerek ekstrakt, suda çözünen (polar) ve suda çözünmeyen (polar olmayan) kısımlarından ayrılması sağlanarak susuz esansiyel yağ kompozisyonu elde edilmiş oldu. Esansiyel yağlar rotary evaporatorde yaklaşık 1,5 saat (metanol + kloroform kalmayana dek) 80 °C saflaştırıldı. Elde edilen tüm örnekler daha sonra test edilene kadar +4 °C' de koyu renkli şişelerde karanlıkta saklanmıştır. Çalışmanın işlem basamaklarını Şekil 3.2.4.2'de özetlenmiştir.





Şekil 3.2.4.2. Çalışmanın işlem basamakları

### 3.2.5. Bitki Esansiyel Yağların Fiziksel ve Kimyasal Yapısı

Gaz Kromatografisi – Kütle Spektrometresi (GC / MS) Perkin-Elmer Q700 cihazı ile SE – 30 kapiler kolon kullanılmıştır. İşlem şartları 60 °C (3 dak.)’dan 240 °C’ye ulaşması için 5 °C / dak. enjeksiyon ile akış hızı sağlanmıştır. GS / MS’te helyum gazı 0,9 ml / dak sabit hızda verilerek pik değerleri alınmıştır.

Kekikten elde edilen esansiyel yağın kimyasal kompozisyonu GS / MS’de yapıldı. 27 çeşit komponent tespiti yapıldı. Kompozisyonu Thymol (% 25,13), Carvacrol (% 15,93), p-Cymene (% 12,18), Borneol (% 8,85),  $\gamma$ -Terpinene (% 8,75), Carvacrol mehyl eter (% 5,30), Camphene (% 2,58),  $\alpha$ -Humulene (% 2,2) ve  $\alpha$ -Pinene (% 2,05) temel yapısını oluşturmaktadır. Kekiğin fiziksel özellikleri analiz edilmiştir.

Biberiyede elde edilen esansiyel yağın kimyasal kompozisyonu GS / MS’de yapıldı. 20 farklı komponent tespiti yapıldı. Kompozisyonu  $\gamma$ -Terpinene (% 13,2), p-Cymene (% 12,18), Camphor (% 8,8),  $\beta$ -Pinene (% 8,7), Borneol (% 7,4), temel yapısını oluşturmaktadır. Biberiyenin fiziksel özellikleri analiz edilmiştir.

Defneden elde edilen esansiyel yağın kimyasal kompozisyonu GS / MS’de yapıldı. 39 çeşit komponent tespiti yapıldı. Kompozisyonu 1,8-Cineole (% 37,7),  $\alpha$ -Terpinyl acetate (% 11,3), trans-Sabinene hydrate (% 9,1), Methyl eugenol (% 6,8), Sabinene (% 6,35), Eugenol (% 3,8) temel yapısını oluşturmaktadır. Defnenin fiziksel özellikleri analiz edilmiştir.

### 3.2.6. *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus*’un Etkinliklerinin Tespiti

*Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus*’un donmuş haldeki kültürlerinin tekrar canlandırılması ve etkinliğinin ölçülmesi için önce saf küf kültürlerinin ön zenginleştirme işlemine tabi tutulmuştur. Gıda ve yemlerde maya ve küf sayımı için amacına uygun olarak Rose Bengal Chloramphenicol (RBC, Merck 1.00467) Agar ve / veya Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC, Merck 1.00466) agar kullanımı önerilmektedir. Genelde RBC Agar maya ve küf sayımı için, DRBC Agar küf sayımı için, çoğu standart gıda ve yemlerde Potato Dextrose Agar (PDA, Merck 1.10130) besiyerini önerilerde DRBC agar küf sayımı için (Halkman 2007) tarafından tavsiye edilmektedir. Çalışmamızda homojenizasyon ve / veya seyreltmeler için Maximum Recovery Diluent (Merck 1.12535) kullanılarak  $10^{-6}$  –  $10^{-8}$

dilüsyonlar yapıldı. Çalışmada dilüsyonlar sonundaki ekimler DRBC agarı ekimleri yapıldı. Petriler 25 – 28 °C'de 4–5 gün inkübasyona bırakılarak besiyerinde gelişen koloniler toplam küf olarak sayılarak kayıtlara alındı (Anonymous 1989, Anonymous 2002a). Etkinlik kavramı ölçülen değerin beklenen değere oranı olarak modellenmiştir.

### **3.2.7. Esansiyel Yağlarının ve Potasyum sorbatın Antifungal Etkilerinin Belirlenmesi**

Madde 3.2.4'de hazırlanmış esansiyel yağların her birinden 8 mg/ml, 15 mg/ml, 30 mg/ml, 60 mg/ml, 120 mg/ml, 250 mg/ml, 500 mg/ml'lık saf su ile esansiyel yağ konsantrasyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltiler Ø 5 mm lik whatman 1 nolu süzgeç kâğıdına emdirilmiş ve 121 °C de 15 dk. steril edilmiştir. Steril diskler +4 °C de test zamanına dek saklanmıştır.

*Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* suşlarından ön kültürler hazırlanmıştır (Uçan 2008). Besiyerine (DRBC broth) tek koloni düşürüldükten sonra birer koloni alınarak 5 ml DRBC broth'a süspansiyon yapılmıştır. Küf süspansiyonları 25 °C'de 48 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Süspansiyonlarından 0,3 ml alınarak yayma ekim yapılmıştır (Benli ve Yiğit 2005). Ekimi takiben esansiyel yağlardan hazırladığımız farklı konsantrasyonlardaki diskler petrilere aseptik şartlarda olacak şekilde yerleştirildi. 25–28 °C'de 3 gün inkübasyona bırakıldı. Her günün sonunda inhibisyon zon çapları ölçülerek kayıtlara alınmıştır (Türküsay ve Onoğur 1998). Kontrol grubu olarak steril saf su + metanol diskleri kullanılmıştır.

Çalışmada antifungal aktiviteler için en küçük zon çapı yaklaşık 8–10 mm zon çapı için 60 mg/ml biberiye esansiyel yağı, 10 mg/ml potasyum sorbat, 15 mg/ml defne esansiyel yağı ve yaklaşık 1mg/ml kekik esansiyel yağı yaklaşık denk geldiği görülmüştür. Konu hakkındaki diğer sonuçlar Çizelge 4.5.1.'de ve grafikler Şekil 4.5.1. ve Şekil 4.5.2. de gösterilmiştir.

### **3.2.8. Çalışma numunelerin hazırlanması**

#### **3.2.8.1. Buğday ve Mısırın Farklı Su Aktivite Değerlerinde Ayarlanması**

Çalışmamızda tahılları 0,550 – 0,650 aw birinci grup (doğal halleri), 0,750 – 0,800 aw ikinci grup ve 0,900 aw ve üstü üçüncü grup çalışma planlanmıştır. Tahılların kurutulmuş doğal formları Çizelge 4.1.2.'de görüleceği üzere mısır 0,625 aw ve buğday 0,608 aw ortalama sonuç elde edilmiştir. Işınlanmış ve 3'e bölünerek aseptik şartlarda saklanan tahıllar;

Birinci çalışma grubu için aw ayarlaması yapılmamıştır.

İkinci çalışma grubunun aw değerini ayarlamak için steril % 10'luk serum fizyolojik çözeltilinde; tahıl numunelerinden ölçüm için bir miktar alınarak aw değeri kontrol edilerek (yaklaşık 66 dk. sonra) aw değeri ortalama 0,770 aw değerine ayarlanmıştır.

Üçüncü çalışma grubunun aw değerini ayarlamak için steril % 25'lik serum fizyolojik çözeltilinde; tahıl numunelerinden ölçüm için bir miktar alınarak aw değeri kontrol edilerek (yaklaşık 72 dk. sonra) aw değeri ortalama 0,930 aw değerine ayarlanmıştır. Ayarlanmış tahıl numuneleri üzerindeki fazla bulunan serum fizyolojik sıvıları süzülerek numuneler kendi içlerinde ikiye bölünerek dikkatlice *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus flavus* ile aşılanmıştır. Aşılanmanın homojen olması için numuneler dikkatlice küfler tarafından kontamine edilmiştir. Küflerin etkilerini aniden kesmemek için küfler ile kontamine olmuş numuneler yaklaşık 12 saat dinlendirilmiştir. Çalışma deseni Çizelge 3.2.8.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2.8.1. Numune hazırlama için çalışma deseni.

Sıra no	Tahıl	aw	Küf	Esansiyel yağ	Depo sic. (°C)	Parelel	Ort		
1	Buğday veya Mısır	I. grup 0,600	<i>Aspergillus parasiticus</i>	Boş (kontrol)	20	1			
2						2			
3					30	1			
4						2			
5					20	1			
6						2			
7		30	1						
8			2						
9		II. grup 0,770	veya	<i>Aspergillus flavus</i>	Kekik	20	1		
10							2		
11					30	1			
12						2			
13	20				Biberiye		20	1	
14								2	
15	30			30	1				
16					2				
17	20	Defne		20	1				
18					2				
19	30			30	1				
20					2				
21	20	P.sorbat		20	1				
22					2				
23	30			30	1				
24					2				

### 3.2.8.2. Esansiyel yağ, Küf ve Tahıl karışımlarının hazırlanması

Küfler ile kontamine olmuş numuneler dinlendirildikten sonra, daha önce hazırlanmış, soğukta stoklanmış esansiyel yağlardan ve potasyum sorbattan madde 3.2.7. de ölçülen antifungal aktivite değerleri son numunede etkileri denk olabilmesi için; biberiye esansiyel yağı için 500 mg/ml, defne esansiyel yağı için 100 mg/ml, potasyum sorbat için 60 mg/ml ve kekik esansiyel yağı için 25 mg/ml, olacak şekilde steril şartlarda çözeltiler hazırlandı. Kontrol grubunun etkisi olmadığı analiz sonuçlarından görülmektedir. Bu bağlamda çözeltilerin homojen olması çalışmanın seyri ile doğrudan ilgili olduğu için çözeltilere yaklaşık 20–30 ml kontrol grubu çözeltisi (1:1 oranında metanol + steril saf su) kullanıldı.

Hazırlanan çözeltiler (esansiyel yağ + kontrol grubu + steril saf su) daha önce hazırlanmış tahıl + küf numunelerine karışımlarına steril şartlarda Çizelge 3.2.8.1.'de hazırlanan numune hazırlama çalışma desenine uygun olarak steril pipetler yardımı ile her bir tahıla denk gelecek miktarda (yaklaşık 8–10 ml karışım çözeltisi / 200 g numune için) pipetlenerek, tahılların tamamı çözelti ile kontamine edildi. Kontaminasyon (esansiyel yağlar ile laminasyon) işleminin homojen olması için shaker'da 1 saat karıştırılması sağlandı. Yaklaşık 12 saat labratuvarda dinlendirildikten sonra çözelti ile aşırı ıslanmış tahıl numuneleri steriliteye dikkat ederek süzülür. Numunelerin karışımlarından bazı görünümüler Şekil 3.2.8.2.'de gösterilmiştir. İşaretlenmiş numuneler 18–22 °C de ve 32–35 °C de depolama bırakılır.



4 numaralı numune (kontrol grubu buğday ve mısır)





34 numaralı numune (defne esansiyel yağının kontamine edilmiş buğday ve mısır)



60 numaralı numune (potasyum sorbat kontamine edilmiş buğday ve mısır)



66 numaralı numune (kekik esansiyel yağının kontamine edilmiş buğday ve mısır)



68 numaralı numune (biberiye esansiyel yağının kontamine edilmiş buğday ve mısır)

Şekil 3.2.8.2. Bitki esansiyel yağları ile hazırlanmış denemelerden örnekler görülmektedir

### 3.2.8.3. Deneme materyallerinin haftalık analizlerinin yapılması

18–22 °C de ve 32–35 °C de depolamaya bırakılan tahıl numuneleri 7–8 günlük periyotlar ile 4 farklı dönemde çıkarılarak sırası ile küf yoğunluğuna, nem değerine, aw değerine, pH değerine, AfB<sub>1</sub> değerine bakılarak sonuçlar için en az 2–3 paralel çalışılmıştır. Sonuçların aritmetik ortalamaları alınarak kaydedilmiştir. Küf analizi, nem analizi, aw analizi, pH analizi ve Af B<sub>1</sub> analizinin ön hazırlık süreci Elvan Gıda Laboratuvarlarında yapılmıştır. Af B<sub>1</sub> analizleri özel bir laboratuvarında yapılmıştır. Analiz sonuçları madde 4.6.'da gösterilmiştir.

### 3.2.8.4. İstatistiksel Analizler

Çalışmada elde edilen sonuçlar SPSS 16.0 paket programı ile Duncan karşılaştırma modeli kullanılmıştır. Karşılaştırmalarda buğday ve mısır tanelerine bitki esansiyel yağ + küf kontaminasyonlarının etkileri; farklı aw gruplarının etkisinin olup olmadığını, farklı depolama sıcaklıklarının etkisinin olup olmadığını, zamanın (haftalık seyrindeki) değişimlerin etkileri ve farklı bitki esansiyel yağların etkileri bazı parametreler (nem, aw, pH, log<sub>10</sub> küf ve Af B<sub>1</sub>) için analiz değerleri duncan karşılaştırma modeli ile incelenmiştir (Bennett ve Franklin 1963, Soysal 1995, Sümbüllüoğlu ve Sümbüllüoğlu 1997, Newbold 2000, ).

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

### 4.1. Baharat Bitkilerin Kurutulma Verimliliğinin Değerlendirilmesi

Çalışmanın sonunda maliyet analizi yapabilmek için kurutma verimleri; yaş bitkilerden kuruttuktan sonra kurutma değerleri alınarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlar Çizelge 4.1.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1.1. Bitkilerin kurutma verimleri.

Bitkiler	Yaş örnek miktarı (g)	Kuru örnek miktarı (g)	% verim
Kekik	3603	1040	28,87
Biberiye	2665	1050	39,40
Defne	2042	1005	49,22

Kurutularak toz haline getirilen baharatlar ile mısır ve buğdayın ışınlamadan önceki nem, su aktivitesi, pH, küf ve Af B<sub>1</sub> sonuçları Çizelge 4.1.2’de ve Şekil 4.1.1.’de gösterilmektedir.

Çizelge 4.1.2. Baharat ve tahılların gamma ışınlama öncesi analiz sonuçları.

Analizler	Kekik	Defne	Biberiye	Mısır	Buğday
Nem (% m/m)	12,52	5,57	9,26	9,93	9,12
Aw (0,01 – 1,0)	0,586	0,206	0,583	0,625	0,608
pH	6,35	6,25	6,14	6,54	5,57
Küf sayısı (kob/g küf)	342	122	438	78	26
Aflatoksin (ng/g Af.B <sub>1</sub> )	0,61	0,30	1,01	0,35	0,20



Şekil 4.1.1. Baharat ve tahılların gamma ışınlama öncesi analiz sonuçları



Kurutularak toz haline getirilen baharatlar, tahılların Çizelge 4.1.2’de okunan küf ve Af B<sub>1</sub> değerlerini sıfırlamak için Co-60 izotopu ile ortalama 14,5 kGy gamma ışınlamasından sonra küf ve Af B<sub>1</sub> analizleri yapılmıştır. Küf ve Af B<sub>1</sub> analiz sonuçları incelendiğinde gerek küf gerekse Af B<sub>1</sub> değerleri tespit edilmemiştir. Şekil 4.1.3.’de DRBC agarda küf sonuçları bulunmaktadır.



Şekil 4.1.2. Baharat ve tahılların gamma ışınlama sonrası küf analiz sonuçları

#### 4.2. Ekstraksiyon Verimliliğinin Değerlendirilmesi

Ekstraksiyon verimleri incelendiğinde metanol ekstarksiyonunun Özcan ve ark. (2008) de yaptıkları çalışmalarında da görüldüğü üzere metanol ekstraksiyonunun yüksek esansiyel yağ eldesinde etkili olduğu sonucu ile uyum içersinde olduğu görülmüştür. Extraksiyon verimleri Çizelge 4.2.1.’de verilmiştir.

Çizelge 4.2.1. Bitkilerin ekstraksiyon verimleri

Bitkiler	Kuru örnek miktarı (g)	Esansiyel yağ (g)	% verim
Kekik	1040	185	17,79
Biberiye	1050	176	16,76
Defne	1005	168	16,71

#### 4.3. Bitki Esansiyel Yağların Fiziksel ve Kimyasal Yapılarının İncelenmesi

Kekikten elde edilen esansiyel yağın kimyasal analizinde 27 çeşit komponent tespit edildi. Çizelge 4.3.1’de kimyasal kompozisyonu Şekil 4.3.1.’de analiz eğimi verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde Özcan ve ark.’nın (2008)’te yaptıkları çalışmaları, Pinto ve ark.’nın (2006)’da yaptıkları çalışmalar ile sayısal verilerin denk gelmediği görülmüştür. Diğer çalışmalar ile karşılaştırıldığında kekiğin bu denli farklı kompozisyonlar sergilemesi yetiştiği toprağın

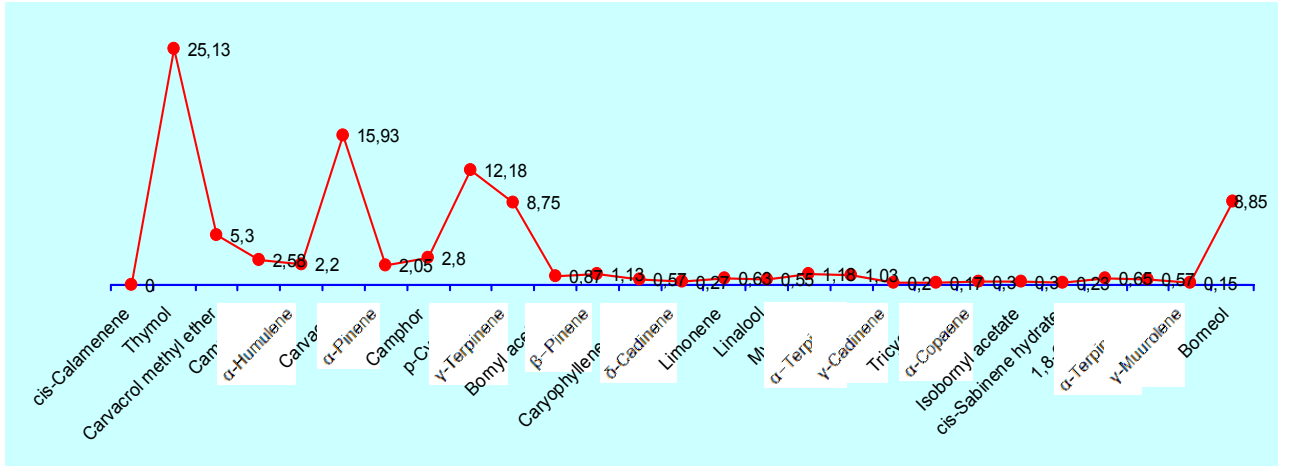
karakteri, bulunduğu coğrafik konum, rakım, iklim ve farklı vejetatif dönemlerden kaynaklandığı kanısına varılmıştır. Kekiğin fiziksel analizleri Çizelge 4.3.2.'de verilmiştir.

Çizelge 4.3.1. Kekiğin (*Mountain thyme*) GC/MS deki kimyasal kompozisyonu.

	<b>Kompozisyon</b>	<b>Kovats Index</b>	<b>% Değer</b>	<b>Tanımlama</b>
1	cis-Calamenene	1837	0,00	KI, MS
2	Thymol	2100	25,13	KI, MS, STD
3	Carvacrol methyl ether	1223	5,30	MS
4	Camphene	1083	2,58	KI, MS, STD
5	$\alpha$ -Humulene	1682	2,20	KI, MS, STD
6	Carvacrol	2159	15,93	KI, MS, STD
7	$\alpha$ -Pinene	1039	2,05	
8	Camphor	1518	2,80	KI, MS
9	p-Cymene	1272	12,18	KI, MS, STD
10	$\gamma$ -Terpinene	1251	8,75	KI, MS, STD
11	Bornyl acetate	1599	0,87	KI, MS, STD
12	$\beta$ -Pinene	1124	1,13	KI, MS, STD
13	Caryophyllene oxide	1966	0,57	KI, MS, STD
14	$\delta$ -Cadinene	1761	0,27	KI, MS
15	Limonene	1206	0,63	KI, MS, STD
16	Linalool	1506	0,55	KI, MS, STD
17	Myrcene	1156	1,18	KI, MS, STD
18	$\alpha$ -Terpinene	1189	1,03	KI, MS, STD
19	$\gamma$ -Cadinene	1785	0,20	KI, MS
20	Tricyclene	1009	0,17	KI, MS
21	$\alpha$ -Copaene	1493	0,30	KI, MS
22	Isobornyl acetate	1584	0,30	KI, MS
23	cis-Sabinene hydrate	1080	0,23	MS
24	1,8-Cineole	1228	0,65	KI, MS, STD
25	$\alpha$ -Terpinolene	1287	0,57	KI, MS, STD
26	$\gamma$ -Muuroolene	1730	0,15	KI, MS
27	Borneol	1698	8,85	KI, MS, STD
	<b>Toplam</b>		<b>94,57</b>	

Çizelge 4.3.2. Kekiğin (*Mountain thyme*) fiziksel özellikleri.

<b>Fiziksel Özellikler</b>	<b>Sonuç</b>	<b>AFNOR Standart</b>
Etanolde Çözünürlük	% 85	min % 80
Yoğunluk (20°C'de)	0,939	0,910 – 0,935
Refraktif İndex (20°C'de)	1,4914	1,495 – 1,505

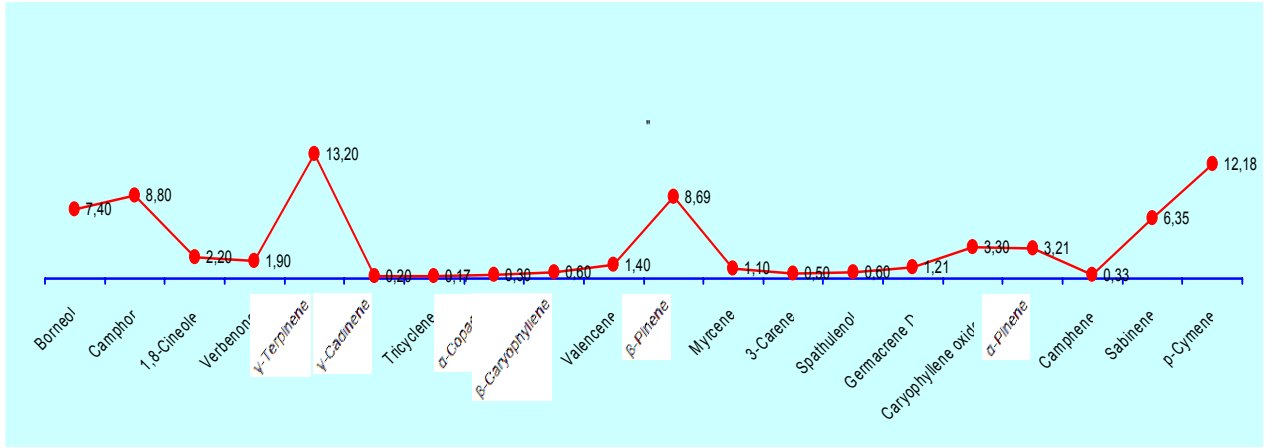


Şekil 4.3.1. Kekiğin (*Mountain thyme*) GC/MS sonuçları

Biberiyede elde edilen esansiyel yağın kimyasal analizinde 20 farklı komponent tespiti yapıldı. Çizelge 4.3.3’de kimyasal kompozisyonu Şekil 4.3.2.’de analiz eğimi verilmiştir. Biberiye esansiyel yağının Anonymous (2009) verileri (su buharı ile elde edilen ekstraktlar) ile yaklaşık 2 kat farklı olduğu görülmüştür. Bu farkın farklı ekstraksiyon ve saflaştırma yöntemlerinin farklılığına bağlanmıştır. Biberiyenin fiziksel özellikleri Çizelge 4.3.4.’te verilmiştir.

Çizelge 4.3.3. Biberiye (*Rosmarinus officinalis*) GC/MS deki kimyasal kompozisyonu.

	Kompozisyon	Kovats Index	% Değer	Tanımlama
1	Borneol	1698	7,40	KI, MS, STD
2	Camphor	1518	8,80	KI, MS
3	1,8-Cineole	1228	2,20	KI, MS, STD
4	Verbenone		1,90	
5	γ-Terpinene	1251	13,20	KI, MS, STD
6	γ-Cadinene	1785	0,20	
7	Tricyclene	1009	0,17	
8	α-Copaene	1493	0,30	
9	β-Caryophyllene		0,60	
10	Valencene		1,40	
11	β-Pinene	1183	8,69	KI, MS, STD
12	Myrcene	1189	1,10	
13	3-Carene	1214	0,50	1065
14	Spathulenol		0,60	
15	Germacrene D		1,21	
16	Caryophyllene oxide		3,30	
17	α-Pinene	1097	3,21	968
18	Camphene	1136	0,33	1018
19	Sabinene	1166	6,35	-(c)
20	p-Cymene	1272	12,18	KI, MS, STD
	<b>Toplam</b>		<b>73,64</b>	

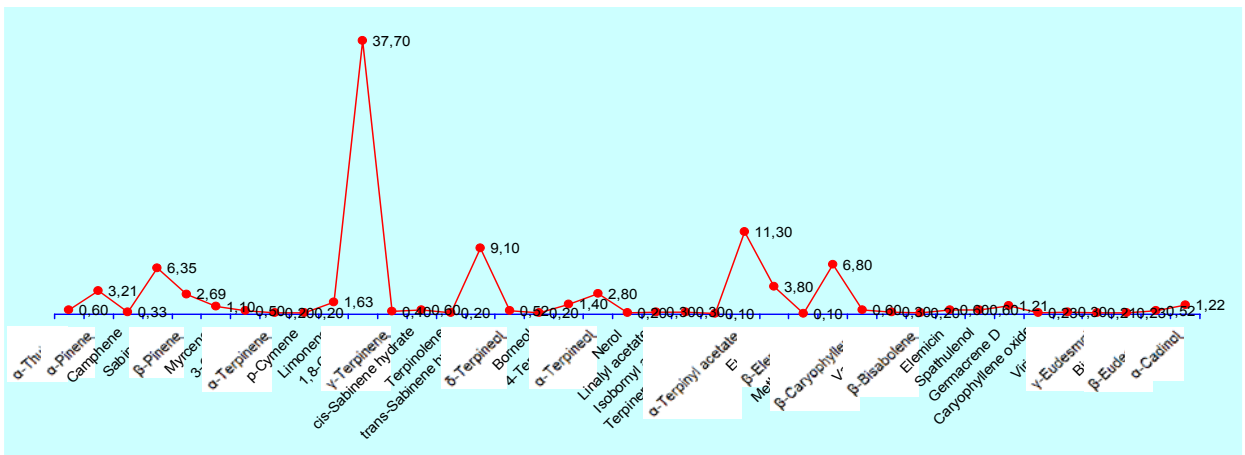


Şekil 4.3.2. Biberiye (*Rosmarinus officinalis*) GC/MS sonuçları

Çizelge 4.3.4. Biberiye (*Rosmarinus officinalis*) fiziksel özellikleri.

Fiziksel Özellikler	Sonuç	AFNOR Standart
Etanolde Çözünürlük	% 88	min % 80
Yoğunluk (20°C'de)	0,909	0,896 – 0,919
Refraktif İndex (20°C'de)	1,469	1,466 – 1,470

Defneden elde edilen esansiyel yağın kimyasal analizinde 39 çeşit komponent tespiti yapıldı. Çizelge 4.3.5'te kimyasal kompozisyonu Şekil 4.3.3.'de analiz eğimi verilmiştir. Defne esansiyel yağının Paliteo ve Ark., (2007) ve Rizi (2008)'de yaptıkları GS / MS sonuçları ile uyum içersinde olduğu görülmüştür. Çalışmalarda farklı vegatatif dönemlere, iklime ve farklı toprak yapısına bağlı olarak kimyasal kompozisyonun değişeceği her iki araştırmacı tarafından vurgulanmaktadır. Defnenin fiziksel özellikleri Çizelge 4.3.6'da verilmiştir.



Şekil 4.3.3. Defne (*Laurus nobilis*) GC/MS sonuçları

Çizelge 4.3.5. Defne (*Laurus nobilis*) GC/MS deki kimyasal kompozisyonu.

	<b>Kompozisyon</b>	<b>Kovats Index (KI)</b>	<b>% Değer</b>	<b>Tanımlama</b>
1	$\alpha$ -Thujene	1030	0,60	938
2	$\alpha$ -Pinene	1097	3,21	968
3	Camphene	1136	0,33	1018
4	Sabinene	1166	6,35	-(c)
5	$\beta$ -Pinene	1183	2,69	KI, MS, STD
6	Myrcene	1189	1,10	
7	3-Carene	1214	0,50	1065
8	$\alpha$ -Terpinene	-	0,20	1044
9	p-Cymene	1234	0,20	1029
10	Limonene	1257	1,63	1080
11	1,8-Cineole	1475	37,7	1126
12	$\gamma$ -Terpinene	1502	0,40	1100
13	cis-Sabinene hydrate	1698	0,60	KI, MS, STD
14	Terpinolene	1542	0,20	1171
15	trans-Sabinene hydrate	1561	9,10	1403
16	$\delta$ -Terpineol	1620	0,52	1190
17	Borneol	1648	0,20	1341
18	4-Terpineol	1632	1,40	1442
19	$\alpha$ -Terpineol	1715	2,80	1505
20	Nerol	1725	0,20	1521
21	Linalyl acetate	1917	0,30	1576
22	Isobornyl acetate	1943	0,30	1402
23	Terpinen-4-yl acetate	2081	0,10	1397
24	$\alpha$ -Terpinyl acetate	-	11,30	1561
25	Eugenol	-	3,80	1654
26	$\beta$ -Elemene	-	0,10	
27	Methyl eugenol	-	6,80	
28	$\beta$ -Caryophyllene		0,60	
29	Valencene	-	0,30	
30	$\beta$ -Bisabolene	-	0,20	
31	Elemicin	-	0,60	
32	Spathulenol	-	0,60	
33	Germacrene D		1,21	
34	Caryophyllene oxide	-	0,23	
35	Viridiflorol	-	0,30	
36	$\gamma$ -Eudesmol	-	0,21	
37	Bisabolol	-	0,23	
38	$\beta$ -Eudesmol		0,52	
39	$\alpha$ -Cadinol	-	1,22	
	<b>Total</b>	-	<b>97,85</b>	

Çizelge 4.3.6. Defne (*Laurus nobilis*) fiziksel özellikleri.

<b>Fiziksel Özellikler</b>	<b>Sonuç</b>	<b>AFNOR Standart</b>
Etanolde Çözünürlük	% 85	min % 80
Yoğunluk (20°C'de)	0,918	0,911 – 0,925
Refraktif İndex (20°C'de)	1,473	1,470 – 1,478

#### 4.4. Küf Suşlarının Çoğaltılması, Etkinliğinin Tespitinin Yapılması

*Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus*'un donmuş haldeki kültürlerinin tekrar canlandırılması sonucunda inkübasyon sonunda sayılan küf sayısı başlangıçtaki küfün gramdaki sayısının (bilinen – beklenen değerine) göre elde edilen sayım sonuçları karşılaştırılarak ve % etkinlikleri hesaplanmıştır. Sırası ile *Aspergillus flavus*'un % 97 etkin olduğu ve *Aspergillus parasiticus* ise % 95 etkin olduğu tespit edilmiştir. Etkinliklerin bu denli yüksek olması çalışmanın sağlıklı yürümesinin bir göstergesidir. Çalışmada etkin olmayan küfün çalışma seyrini yüksek oranda bitki esansiyel yağlarının küf gelişimine etkili ve aflatoksin inhibe edici çıkmasına etki edeceği düşünülür ise etkili bir küfün bu değerde sapma yapmaması daha olası olacaktır. Etkinlik sonuçları Çizelge 4.4.1.'de gösterilmiştir. Bu değerlerin yeteri kadar üstünde olması çalışmaya eksi yönde etkilemeyeceği kanısı doğurmuştur.

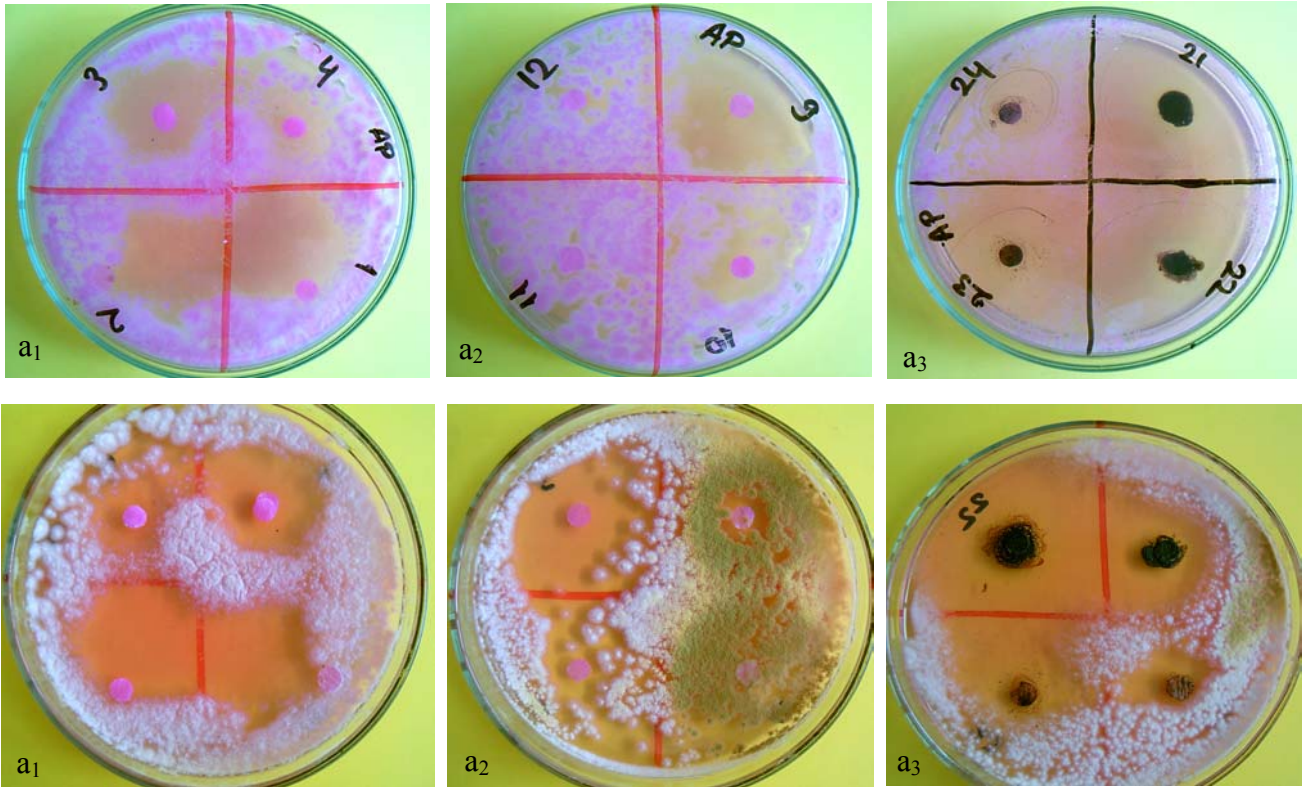
Çizelge 4.4.1. *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus*'un etkinlik sonuçları.

<b>Küfler</b>	<b>Beklenen Canlı sayısı (milyon/g)</b>	<b>Parelel</b>	<b>Ölçülen Canlı sayısı (milyon/g)</b>	<b>% Etkinlik</b>
<i>Aspergillus flavus</i>	100	1	98	97
		2	94	
		3	99	
		<b>Ort.</b>	<b>97</b>	
<i>Aspergillus parasiticus</i>	100	1	94	95
		2	96	
		3	95	
		<b>Ort.</b>	<b>95</b>	

#### 4.5. Esansiyel Yağların ve Potasyum Sorbatın Antifungal Etkinliğinin Değerlendirilmesi

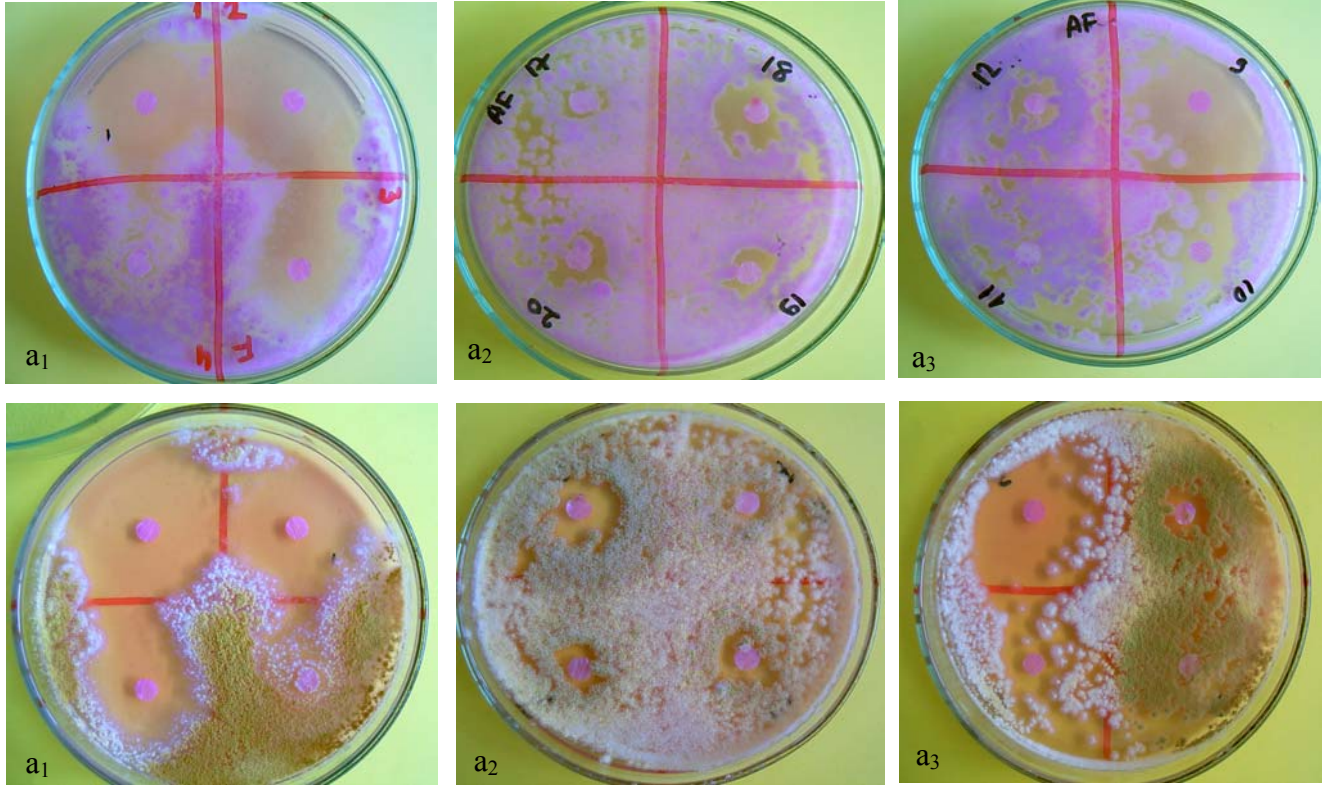
Madde 3.2.3’de hazırlanmış esansiyel yağların her birinden 8 mg/ml, 15 mg/ml, 30 mg/ml, 60 mg/ml, 120 mg/ml, 250 mg/ml, 500 mg/ml’lık saf su ile esansiyel yağ konsantrasyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltiler 5 mm lik watman 1 nolu süzgeç kâğıdına emdirilmiş ve 121 °C de 15 dak. steril edilmiştir. Steril diskler +4 °C de test zamanına dek saklanmıştır.

*Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* suşlarının DRBC brothda bitki esansiyel yağları ve potasyum sorbatın etkisi her günün sonunda inhibisyon zon çapları ölçülerek (Türküsay ve Onoğur 1998) Çizelge 4.5.1’de kayıtlara alınmıştır. Kontrol grubu olarak steril saf su + metanol diskleri kullanılmıştır. Bitki esansiyel yağlarının Şekil 4.5.1.’de *Aspergillus paraticus*’a karşı, Şekil 4.5.2.’de *Aspergillus flavus*’a karşı etkinliklerinden bazı görüntüler gösterilmiştir. Bitki esansiyel yağların etkinliklerin grafikleri Şekil 4.5.3.’te *A.paraticus*’a karşı etkinlikleri, Şekil 4.5.4.’te *A.flavus*’a karşı etkinlikleri, Şekil 4.5.5’te Kekik esansiyel yağının, Şekil 4.5.6.’da Defne esansiyel yağının, Şekil 4.5.7.’de Biberiye esansiyel yağının ve Şekil 4.5.8.’de Potasyum sorbatın her iki küfe karşı gösterdikleri etkiler bulunmaktadır.



Şekil 4.5.1. P.sorbat (a<sub>1</sub>), defne (a<sub>2</sub>), ve kekik (a<sub>3</sub>) esansiyel yağlarının *Aspergillus paraticus*’a karşı etkinlikleri



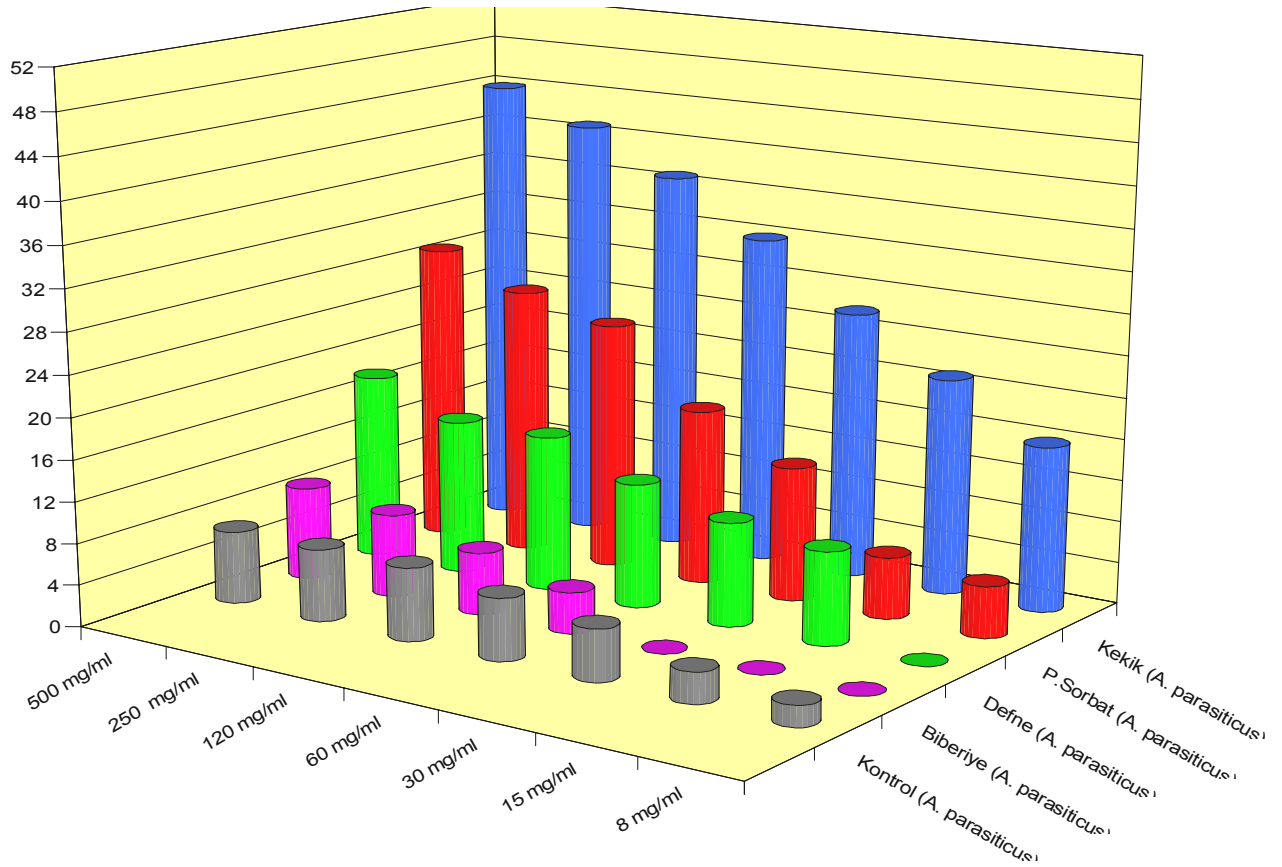
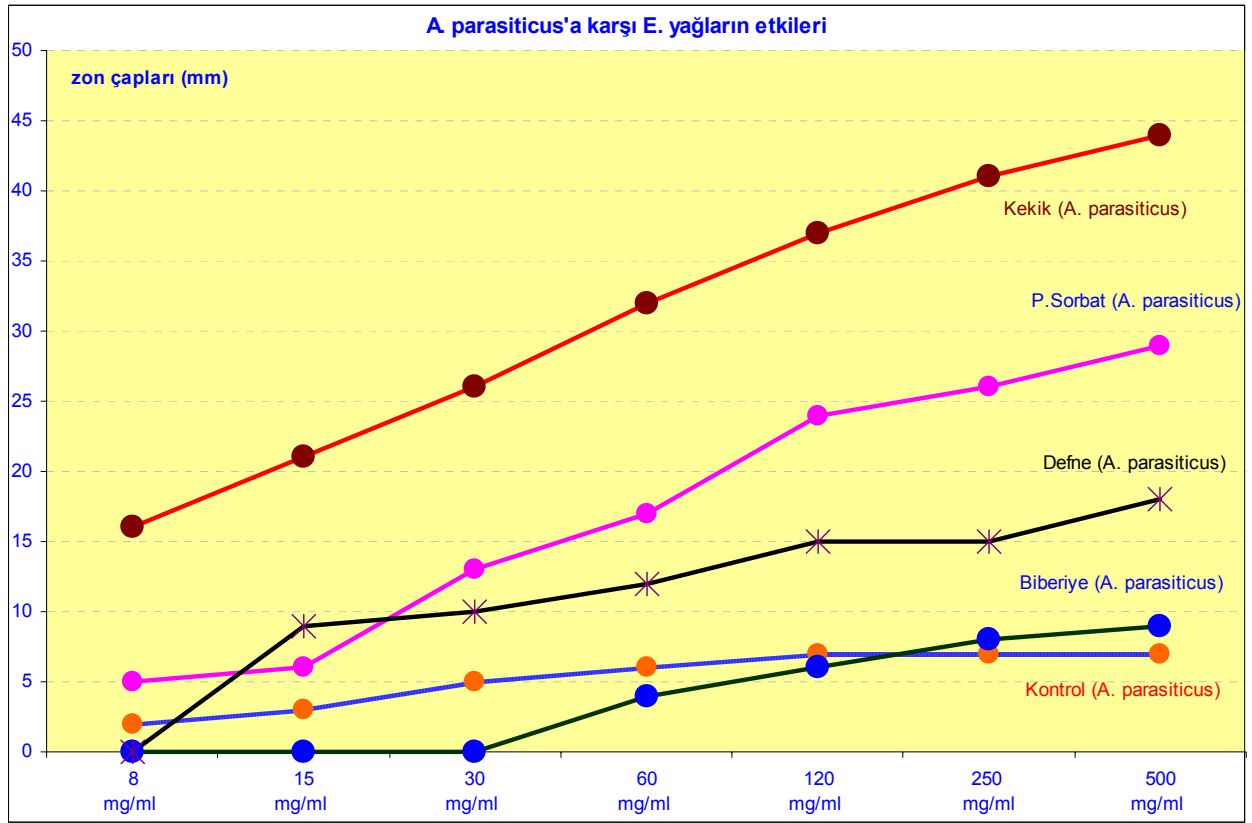


Şekil 4.5.2. P.sorbat (a<sub>1</sub>), biberiye (a<sub>2</sub>), ve defne (a<sub>3</sub>) esansiyel yağların *Aspergillus flavus*'a karşı etkinlikleri

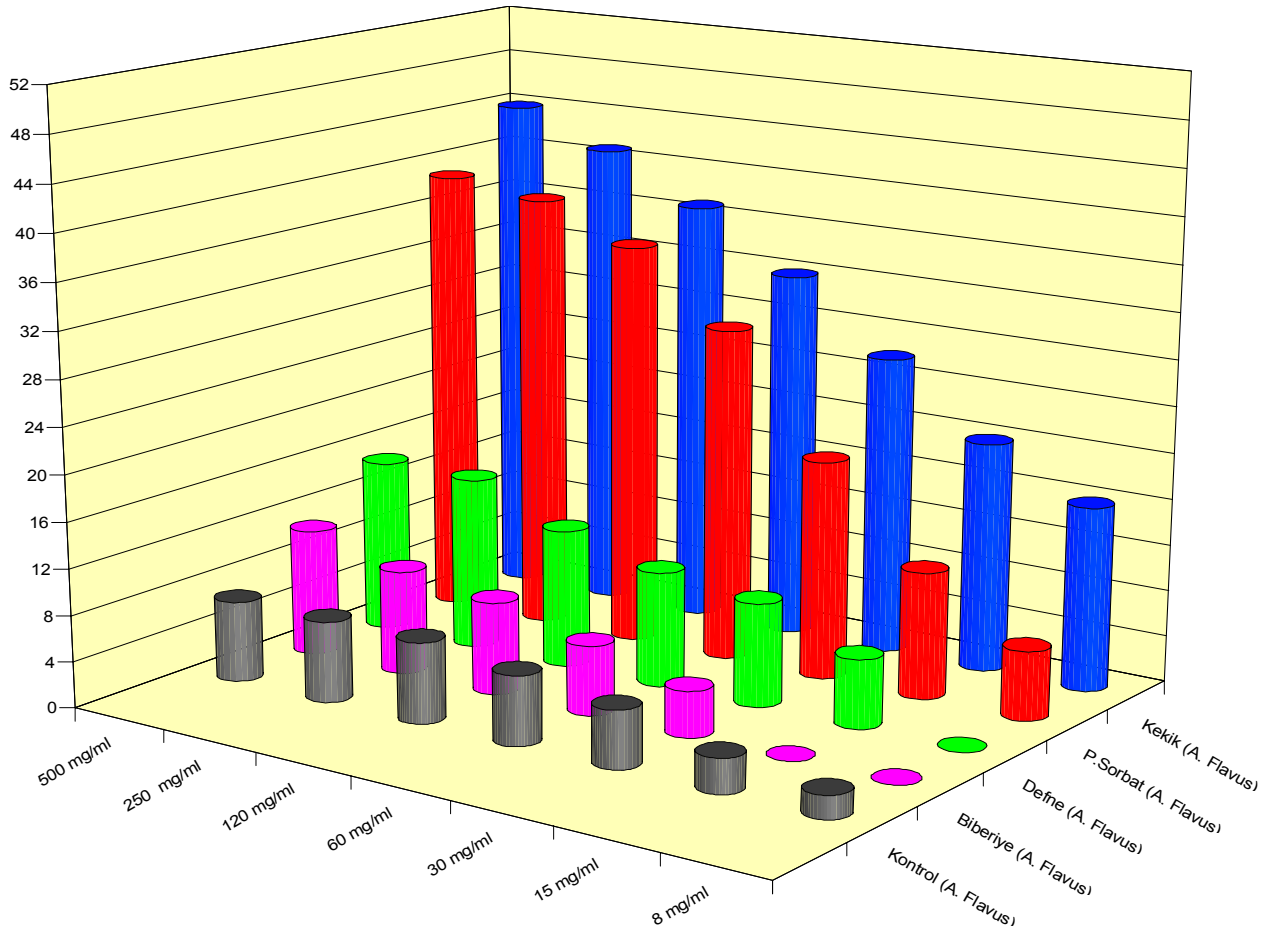
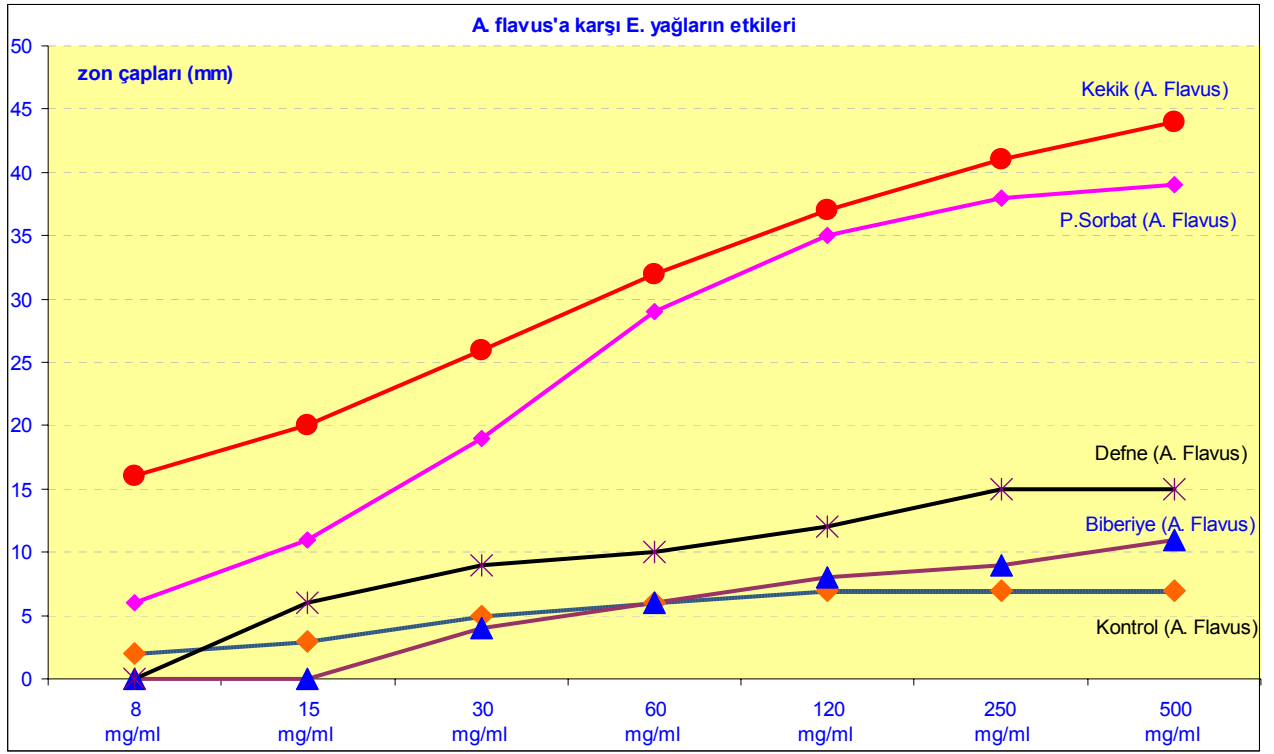


Çizelge 4.5.1. Farklı konsantrasyonlardaki Esansiyel yağların *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus*'a karşı oluşturdukları inhibisyon zon çap (mm) değerleri verilmiştir.

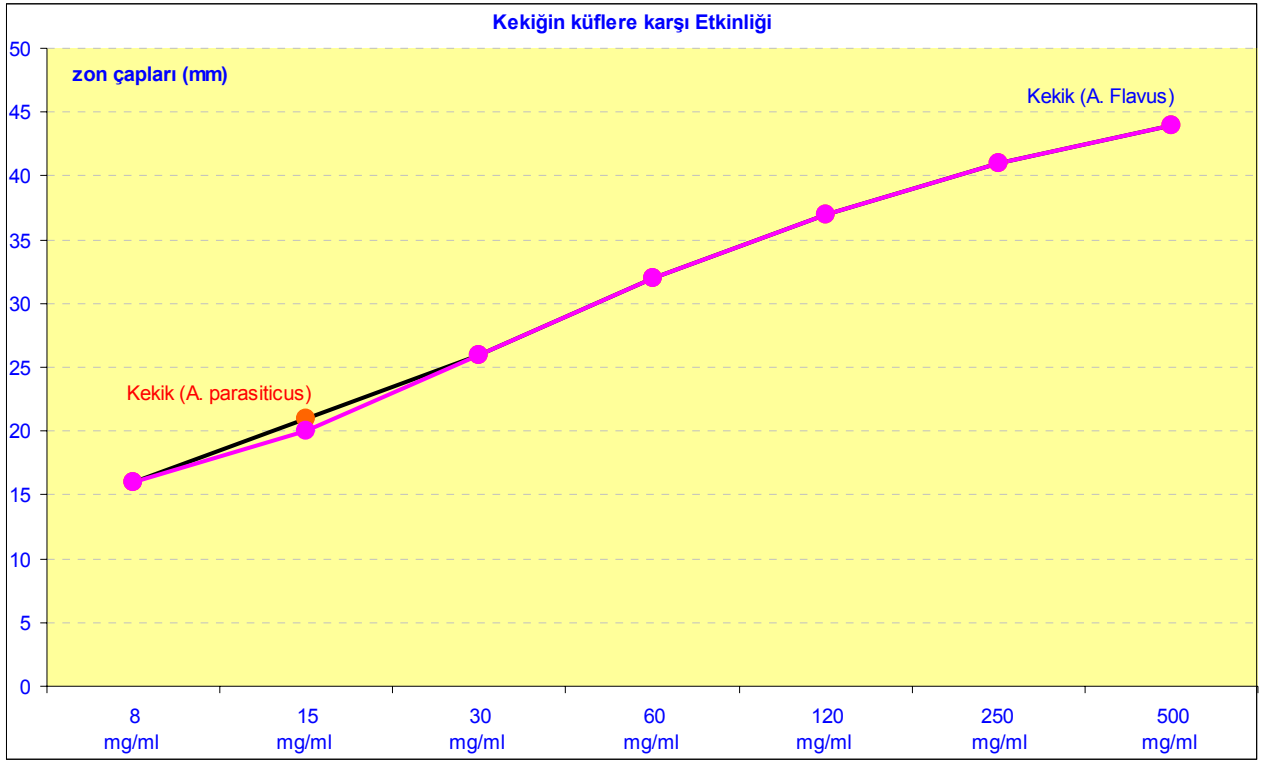
Esansiyel Yağların İnhibisyon Zon Çapları (mm)																			
Bitkiler	Parelel	Kontrol saf su + metanol		500 mg/ml		250 mg/ml		120 mg/ml		60 mg/ml		30 mg/ml		15 mg/ml		8 mg/ml			
		p1	p2	p1	p2	p1	p2	p1	p2	p1	p2	p1	p2	p1	p2	p1	p2		
Potasyum Sorbat	A. <i>flavus</i>	1	4	4	38	38	38	36	36	36	28	29	18	18	10	10	5	5	
		2	4	4	40	39	38	38	38	38	30	29	20	19	12	11	6	5	
		3	4	5	40	40	38	38	38	38	30	30	20	20	12	11	6	6	
	<b>A. <i>flavus</i></b>				<b>39</b>		<b>38</b>		<b>37</b>		<b>29</b>		<b>19</b>		<b>11</b>		<b>6</b>		
	A. <i>parasiticus</i>	1	5	4	28	28	26	26	24	22	16	16	14	12	6	6	4	4	
		2	5	4	30	29	26	27	26	23	16	17	14	12	6	6	4	4	
		3	5	5	30	30	26	27	26	24	16	18	14	12	8	6	6	5	
	<b>A. <i>parasiticus</i></b>				<b>29</b>		<b>26</b>		<b>24</b>		<b>17</b>		<b>13</b>		<b>6</b>		<b>5</b>		
	Kekik	A. <i>flavus</i>	1	4	4	44	42	40	39	36	37	30	31	24	26	20	18	16	16
			2	4	4	45	44	42	39	36	38	32	32	26	26	20	19	16	16
3			4	5	46	44	42	41	38	38	32	32	26	26	20	21	16	18	
<b>A. <i>flavus</i></b>				<b>44</b>		<b>41</b>		<b>37</b>		<b>32</b>		<b>26</b>		<b>20</b>		<b>16</b>			
A. <i>parasiticus</i>		1	5	4	44	42	40	39	36	37	30	31	24	26	22	18	16	16	
		2	5	4	45	44	42	39	36	38	32	32	26	26	22	19	16	16	
		3	5	5	46	44	42	41	38	38	32	32	26	26	22	21	16	18	
<b>A. <i>parasiticus</i></b>				<b>44</b>		<b>41</b>		<b>37</b>		<b>32</b>		<b>26</b>		<b>21</b>		<b>16</b>			
Biberiye		A. <i>flavus</i>	1	4	4	10	10	8	8	8	8	6	5	4	4	0	0	0	0
			2	4	4	10	11	8	9	8	8	6	5	4	4	0	0	0	0
	3		4	5	12	12	10	9	8	9	7	5	5	4	0	0	0	0	
	<b>A. <i>flavus</i></b>				<b>11</b>		<b>9</b>		<b>8</b>		<b>6</b>		<b>4</b>		<b>0</b>		<b>0</b>		
	A. <i>parasiticus</i>	1	5	4	8	8	8	8	6	5	4	4	0	0	0	0	0	0	
		2	5	4	8	9	8	8	6	5	4	4	0	0	0	0	0	0	
		3	5	5	10	9	8	9	7	5	5	4	0	0	0	0	0	0	
	<b>A. <i>parasiticus</i></b>				<b>9</b>		<b>8</b>		<b>6</b>		<b>4</b>		<b>0</b>		<b>0</b>		<b>0</b>		
	Defne	A. <i>flavus</i>	1	4	4	14	15	14	14	12	10	10	9	8	8	5	5	0	0
			2	4	4	16	15	14	15	12	11	10	9	10	9	6	6	0	0
3			4	5	16	16	16	15	12	12	12	10	10	9	6	6	0	0	
<b>A. <i>flavus</i></b>				<b>15</b>		<b>15</b>		<b>12</b>		<b>10</b>		<b>9</b>		<b>6</b>		<b>0</b>			
A. <i>parasiticus</i>		1	5	4	17	17	14	15	14	14	12	10	10	9	8	8	0	0	
		2	5	4	17	18	16	15	14	15	12	11	10	9	10	9	0	0	
		3	5	5	18	19	16	16	16	15	12	12	12	10	10	9	0	0	
<b>A. <i>parasiticus</i></b>				<b>18</b>		<b>15</b>		<b>15</b>		<b>12</b>		<b>10</b>		<b>9</b>		<b>0</b>			



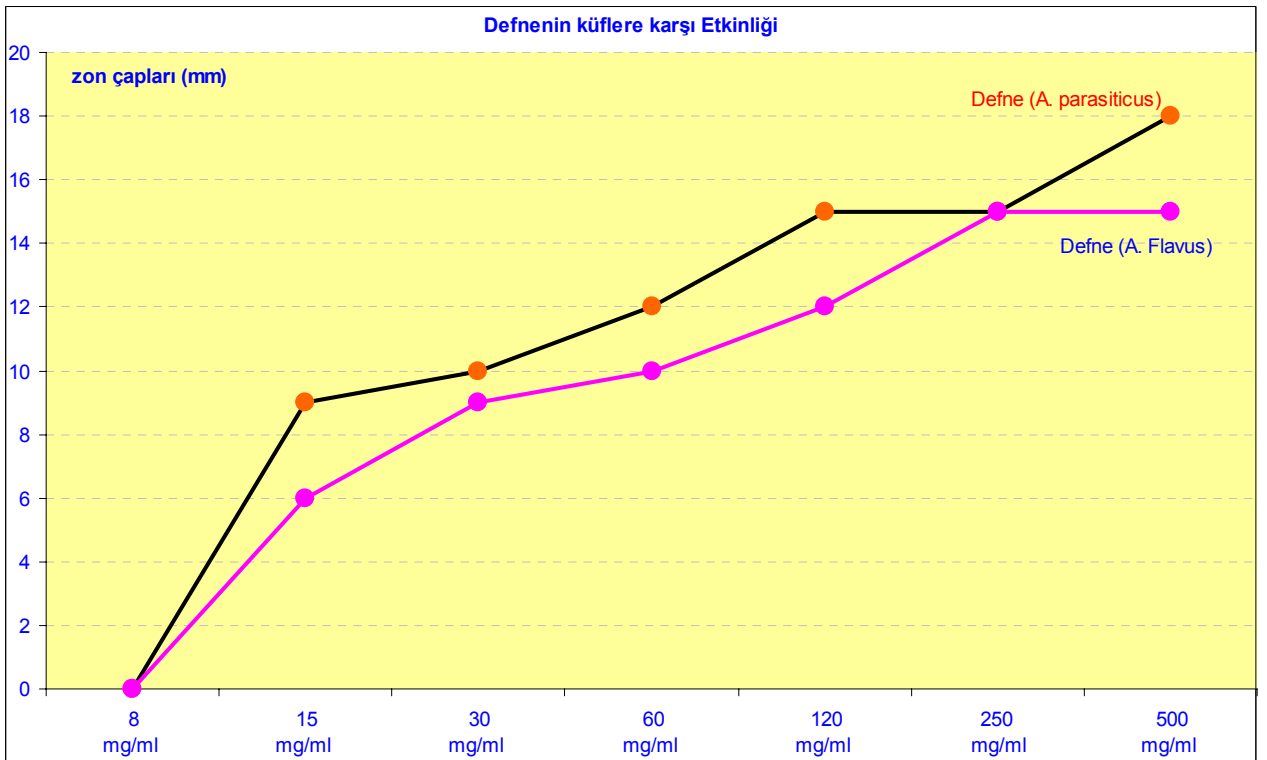
Şekil 4.5.3. *A. parasiticus*'a karşı esansiyel yağların etkileri



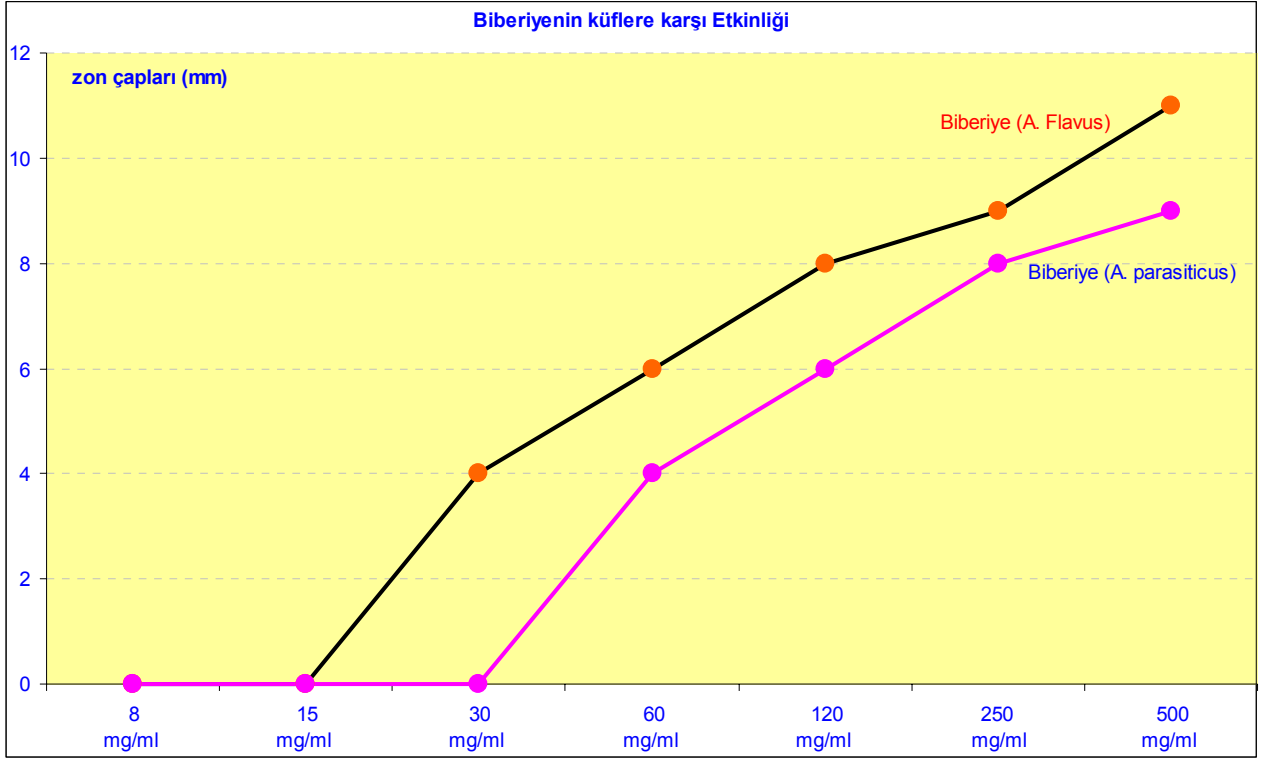
Şekil 4.5.4. *A. flavus*'a karşı esansiyel yağların etkileri



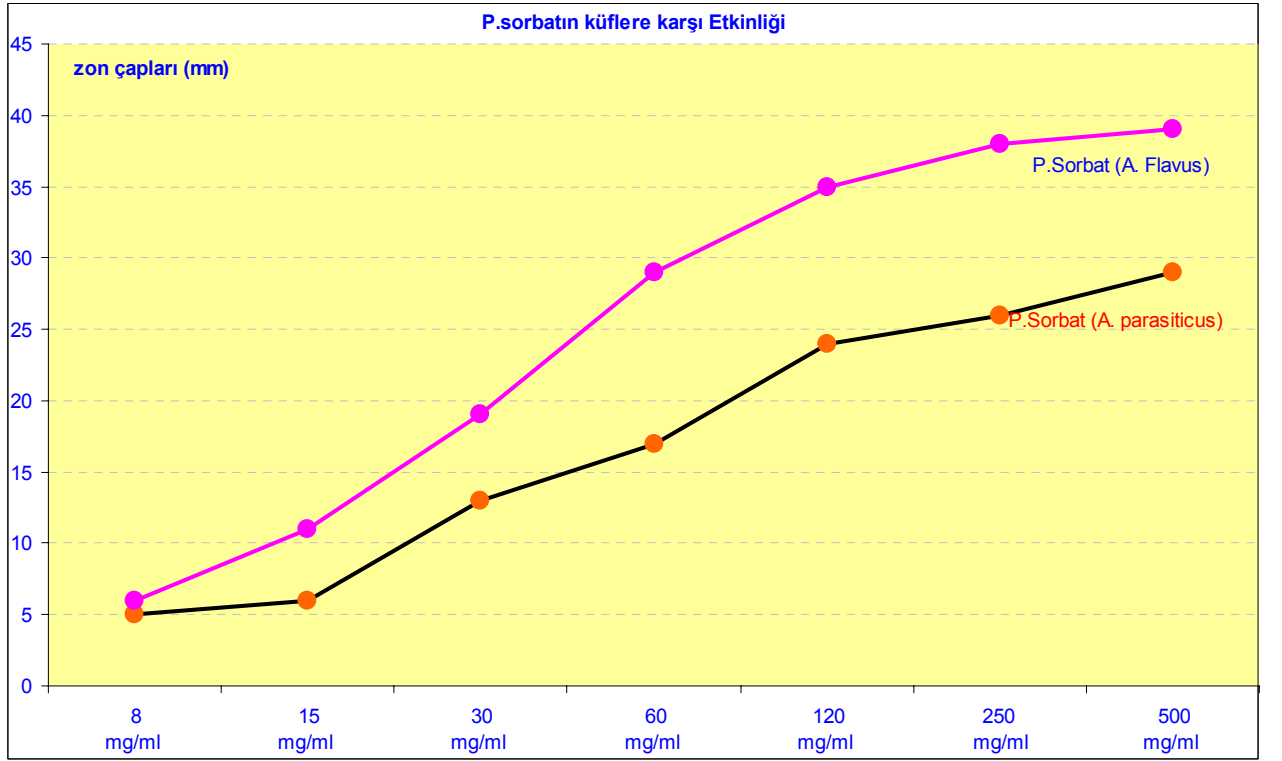
Şekil 4.5.5. Kekik esansiyel yağının antifungal etkilerinin eğimi



Şekil 4.5.6. Defne esansiyel yağının antifungal etkilerinin eğimi



Şekil 4.5.7. Biberiyen esansiyel yağının antifungal etkilerinin eğimi



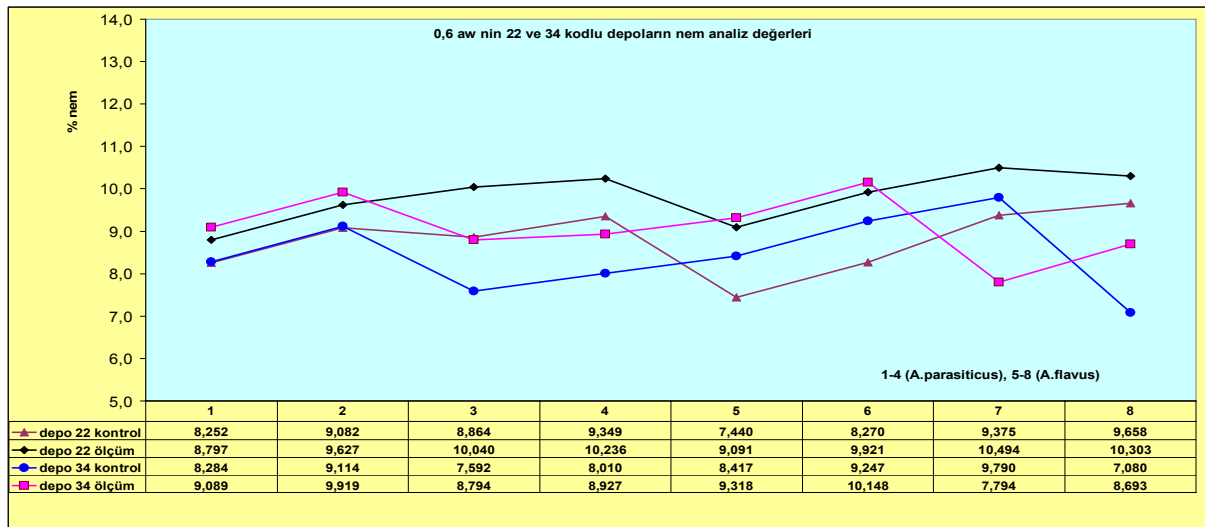
Şekil 4.5.8. Potasyum sorbatın farklı antifungal etkilerinin eğimi

Çalışmada antifungal aktivite değerleri son numunede etkileri denk olabilmesi için; biberiye esansiyel yağı için 500 mg/ml, defne esansiyel yağı için 100 mg/ml, potasyum sorbat için 60 mg/ml ve kekik esansiyel yağı için 25 mg/ml olacak şekilde deneme hazırlandı. Denemede antifungal zon çapının geniş olabilmesi için bitki esansiyel yağ etkinliğinin de artması beklenmemelidir. Bitki esansiyel yağının etkisi doğrusal olarak arttığı gözlemler arasındadır. Fakat biberiye esansiyel yağının etkisi çok düşük seyretmekte ve zamana karşı küfü inhibe edemediği gözlemlenmiştir. Defne esansiyel yağının etkisi biberiye'ye göre daha etkili olduğu ve 120 mg/ml'den sonra daha dik bir eğilim içersine girdiği gözlemler arasındadır. Çalışmada kekik esansiyel yağının antifungal aktivitesi düşük konsantrasyonlara rağmen çok etkili çıkmıştır. Kekik esansiyel yağının potasyum sorbattan daha etkili olduğu Şekil 4.5.1. ve Şekil 4.5.2. de görülmektedir. Kekik esansiyel yağın 30 mg/ml konsantrasyonundan itibaren dik bir eğilim içersine girdiği gözlemlenmiştir.

#### 4.6. Deneme Materyallerinin Haftalık Analizlerinin Değerlendirilmesi

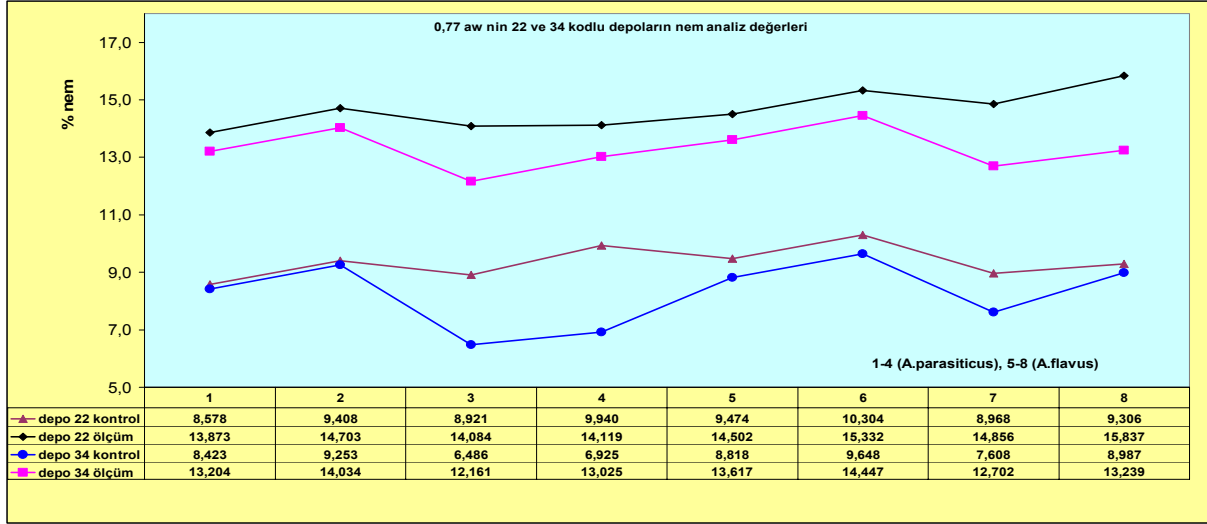
##### 4.6.1. Nem Analiz Sonuçları

Buğday denemelerinde 0,6 aw değerindeki kontrol grubu ile muamele grubu arasında 7., 14., 21. ve 28. gün sonundaki nem değerleri ortalama % 7–11 arasında olduğu ve değişmediği Şekil 4.6.1.1'de görülmektedir.



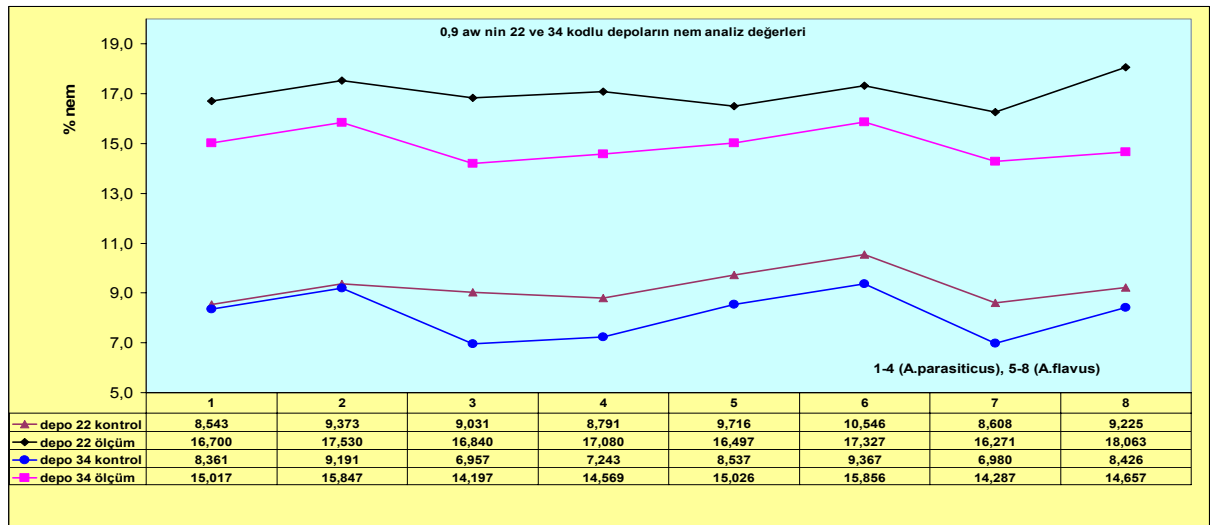
Şekil 4.6.1.1. 0,6 aw değerlikli buğday numunelerindeki nem dağılımı

Buğdayın 0,77 aw değerindeki deneme grubunda kontrol grubu ile ölçümler arasında yaklaşık + % 4 – 5’lik farkın su aktivite değerinin ayarlanmasında kullanılan suyun olduğu, bu fazlalığın her iki depolama koşulunda da uyum göstermektedir. Her ne kadar depolama sıcaklıkları farklı olsada nem sonuçlarının ortalamaları % 14 – 15 oranında olduğu Şekil 4.6.1.2.’de görülmüştür.



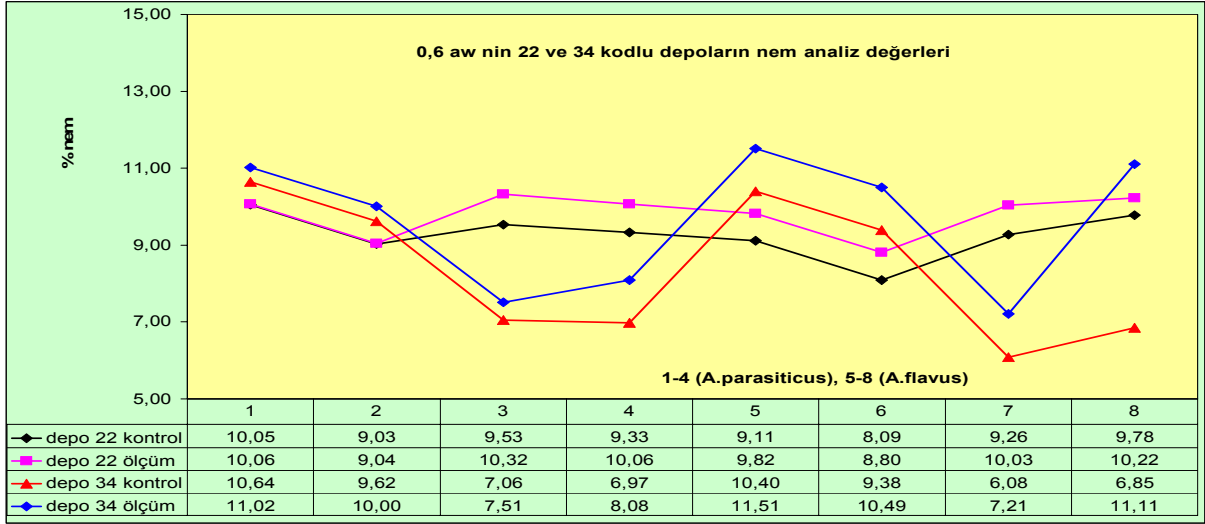
Şekil 4.6.1.2. 0,77 aw değerlikli buğday numunelerindeki nem dağılımı

Buğdayın 0,9 aw değerindeki deneme grubunda kontrol grubu ile ölçümler arasında yaklaşık +% 6–7’lik farkın su aktivite değerinin ayarlanmasında kullanılan suyun olduğu, bu fazlalığın her iki depolama koşulunda da uyum göstermektedir. Her ne kadar depolama sıcaklıkları farklı olsada nem sonuçlarının ortalamaları % 17–19 oranında olduğu Şekil 4.6.1.3.’de verilmiştir.



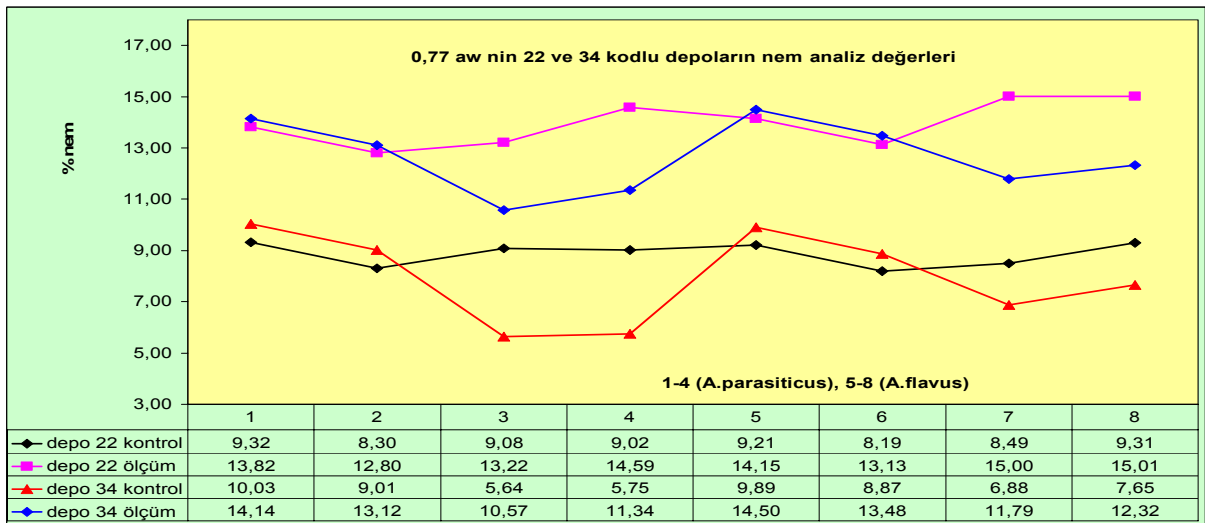
Şekil 4.6.1.3. 0,9 aw değerlikli buğday numunelerindeki nem dağılımı

Mısır denemelerinde 0,6 aw değerindeki kontrol grubu ile muamele grubu arasında 7., 14., 21. ve 28. gün sonundaki nem değerleri ortalama % 6–11 arasında olduğu Şekil 4.6.1.4’de görülmektedir.



Şekil 4.6.1.4. 0,6 aw değerlikli mısır numunelerindeki nem dağılımı

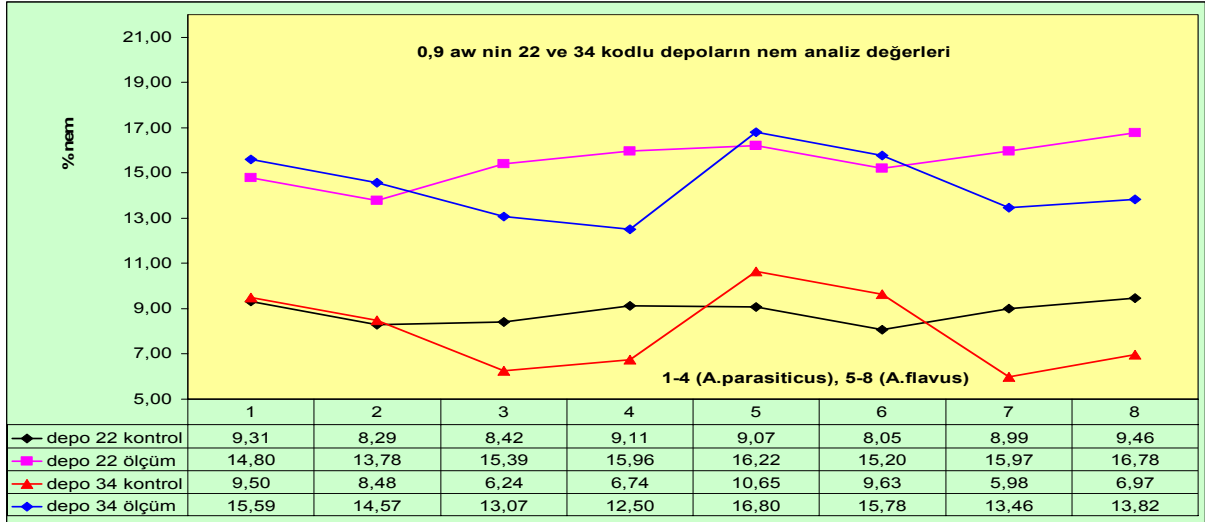
Mısırın 0,77 aw değerindeki deneme grubunda kontrol grubu ile ölçümler arasında yaklaşık +% 3–4’lük farkın su aktivite değerinin ayarlanmasında kullanılan suyun olduğu, bu fazlalığın her iki depolama koşulunda da uyum göstermektedir. Her ne kadar depolama sıcaklıkları farklı olsada nem sonuçlarının ortalamaları % 13–14 oranında olduğu Şekil 4.6.1.5.’de görülmüştür.



Şekil 4.6.1.5. 0,77 aw değerlikli mısır numunelerindeki nem dağılımı



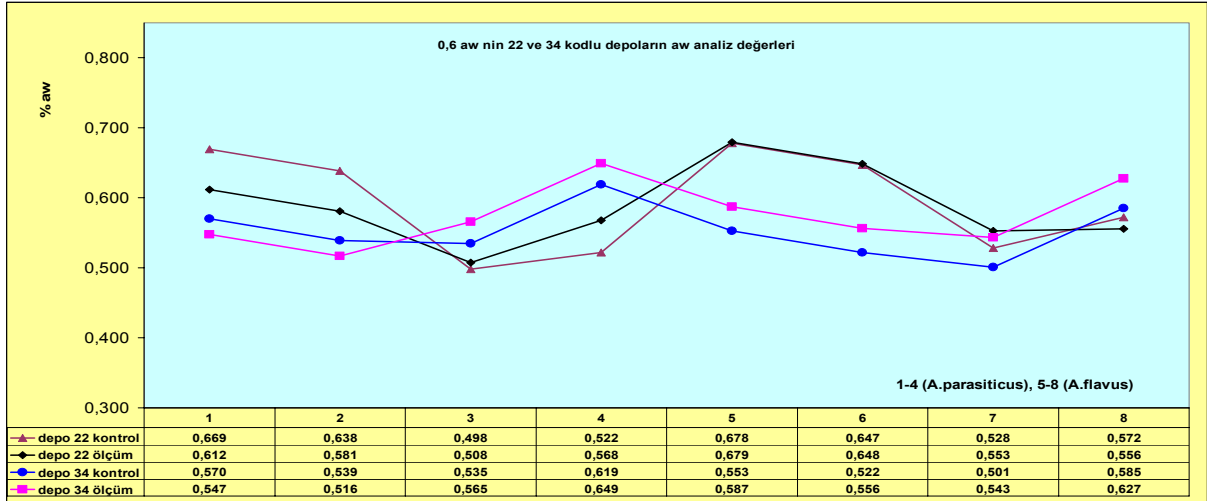
Mısırın 0,9 aw değerindeki deneme grubunda kontrol grubu ile ölçümler arasında yaklaşık +%5–6’lık farkın su aktivite değerinin ayarlanmasında kullanılan suyun olduğu, bu fazlalığın her iki depolama koşulunda da uyum göstermektedir. Her ne kadar depolama sıcaklıkları farklı olsada nem sonuçlarının ortalamaları % 15–16 oranında olduğu Şekil 4.6.1.6.’de verilmiştir.



Şekil 4.6.1.6. 0,9 aw değerlikli mısır numunelerindeki nem dağılımı

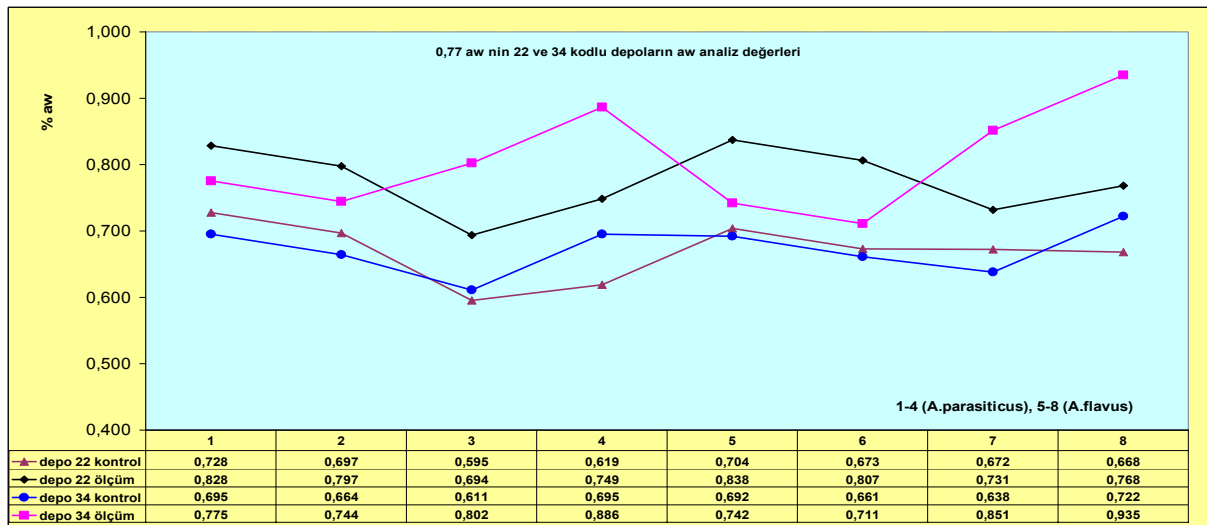
#### 4.6.2. Su aktivitesi (aw) Analiz Sonuçları

Buğdayın 0,6 aw gruplu denemede herhangi bir ayarlama yapılmadığı için numuneleri kendi doğal hallerine bırakılmıştır. Numunelerin su aktivite değeri her iki depodaki davranışı yaklaşık aynı seyrettiği ve değerlerin 7. gün ortalamaları yüksek iken 28. güne doğru bu değerler düşüştüğü görülmektedir. Bu azalmanın çok önemli bir değişim olmadığı, azalmayı numunenin aw değerinin ortam bağıl nem değerinden daha yüksek olduğunu veya ortam bağıl neminin düşük olması sonucunda numuneden ortama doğru migrasyon ile aw değerinin düşüştüğü kanısını doğrulamış ve Şekil 4.6.2.1.’de görülmektedir.



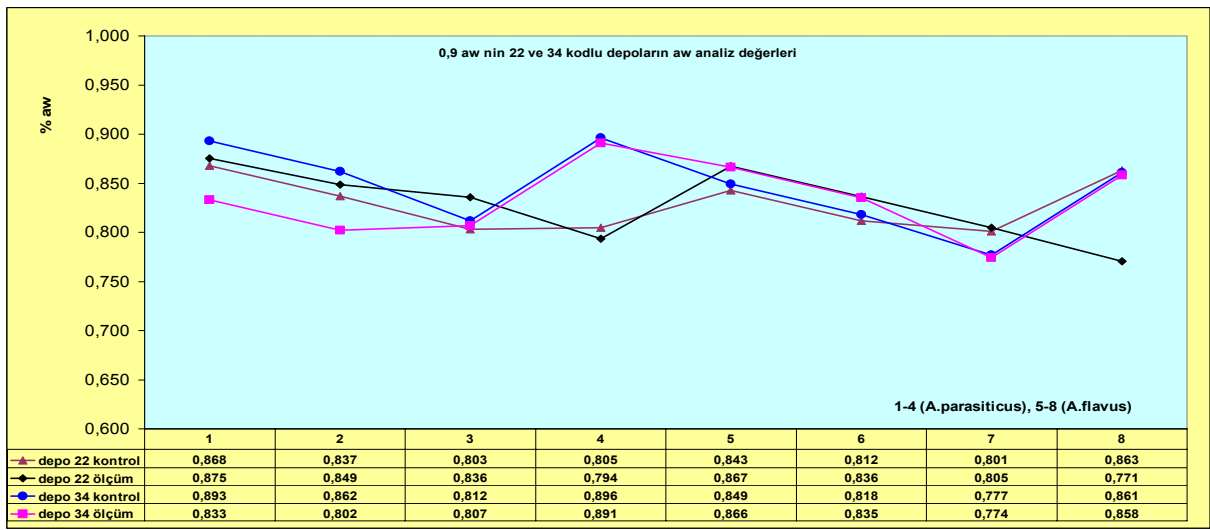
Şekil 4.6.2.1. 0,6 aw değerlikli buğday numunelerindeki aw dağılımı

Buğdayın 0,77 aw gruplu denemesinde su aktivite değeri 0,77 aw ortalamasına serum fizyolojik su ile ayarlanmıştır. Ayarlanmanın genel ortalaması denemenin 7. günü değerlendirildiğinde aw değeri ortalamaları 0,77 aw olarak seyrinde herhangi bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Fakat 14., 21. ve 28. gün analiz sonuçları ile karşılaştırıldığında aw değerlerinin doğrusal olarak azaldığı ve bu davranışı her iki depoda da yaklaşık aynı oranlarda azaldığı görülmüştür. Azalma eğilimi ilk grupta olan davranış ile benzerlik gösterdiği ve ortama fazla olan bağıl nemini (su aktivite değerini) ortama migrasyon sonucu bağıl nemini verdiği görülmektedir. Depo 34'ün 14. günden sonraki ölçümlerinde aw değerlerinin depo 22'den farklı olarak arttığı ve bu artışın her iki küf suşunda da olduğu Şekil 4.6.2.2.'de görülmektedir.



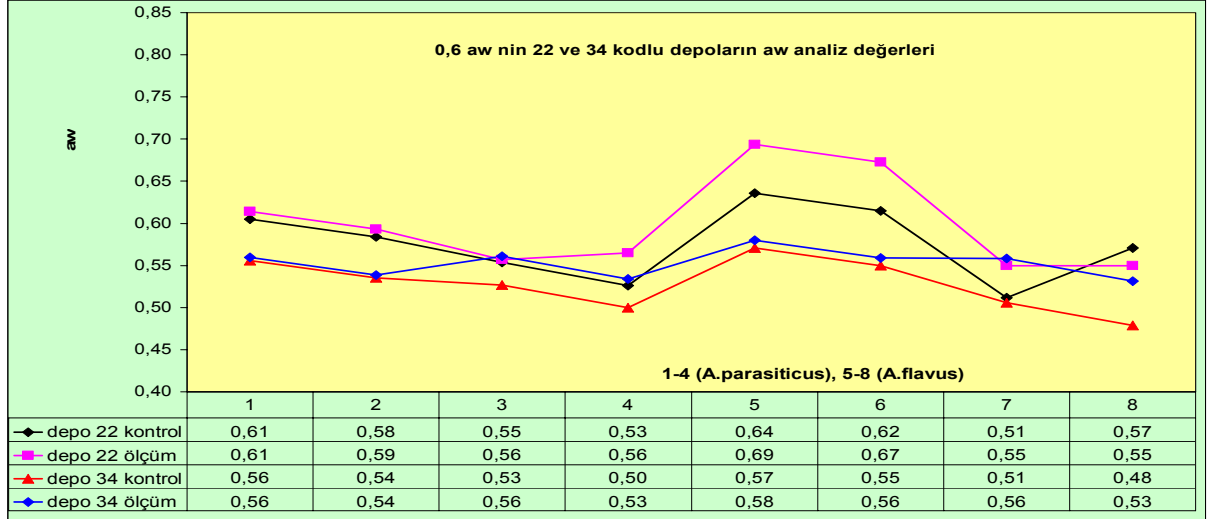
Şekil 4.6.2.2. 0,77 aw değerlikli buğday numunelerindeki aw dağılımı

Buğdayın 0,9 aw grulu denemesinde su aktivite değeri 0,9 aw ortalamasına serum fizyolojik su ile ayarlanmıştır. Ayarlanmanın genel ortalaması denemenin 7. günü değerlendirildiğinde aw değeri ortalamaları 0,88 aw olarak seyrinde herhangi bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Fakat 14., 21. ve 28. gün analiz sonuçları ile karşılaştırıldığında aw değerlerinin doğrusal olarak azaldığı ve bu davranışı her iki depoda da yaklaşık aynı oranlarda azaldığı görülmüştür. Azalma eğilimi ilk grup ve ikinci gruptaki davranış ile benzerlik gösterdiği ve ortama fazla olan bağıl nemini (su aktivite değerini) ortama migrasyon ile verdiği tezini doğrulamaktadır. Bu değerler Şekil 4.6.2.3.'de beklenen aralıklarda seyrettiği görülmektedir.



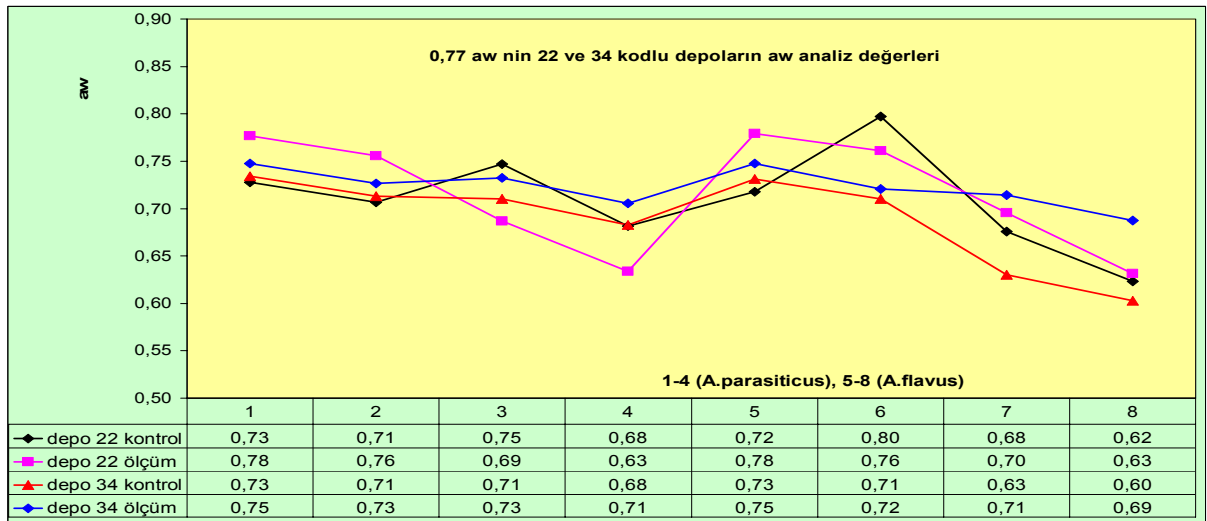
Şekil 4.6.2.3. 0,9 aw değerlikli buğday numunelerindeki aw dağılımı

Mısırın 0,6 aw grulu denemede herhangi bir ayarlama yapılmadığı için numuneleri kendi doğal hallerine bırakılmıştır. Numunelerin su aktivite değeri her iki depodaki davranışı yaklaşık aynı seyrettiği ve değerlerin 7. gün ortalamaları yüksek iken 28. güne doğru bu değerlerin düştüğü görülmektedir. Bu azalmanın çok önemli bir değişim olmadığı, azalmayı numunenin aw değerinin ortam bağıl nem değerinden daha yüksek olduğunu veya ortam bağıl neminin düşük olması sonucunda numuneden ortama doğru migrasyon ile aw değerinin düştüğü kanısını doğrulamış ve Şekil 4.6.2.4.'de görülmektedir.



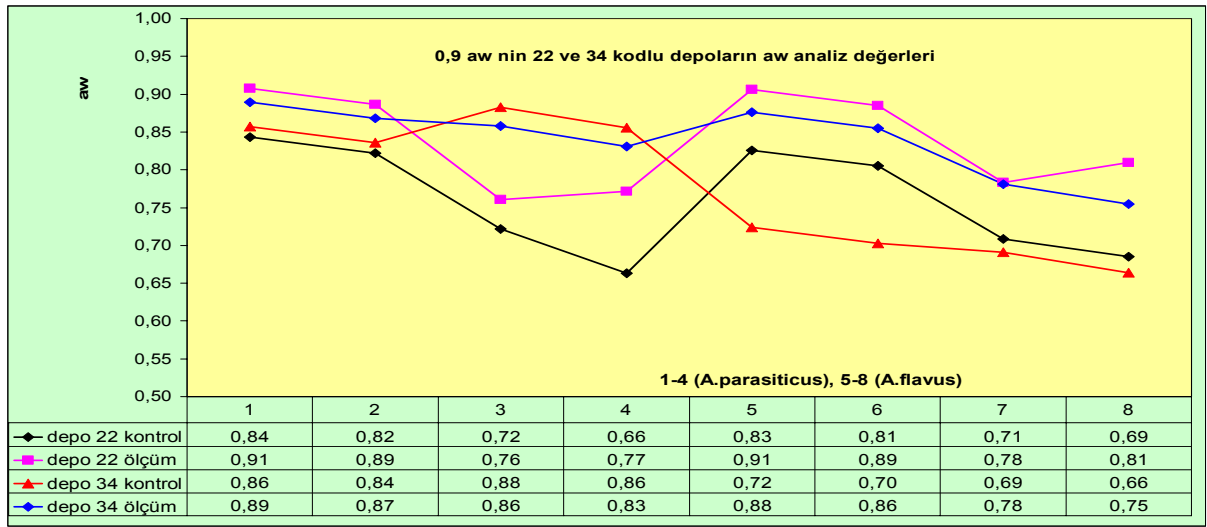
Şekil 4.6.2.4. 0,6 aw değerlikli mısır numunelerindeki aw dağılımı

Mısırın 0,77 aw gruplu denemesinde su aktivite değeri 0,76 aw ortalamasına serum fizyolojik su ile ayarlanmıştır. Ayarlanmanın genel ortalaması denemenin 7. günü değerlendirildiğinde aw değeri ortalamaları 0,77 aw olarak seyrinde herhangi bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Fakat 14., 21. ve 28. gün analiz sonuçları ile karşılaştırıldığında aw değerlerinin doğrusal olarak azaldığı ve bu davranışı her iki depoda da yaklaşık aynı oranlarda azaldığı görülmüştür. Azalma eğilimi ilk grupta olan davranış ile benzerlik gösterdiği ve ortama fazla olan bağıl nemini (su aktivite değerini) ortama migrasyon sonucu verdiği Şekil 4.6.2.5.'de de görülmektedir.



Şekil 4.6.2.5. 0,77 aw değerlikli mısır numunelerindeki aw dağılımı

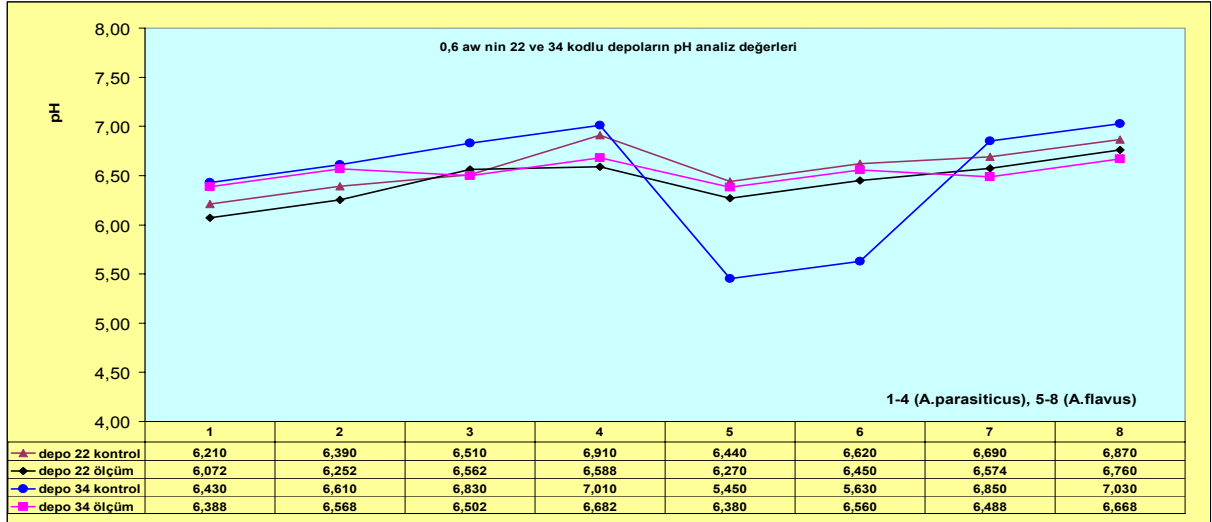
Mısırın 0,9 aw gruplu denemesinde su aktivite değeri 0,9 aw ortalamasına serum fizyolojik su ile ayarlanmıştır. Ayarlamamanın genel ortalaması denemenin 7. günü değerlendirildiğinde aw değeri ortalamaları 0,87 aw olarak seyrinde herhangi bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Fakat 14., 21. ve 28. gün analiz sonuçları ile karşılaştırıldığında aw değerlerinin doğrusal olarak azaldığı ve bu davranışı her iki depoda da yaklaşık aynı oranlarda azaldığı görülmüştür. Azalma eğilimi ilk grup ve ikinci gruptaki davranış ile benzerlik gösterdiği ve ortama fazla olan bağıl nemini (su aktivite değerini) ortama migrasyon ile verdiği tezini doğrulağı Şekil 4.6.2.6.'de görülmektedir.



Şekil 4.6.2.6. 0,77 aw değerlikli mısır numunelerindeki aw dağılımı

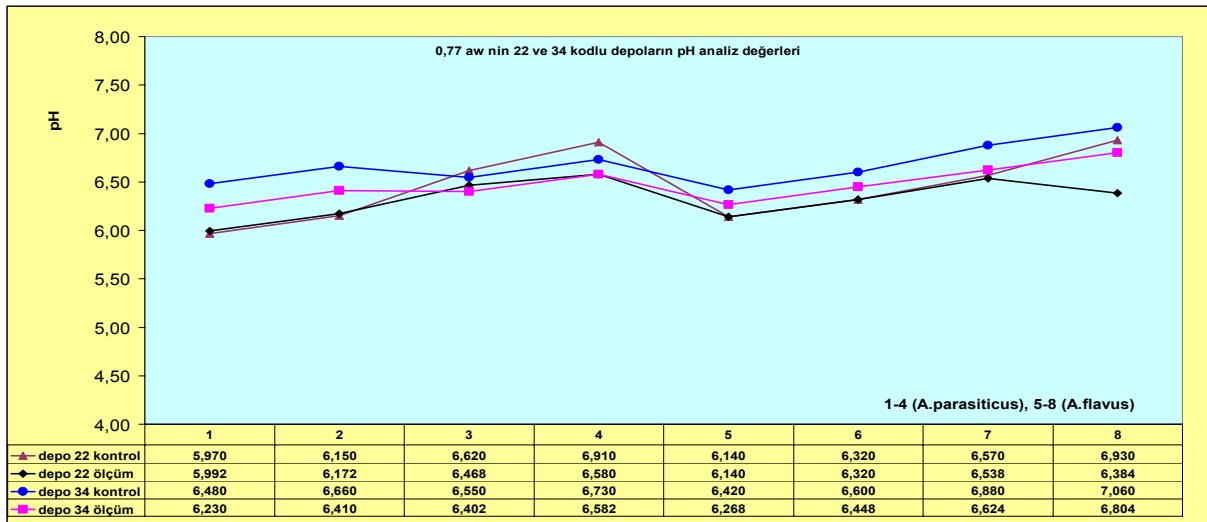
### 4.6.3. pH Analiz Sonuçları

Buğdayın 0,6 aw gruplu denemesinde her iki deponun pH ölçümlerde dahi birbirine çok yakın olduğu görülmektedir. 7. gün ortalamaları 6,0 – 6,4 pH ölçüm değerinin 14., 21. ve 28. günlere doğru doğrusal bir artış sergilediği açıkça görülmektedir. 7. gün ortalamaları 6,0–6,4 pH iken 28. gün ortalamaları 6,8–7,0 değerine ulaştığı Şekil 4.6.3.1.'de görülmektedir.



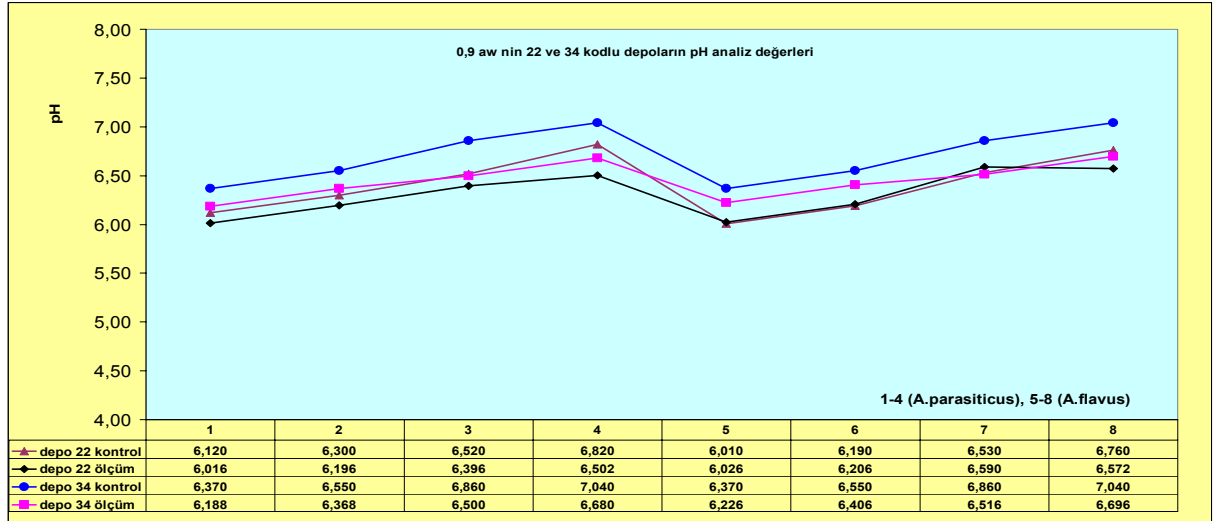
Şekil 4.6.3.1. 0,6 aw değerlikli buğday numunelerindeki pH dağılımı

Buğdayın 0,77 aw gruplu denemede pH değerinin 6,0–6,4 değerindeki seviyesi her iki deponun ölçümlerde dahi birbirine çok yakın olduğu görülmektedir. Her ne kadar esansiyel yağ ve m.organizma bulaştırılmasına rağmen pH değerlerinin ilk hafta değeri ile son haftaya doğru doğrusal bir artış sergilediği açıkça görülmektedir. 7. gün ortalamaları 6,0–6,4 pH iken 28. gün ortalamaları 6,6–7,0 değerine ulaştığı Şekil 4.6.3.2.'de görülmektedir.



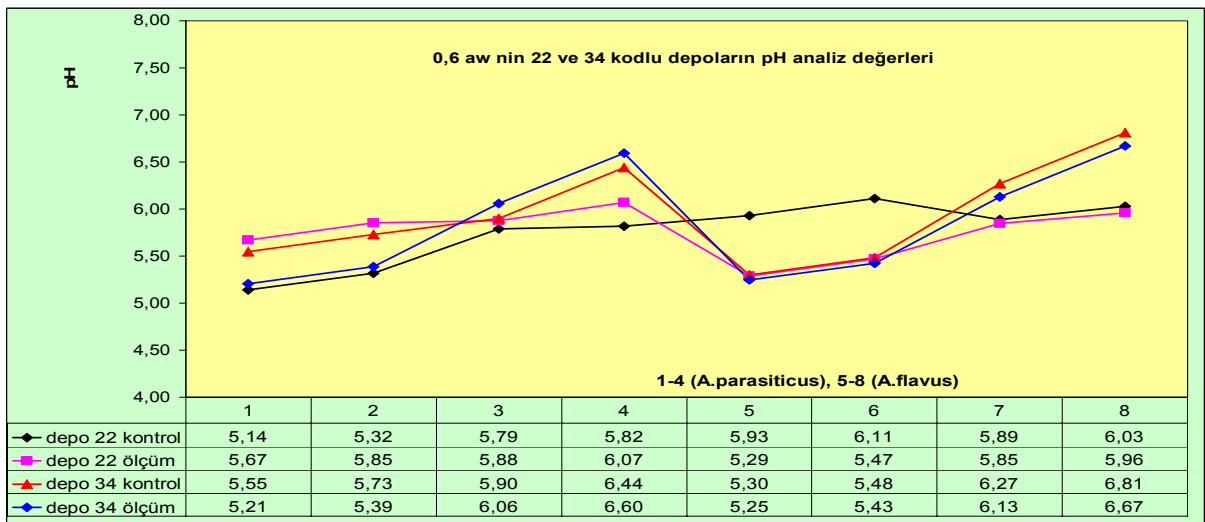
Şekil 4.6.3.2. 0,77 aw değerlikli buğday numunelerindeki pH dağılımı

Buğdayın 0,9 aw gruplu deneme grubu 0,6 aw ve 0,77 aw li diğer grup ile aynı davranışı sergilediği gözlemlenmiştir. pH değerinin 6,0–6,4 değerindeki seviyesi her iki deponun ölçümlerde dahi birbirine çok yakın olduğu görülmektedir. Her ne kadar esansiyel yağ ve m.organizma bulaştırılmasına rağmen pH değerlerinin ilk hafta değeri ile son haftaya doğru doğrusal bir artış sergilediği açıkça görülmektedir. 7. gün ortalamaları 6,0–6,4 pH iken 28. gün ortalamaları 6,6–7,0 değerine ulaştığı Şekil 4.6.3.3.'de görülmektedir.



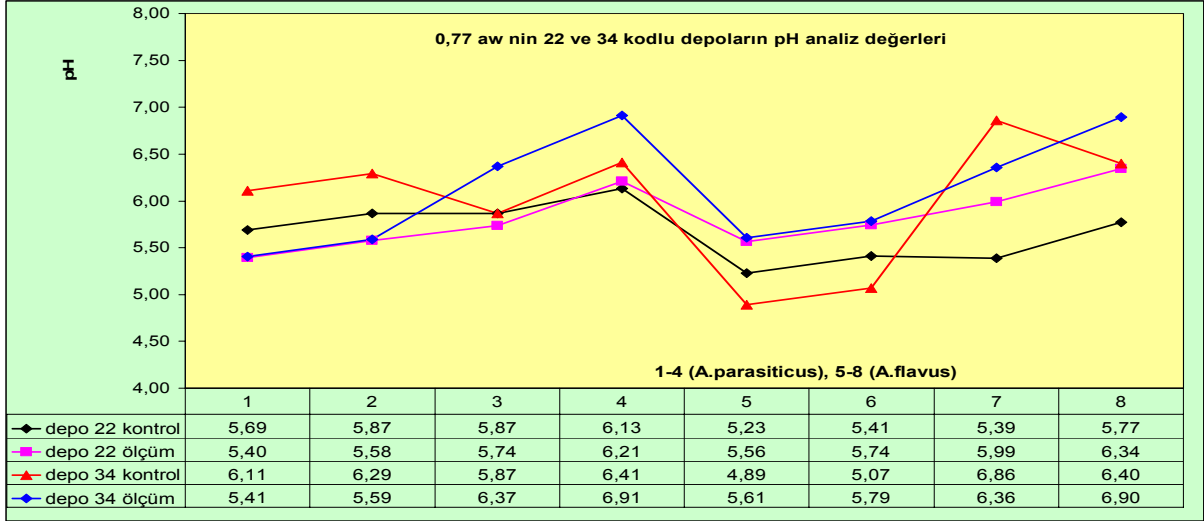
Şekil 4.6.3.3. 0,9 aw değerlikli buğday numunelerindeki pH dağılımı

Mısırın 0,6 aw gruplu denemesinde her iki deponun pH ölçümlerde dahi birbirine çok yakın olduğu görülmektedir. 7. gün ortalamaları 5,5 pH ölçüm değerinin 14., 21. ve 28. günlere doğru doğrusal bir artış sergilediği açıkça görülmektedir. 7. gün ortalamaları 5,5 pH iken 28. gün ortalamaları 6,4 değerine ulaştığı Şekil 4.6.3.4.'de görülmektedir.



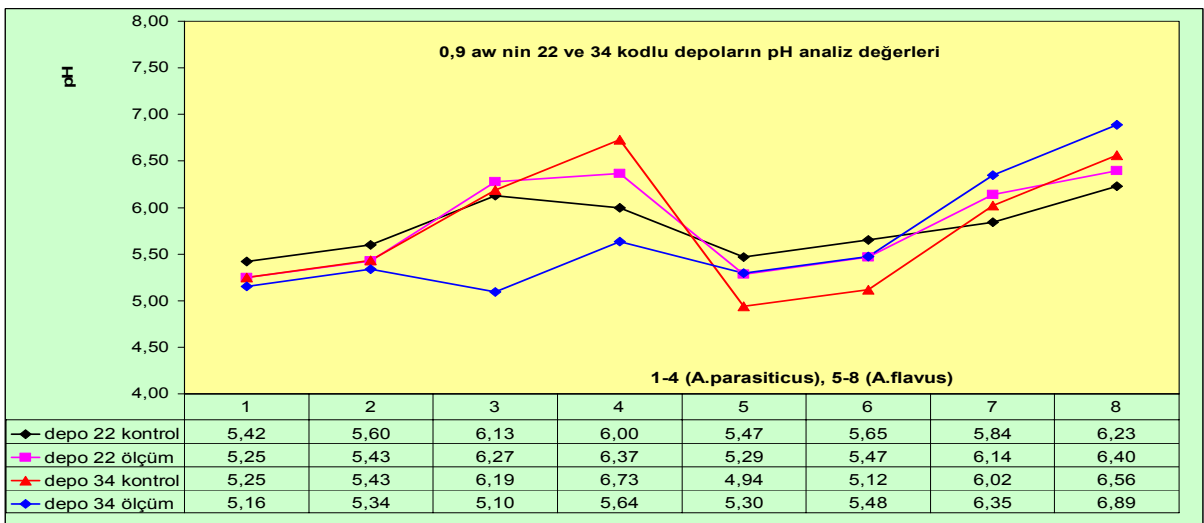
Şekil 4.6.3.4. 0,6 aw değerlikli mısır numunelerindeki pH dağılımı

Mısırın 0,77 aw grulu denemesinde her iki deponun pH ölçümlerinin davranışı birbirine çok yakın olduğu görülmektedir. 7. gün ortalamaları 5,8 pH ölçüm değerinin 14., 21. ve 28. günlere doğru doğrusal bir artış sergilediği açıkça görülmektedir. 7. gün ortalamaları 5,8 pH iken 28. gün ortalamaları 6,8 değerine ulaştığı Şekil 4.6.3.5.'de görülmektedir.



Şekil 4.6.3.5. 0,77 aw değerlikli mısır numunelerindeki pH dağılımı

Mısırın 0,9 aw grulu deneme grubu 0,6 aw ve 0,77 aw li diğer grup ile aynı davranışı sergilediği gözlemlenmiştir. pH değerinin 7. gün ortalamaları 5,4 seviyesinde iken bu değer 14., 21. ve 28. günlerde doğrusal ve dik bir artış eğilimine girmiştir. Her ne kadar esansiyel yağ ve m.organizma bulaştırılmasına rağmen pH değerlerinin ilk hafta değeri ile son haftaya doğru doğrusal bir artış sergilediği Şekil 4.6.3.6.'de görülmektedir.

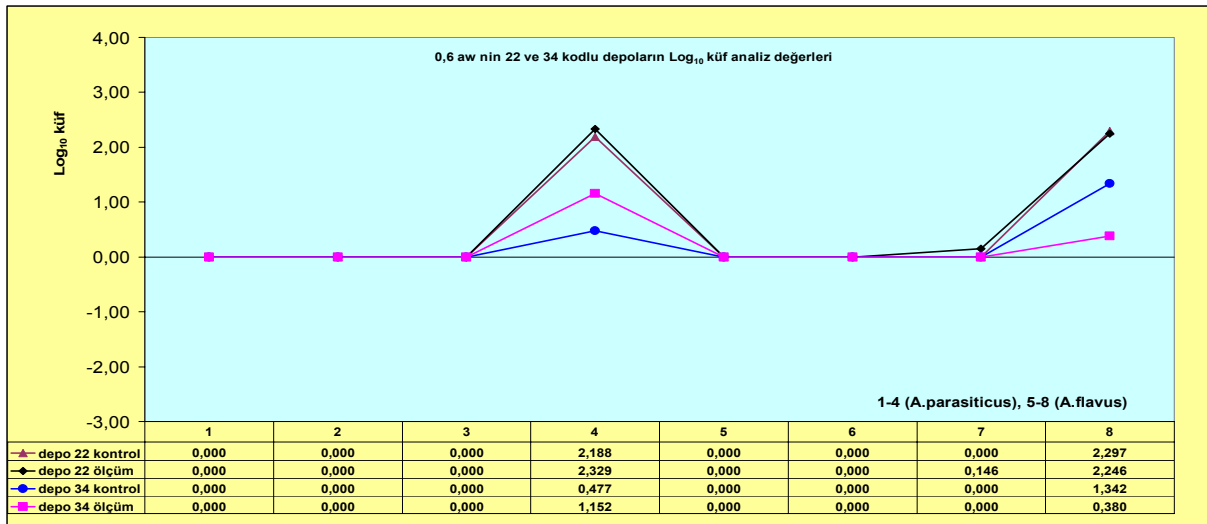


Şekil 4.6.3.6. 0,9 aw değerlikli mısır numunelerindeki pH dağılımı



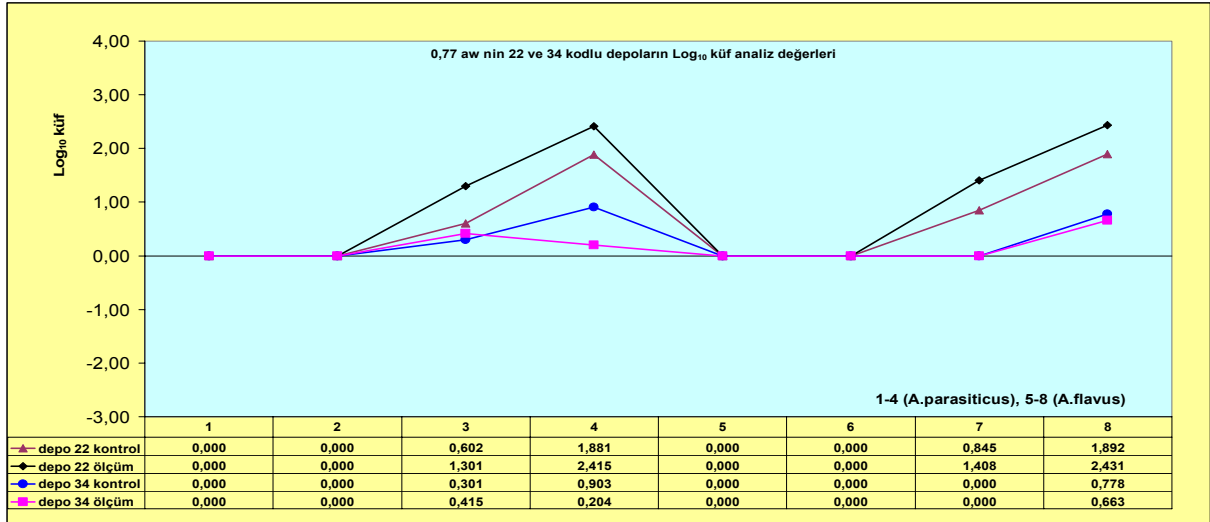
#### 4.6.4. Küf Analiz Sonuçları

Buğdayın 0,6 aw grulu denemesinde her iki deponun küf ölçümleri  $\log_{10}$  tabanına göre sonuçları irdelendiğinde 7., 14. ve 21. günlerde üremenin olmadığı–çok az olduğu Şekil 4.6.4.1.'de görülmektedir. 28. gün sonundaki değerlerin yüksek olduğu ve depo 22'nin küf gelişimini depo 34'e göre daha hızlı ve sayısal anlamda daha çok olduğu grafikte görülmektedir. Depolama sıcaklığının küfler üzerindeki etkisini küflerin inkübasyon sıcaklığına yakın olması itibari ile depo 22'de fazla olması normal karşılanmıştır. Depo 34'teki sıcaklığın inkübasyon sıcaklığından daha fazla olması küflerin gelişimini yavaşlattığı hatta sonuçlarda yarı yarıya azalım içersinde olduğu görülmektedir. Her iki küf suşunun davranışlarının aynı olduğu grafikten okunan sonuçlardandır.



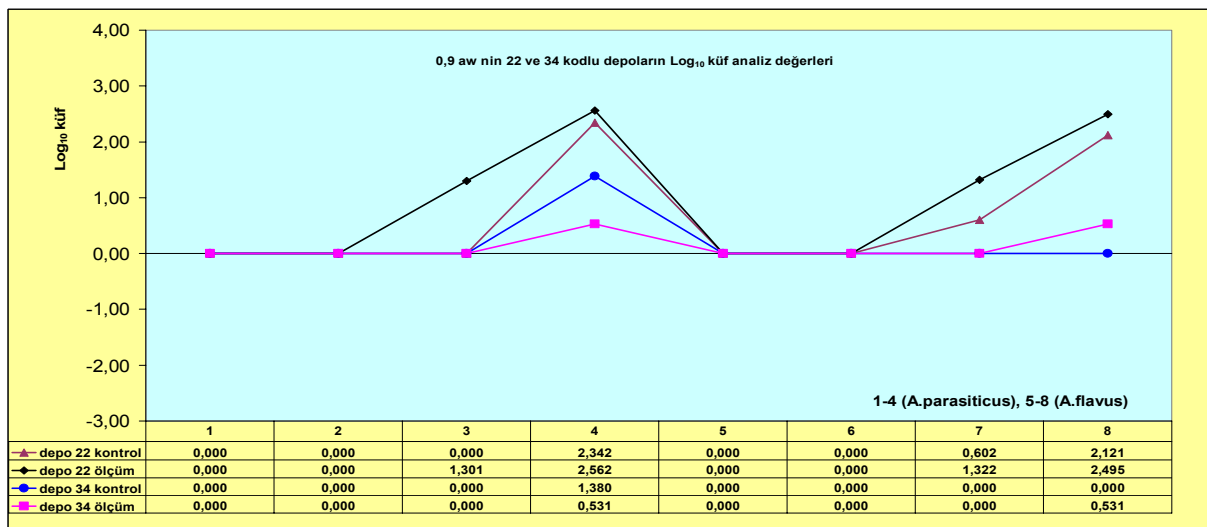
Şekil 4.6.4.1. 0,6 aw değerlikli buğday numunelerindeki küf (log kob / ml küf) dağılımı

Buğdayın 0,77 aw grulu denemesinde her iki deponun m.biyolojik (küf) ölçümleri  $\log_{10}$  tabanına göre sonuçları irdelendiğinde 7. ve 14. günlerde üremenin olmadığı–çok az olduğu Şekil 4.6.4.2.'de görülmektedir. 21. ve 28. gün sonundaki değerlerin ise sırası ile artış içersinde olduğu tespitlerdendir. Depo 22'nin küf gelişimini depo 34'e göre daha hızlı ve sayısal anlamda daha çok olduğu grafikte görülmektedir. Depolama sıcaklığının küfler üzerindeki etkisini küflerin inkübasyon sıcaklığına yakın olması itibari ile depo 22'de fazla olması normal karşılanmıştır. Depo 34'teki sıcaklığın inkübasyon sıcaklığından daha fazla olması küflerin gelişimini yavaşlattığı hatta sonuçlarda yarı yarıya azalım içersinde olduğu görülmektedir. Her iki küf suşunun davranışlarının aynı olduğu grafikten okunan sonuçlardandır.



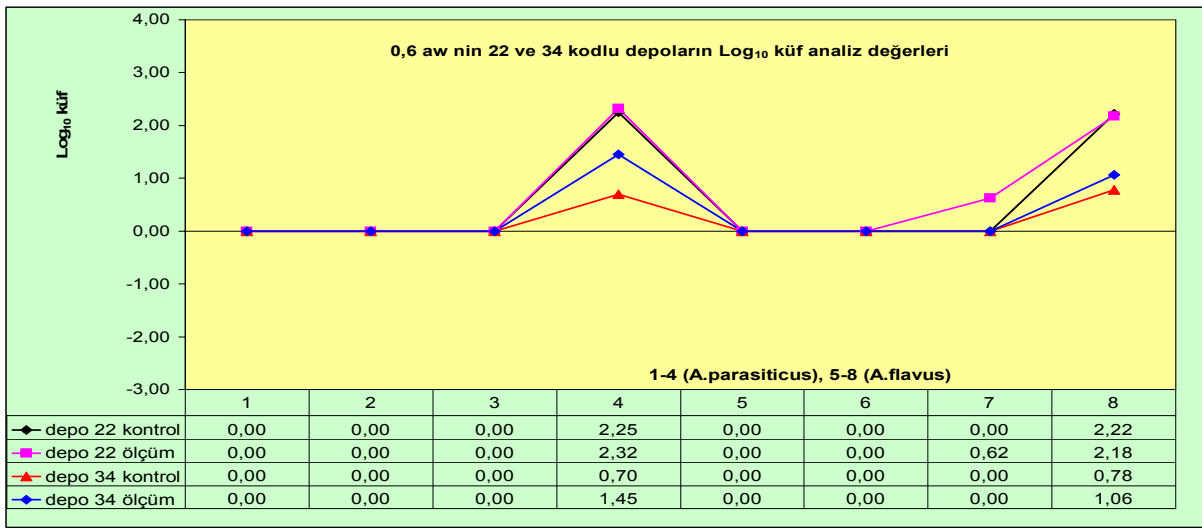
Şekil 4.6.4.2. 0,77 aw değerlikli buğday numunelerindeki küf (log kob / ml küf) dağılımı

Buğdayın 0,9 aw gruplu denemesinde her iki deponun küf ölçümleri log<sub>10</sub> tabanına göre sonuçları irdelendiğinde depo 22'nin ölçüm sonuçları; 7nci ve 14. günlerde üremenin olmadığı veya çok az olduğu, 21. ve 28. gün sonundaki değerlerin ise sırası ile artış içerisinde olduğu tespitlerdendir. Depo 34'te ise 7., 14. ve 21. günlerde üremenin olmadığı–çok az olduğu, depo 22'nin küf gelişimini depo 34'e göre daha hızlı ve sayısal anlamda daha çok olduğu Şekil 4.6.4.3.'de görülmektedir. Depolama sıcaklığının küfler üzerindeki etkisini küflerin inkübasyon sıcaklığına yakın olması nedeni ile küf gelişimleri doğal olarak depo 34'ten daha fazla olduğu görülmektedir. Depo 34'teki sıcaklığın inkübasyon sıcaklığından daha fazla olması küflerin gelişimini yavaşlattığı hatta sonuçlarda yarı yarıya azalım içerisinde olduğu görülmektedir. Her iki küf suşunun davranışlarının aynı olduğu grafikten okunan sonuçlardır.



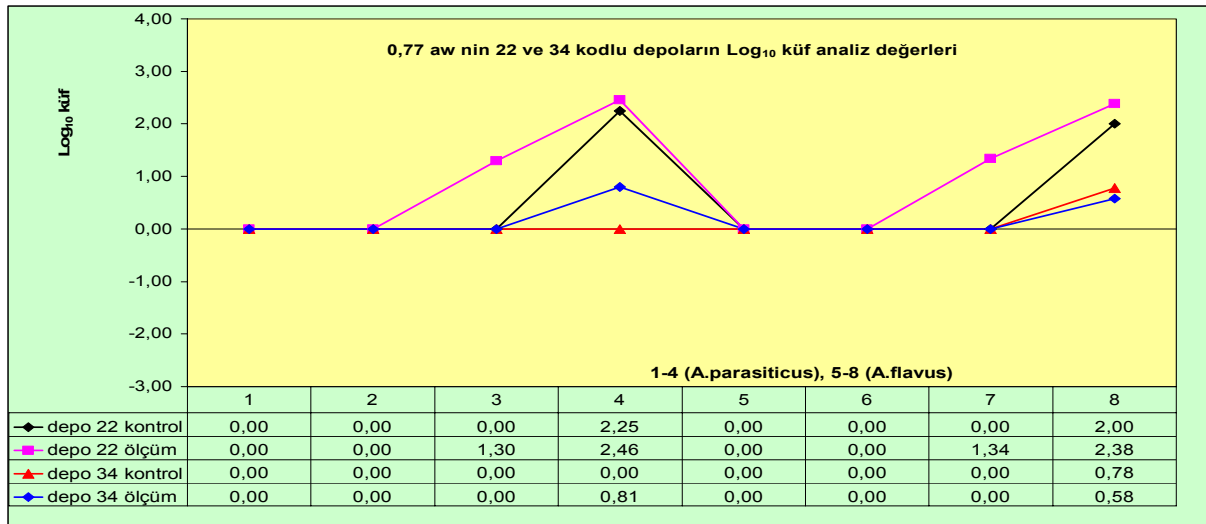
Şekil 4.6.4.3. 0,9 aw değerlikli buğday numunelerindeki küf (log kob / ml küf) dağılımı

Mısırın 0,6 aw gruplu denemesinde her iki deponun küf ölçümleri  $\log_{10}$  tabanına göre sonuçları irdelendiğinde 7., 14. ve 21. günlerde üremenin olmadığı–çok az olduğu Şekil 4.6.4.4.'de görülmektedir. 28. gün sonundaki değerlerin yüksek olduğu ve depo 22'nin küf gelişimini depo 34'e göre daha hızlı ve sayısal anlamda daha çok olduğu grafikte görülmektedir. Depolama sıcaklığının küfler üzerindeki etkisini küflerin inkübasyon sıcaklığına yakın olması itibari ile depo 22'de fazla olması normal karşılanmıştır. Depo 34'teki sıcaklığın inkübasyon sıcaklığından daha fazla olması küflerin gelişimini yavaşlattığı hatta sonuçlarda yarı yarıya azalım içerisinde olduğu görülmektedir. Her iki küf suşunun davranışlarının aynı olduğu grafikten okunan sonuçlardandır.



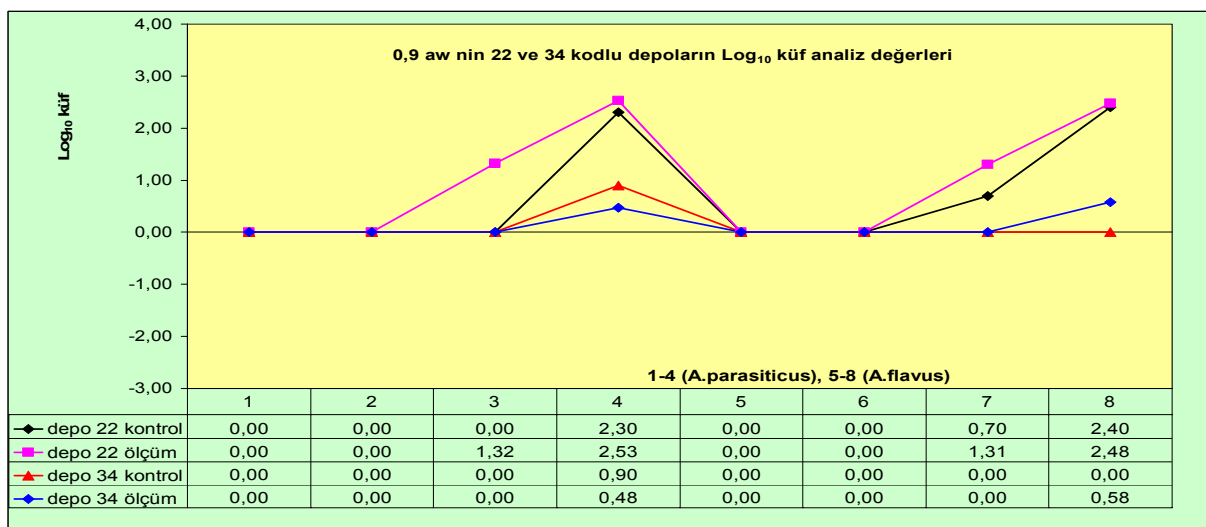
Şekil 4.6.4.4. 0,6 aw değerlikli mısır numunelerindeki küf (log kob / ml küf) dağılımı

Mısırın 0,77 aw gruplu denemesinde her iki deponun küf ölçümleri  $\log_{10}$  tabanına göre sonuçları irdelendiğinde 7. ve 14. günlerde üremenin olmadığı–çok az olduğu Şekil 4.6.4.5.'de görülmektedir. 21. ve 28. gün sonundaki değerlerin ise sırası ile artış içerisinde olduğu tespitlerdendir. Depo 22'nin küf gelişimini depo 34'e göre daha hızlı ve sayısal anlamda daha çok olduğu grafikte görülmektedir. Depolama sıcaklığının küfler üzerindeki etkisini küflerin inkübasyon sıcaklığına yakın olması itibari ile depo 22'de fazla olması normal karşılanmıştır. Depo 34'teki sıcaklığın inkübasyon sıcaklığından daha fazla olması küflerin gelişimini yavaşlattığı hatta sonuçlarda yarı yarıya azalım içerisinde olduğu görülmektedir. Her iki küf suşunun davranışlarının aynı olduğu grafikten okunan sonuçlardandır.



Şekil 4.6.4.5. 0,77 aw değerlikli mısır numunelerindeki küf (log kob / ml küf) dağılımı

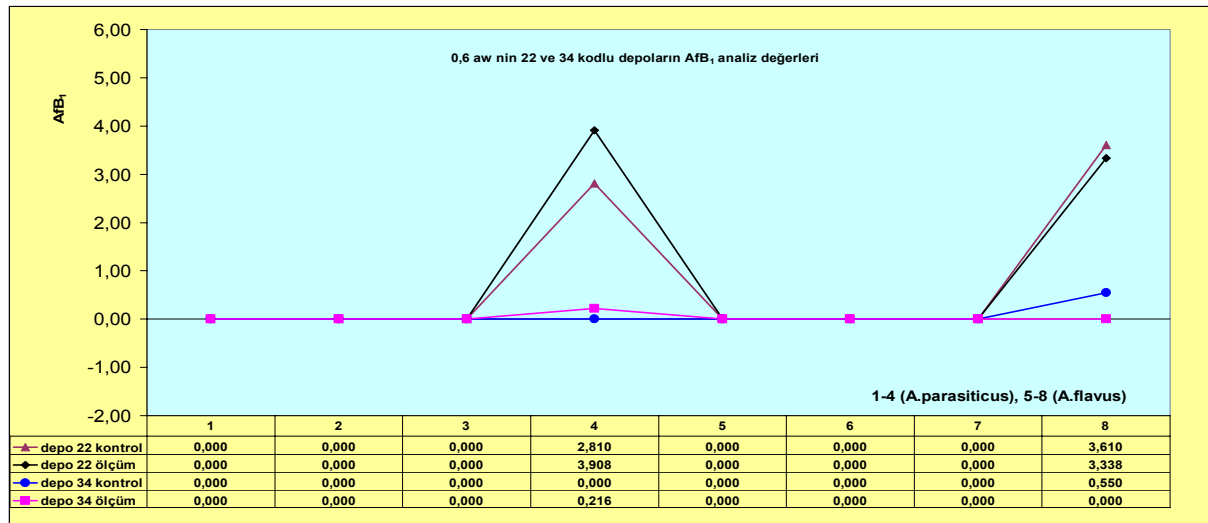
Mısırın 0,9 aw gruplu denemesinde her iki deponun küf ölçümleri log<sub>10</sub> tabanına göre sonuçları irdelendiğinde depo 22'nin ölçüm sonuçları; 7. ve 14. günlerde üremenin olmadığı–çok az olduğu, 21. ve 28. gün sonundaki değerlerin ise sırası ile artış içerisinde olduğu tespitlerdendir. Depo 34'ün ölçüm grubunda 7., 14. ve 21. günlerde üremenin olmadığı–çok az olduğu ve 28. günde üreme olduğu görülmüştür. Depo 22'nin küf gelişimini depo 34'e göre daha hızlı ve sayısal anlamda daha çok olduğu Şekil 4.6.4.6.'de görülmektedir. Depolama sıcaklığının küfler üzerindeki etkisini küflerin inkübasyon sıcaklığına yakın olması nedeni ile küf gelişimleri doğal olarak depo 34'ten daha fazla olduğu görülmektedir. Depo 34'teki sıcaklığın inkübasyon sıcaklığından daha fazla olması küflerin gelişimini yavaşlattığı hatta sonuçlarda yarı yarıya azalım içerisinde olduğu görülmektedir. Her iki küf suşunun davranışlarının aynı olduğu grafikten okunan sonuçlardandır.



Şekil 4.6.4.6. 0,9 aw değerlikli mısır numunelerindeki küf (log kob / ml küf) dağılımı

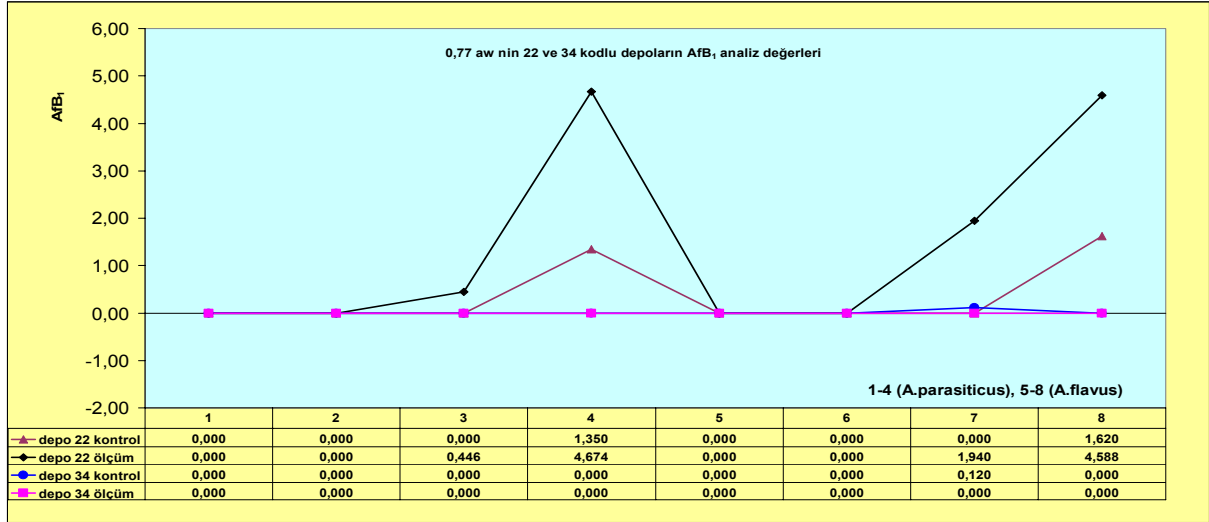
#### 4.6.5. Aflatoksin B<sub>1</sub> (Af B<sub>1</sub>) Analiz Sonuçları

Buğdayın 0,6 aw grulu denemesinde her iki deponun Af B<sub>1</sub> ölçümleri aynı grubun mikrobiyolojik ölçüm değerleri ile uyum içerisinde olduğu Şekil 4.6.5.1.'de görülmektedir. Depo 22'nin deneme esnasındaki inkübasyon sıcaklığının küflerin gelişimi için uygun olması nedeni ile Af B<sub>1</sub> değerleri küf gelişimi ile doğru orantılı olduğu ve ancak 28. gün sonrasında geliştiği görülmektedir. Depo 22'nin gerek kontrol gerek ise ölçüm grubu ile aynı olduğu ve Af B<sub>1</sub> gelişiminin olduğu grafikten görülmektedir. Depo 34'ün gerek kontrol gerek ise ölçüm grubu ile aynı olduğu ve Af B<sub>1</sub> gelişmediği grafikten görülmektedir. Her iki küf suşunun davranışlarının aynı olduğu grafikten okunan sonuçlardandır.



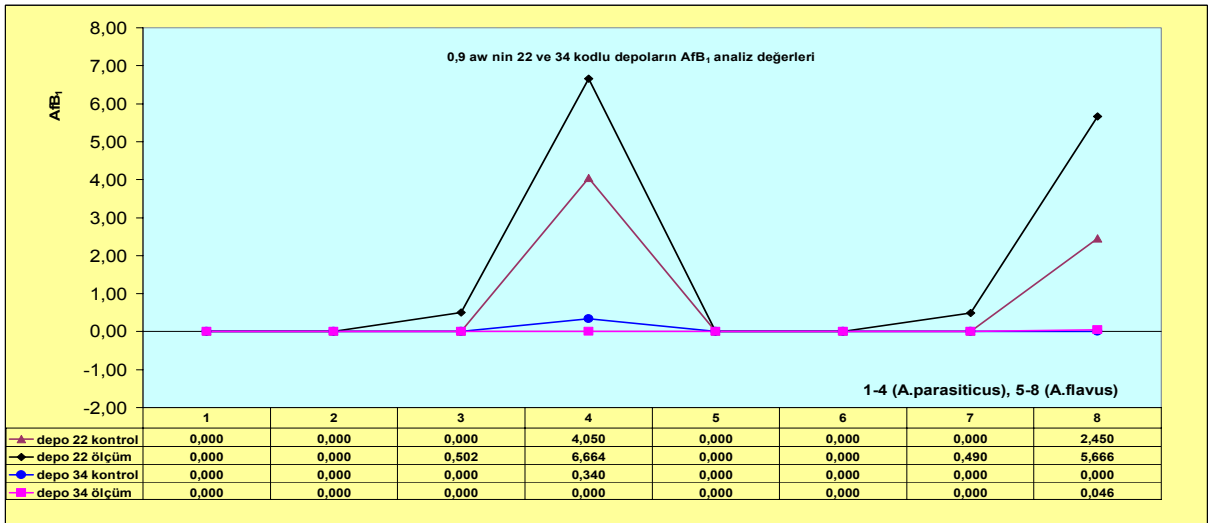
Şekil 4.6.5.1. 0,6 aw değerlikli buğday numunelerindeki Af B<sub>1</sub> (ng / g) dağılımı

Buğdayın 0,77 aw grulu denemesinde her iki deponun Af B<sub>1</sub> ölçümleri aynı grubun mikrobiyolojik ölçüm değerleri ile uyum içerisinde olduğu Şekil 4.6.5.2.'de görülmektedir. Depo 22'nin deneme esnasındaki inkübasyon sıcaklığının küflerin gelişimi için uygun olması nedeni ile Af B<sub>1</sub> değerleri küf gelişimi ile doğru orantılı olduğu ve ancak 21. gün sonrasında geliştiği ve 28. gün değerinin ise 0,6 aw'ye göre çok daha fazla olduğu ve dik bir çıkış yaptığı okunan değerler arasındadır. Depo 34'ün deneme esnasındaki inkübasyon sıcaklığının yüksek olması nedeni ile küflerin gelişimi için uygun olmaması nedeni ile küf gelişimine bağlı olarak Af B<sub>1</sub> değeri arasında doğru bir orantılı olduğu, gerek kontrol gerek ise ölçüm grubu ile aynı olduğu ve Af B<sub>1</sub> gelişmediği tespit edilmiştir. Her iki küf suşunun davranışlarının aynı olduğu grafikten okunan sonuçlardandır.



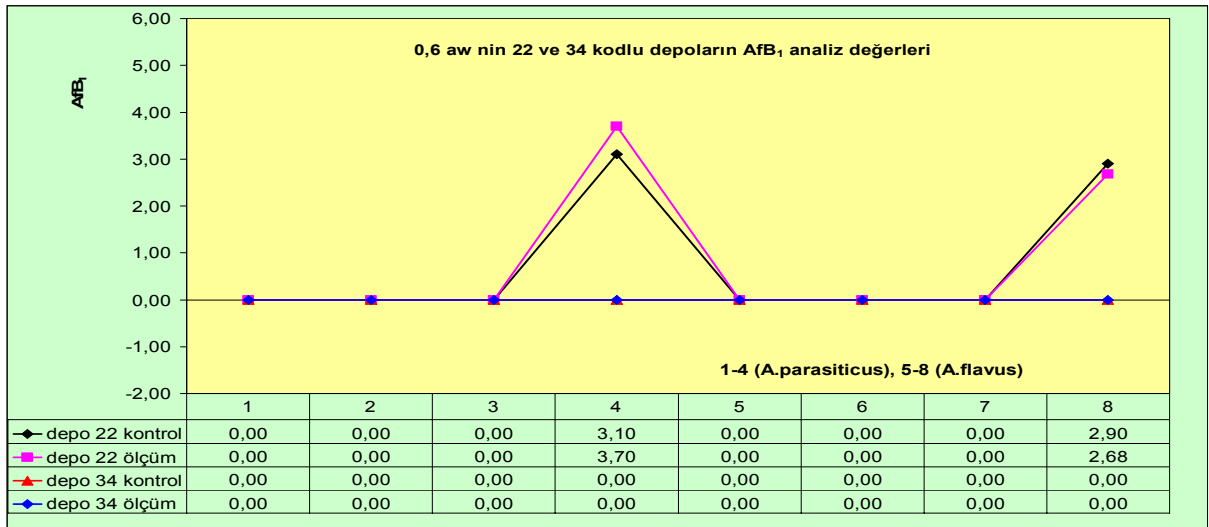
Şekil 4.6.5.2. 0,77 aw değerlikli buğday numunelerindeki Af B<sub>1</sub> (ng / g) dağılımı

Buğdayın 0,9 aw gruplu denemesinde her iki deponun Af B<sub>1</sub> ölçümleri aynı grubun mikrobiyolojik ölçüm değerleri ile uyum içersinde olduğu Şekil 4.6.5.3.'de görülmektedir. Depo 22'nin deneme esnasındaki inkübasyon sıcaklığının küflerin gelişimi için uygun olması nedeni ile Af B<sub>1</sub> değerleri küf gelişimi ile doğru orantılı olduğu ve ancak 21. gün sonrasında geliştiği ve 28. gün değerinin ise 0,6 aw ve 0,77 aw'ye göre çok daha fazla olduğu ve deneme grubunun aw değeri ile doğru orantılı olduğu kanısını doğrulamıştır. Depo 34'ün deneme esnasındaki inkübasyon sıcaklığının yüksek olması nedeni ile küflerin gelişimi için uygun olmaması aw değerinin ne kadar yükseltirsek yükseltelim sıcaklığın etkisinin ne kadar önemli olduğunu net bir şekilde görülmektedir. Bu bağlamda Af B<sub>1</sub> gelişimini engellemiştir. Her iki küf şusunun davranışlarının aynı olduğu grafikten okunan sonuçlardandır.



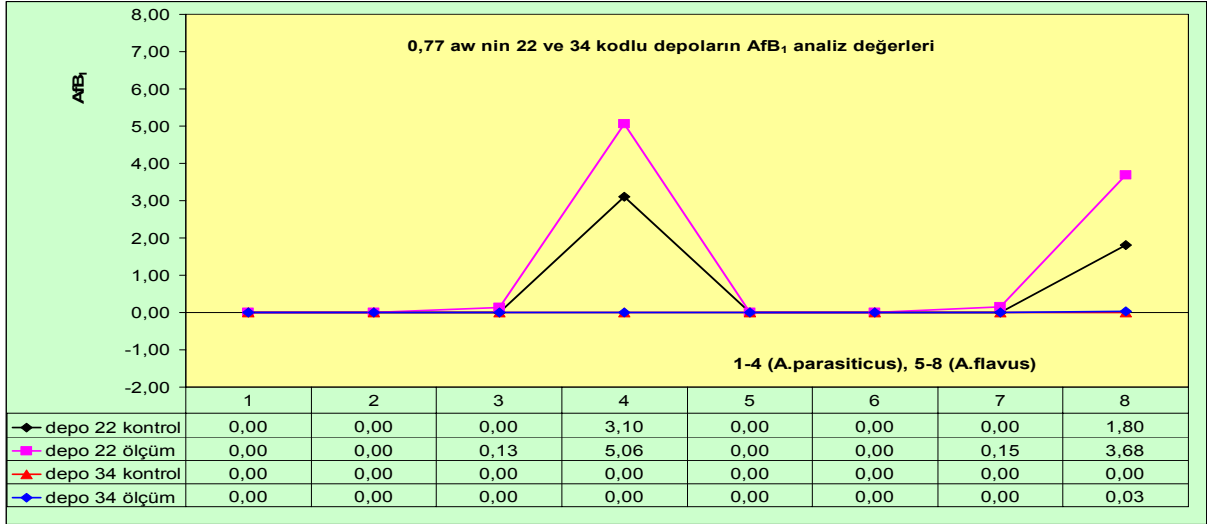
Şekil 4.6.5.3. 0,9 aw değerlikli buğday numunelerindeki Af B<sub>1</sub> (ng / g) dağılımı

Mısırın 0,6 aw gruplu denemesinde her iki deponun Af B<sub>1</sub> ölçümleri aynı grubun mikrobiyolojik ölçüm değerleri ile uyum içerisinde olduğu Şekil 4.6.5.4.'de görülmektedir. Depo 22'nin deneme esnasındaki inkübasyon sıcaklığının küflerin gelişimi için uygun olması nedeni ile Af B<sub>1</sub> değerleri küf gelişimi ile doğru orantılı olduğu ve ancak 28. gün sonrasında geliştiği görülmektedir. Depo 22'nin gerek kontrol gerek ise ölçüm grubu ile aynı olduğu ve Af B<sub>1</sub> gelişiminin olduğu grafikten görülmektedir. Depo 34'ün gerek kontrol gerek ise ölçüm grubu ile aynı olduğu ve Af B<sub>1</sub> gelişmediği grafikten okunan değerlerdir. Her iki küf suşunun davranışlarının aynı olduğu grafikten okunan sonuçlardandır.



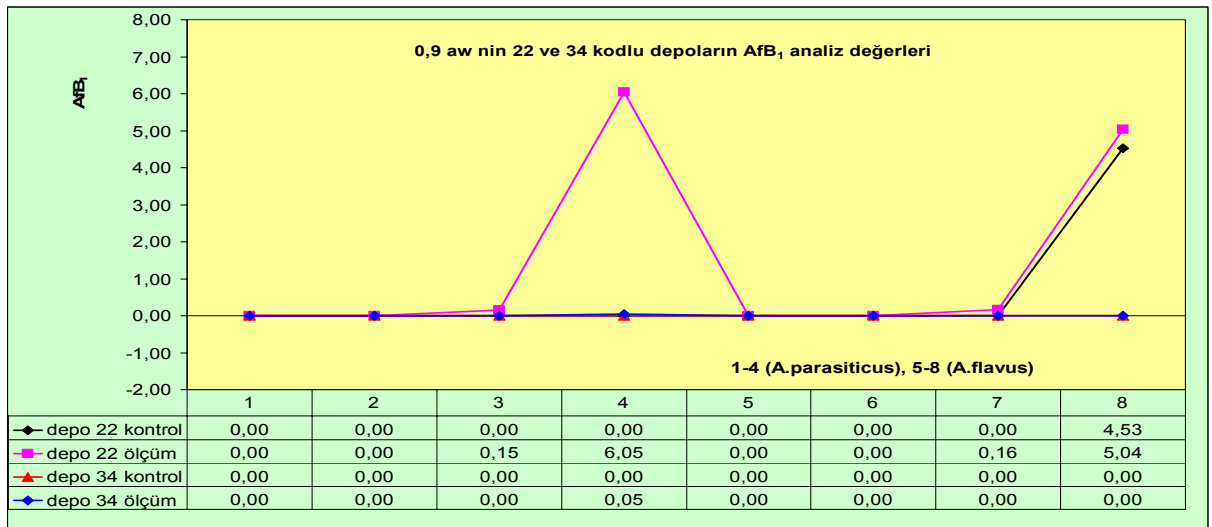
Şekil 4.6.5.4. 0,6 aw değerlikli mısır numunelerindeki Af B<sub>1</sub> (ng / g) dağılımı

Mısırın 0,77 aw gruplu denemesinde her iki deponun Af B<sub>1</sub> ölçümleri aynı grubun mikrobiyolojik ölçüm değerleri ile uyum içerisinde olduğu Şekil 4.6.5.5.'de görülmektedir. Depo 22'nin deneme esnasındaki inkübasyon sıcaklığının küflerin gelişimi için uygun olması nedeni ile Af B<sub>1</sub> değerleri küf gelişimi ile doğru orantılı olduğu ve ancak 21. gün sonrasında geliştiği ve 28. gün değerinin ise 0,6 aw'ye göre çok daha fazla olduğu ve dik bir çıkış yaptığı okunan değerler arasındadır. Depo 34'ün deneme esnasındaki inkübasyon sıcaklığının yüksek olması nedeni ile küflerin gelişimi için uygun olmaması nedeni ile küf gelişimine bağlı olarak Af B<sub>1</sub> değeri arasında doğru bir orantılı olduğu, gerek kontrol gerek ise ölçüm grubu ile aynı olduğu ve Af B<sub>1</sub> gelişmediği tespit edilmiştir. Her iki küf suşunun davranışlarının aynı olduğu grafikten okunan sonuçlardandır.



Şekil 4.6.5.5. 0,77 aw değerlikli mısır numunelerindeki Af B<sub>1</sub> (ng / g) dağılımı

Mısırın 0,9 aw gruplu denemesinde her iki deponun Af B<sub>1</sub> ölçümleri aynı grubun mikrobiyolojik ölçüm değerleri ile uyum içersinde olduğu Şekil 4.6.5.6.'de görülmektedir. Depo 22'nin deneme esnasındaki inkübasyon sıcaklığının küflerin gelişimi için uygun olması nedeni ile Af B<sub>1</sub> değerleri küf gelişimi ile doğru orantılı olduğu ve ancak 21. gün sonrasında geliştiği ve 28. gün değerinin ise 0,6 aw ve 0,77 aw'ye göre çok daha fazla olduğu ve deneme grubunun aw değeri ile doğru orantılı olduğu kanısını doğrulamıştır. Depo 34'ün deneme esnasındaki inkübasyon sıcaklığının yüksek olması nedeni ile küflerin gelişimi için uygun olmaması aw değerinin ne kadar yükseltirsek yükseltelim sıcaklığın etkisinin ne kadar önemli olduğunu net bir şekilde görülmektedir. Bu bağlamda AfB<sub>1</sub> gelişimini engellemiştir. Her iki küf suşunun davranışlarının aynı olduğu grafikten okunan sonuçlardandır.



Şekil 4.6.5.6. 0,9 aw değerlikli mısır numunelerindeki Af B<sub>1</sub> (ng / g) dağılımı



Af B<sub>1</sub>'in numunelerde tespit edilebilmesi için yeterli sayıda küfün olmasına, sıcaklığa, ortamın pH değerine, nemine, aw değerine, küf için gıda maddesine ve küfün Af B<sub>1</sub> üretebilmesi geçen zamana ihtiyacı bulunmaktadır. Bu bağlamda tespit edilen sonuçların AfB<sub>1</sub>'in gelişmesine doğrudan etkili olduğu birçok çalışmada vurgulanmıştır. Bitki esansiyel yağların 7., 14., ve 21. günü gerek mikrobiyal gelişmesine gerekse Af B<sub>1</sub>'in oluşumuna etkili olduğu görülmektedir.

#### **4.6.6. İstatiksel Analiz Sonuçları**

##### **4.6.6.1. Buğdayın istatiksel Analiz Sonuçları**

Araştırmada buğday numuneleri farklı sıcaklıklarda depolanması suretiyle küfler ve bitki esansiyel yağları ile kontamine edilmiş ve sonuçlardan nem değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.1.1'de yüksek nem değerini depolama 1'de (18 – 22 °C), düşük nem değerini ise depolama 2'de (32 – 36 °C)'li grupta tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar p<0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur.

pH değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.1.1'de yüksek pH değerini depolama 2'de (32 – 36 °C), düşük pH değerinin ise depolama 1'de (18 – 22 °C)'li grupta tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar p<0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Su aktivite (aw) değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.1.1'de aw değerleri her iki depolama koşullarının aynı olduğu tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur.

Küf (log<sub>10</sub> kob / ml.küf) değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.1.1'de yüksek küf değerini depolama 1'de (18 – 22 °C), düşük küf değerinin ise depolama 2'de (32 – 36 °C)'li grupta tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar p<0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Af B<sub>1</sub> değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.1.1'de yüksek Af B<sub>1</sub> değerini depolama 1'de (18 – 22 °C), düşük Af B<sub>1</sub> değerinin ise depolama 2'de (32 – 36 °C)'li grupta tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar p<0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.6.6.1.1. Buğdayın farklı depolama sıcaklıklarında, bazı (nem, pH, aw, küf ve Af B<sub>1</sub>) parametrelere ilişkin analiz değerleri

<b>Analiz</b> <b>Koşul</b>	<b>Nem</b>	<b>pH</b>	<b>aw</b>	<b>Log<sub>10</sub> kob/ ml küf</b>	<b>Af B<sub>1</sub></b>
Depo sıcak. 1 (18 – 22 °C)	13,09 ± 0,21	6,38 ± 0,018	0,73 ± 0,008	0,69 ± 0,06	1,23 ± 0,18
Depo sıcak. 2 (32 – 36 °C)	11,75 ± 0,18	6,50 ± 0,016	0,73 ± 0,009	0,14 ± 0,019	0,016 ± 0,005
p	<0,01	<0,01	ÖD	<0,01	<0,01

Araştırmada buğday numuneleri farklı sıcaklıklarda depolanması suretiyle küfler ve bitki esansiyel yağları ile kontamine edilmiş ve sonuçlardan nem değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.1.2.'de en yüksek nem değerini 0,9 aw'li grup, en düşük nem değerini ise 0,6 aw'li grupta tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar p<0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur.

pH değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.1.2.'de yüksek pH değerini 0,6 aw'li grup verirken diğer iki grupta benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar p<0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Su aktivite (aw) değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.1.2.'de en yüksek aw değerini 0,9 aw'li grup verirken, en düşük 0,6 aw'li grupta tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar p<0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Küf (log<sub>10</sub> kob / ml küf) değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.1.2.'de küf değerlerinin su aktivite gruplarının benzer olduğu tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur.

Af B<sub>1</sub> değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.1.2.'de Af B<sub>1</sub> küf değerlerinin su aktivite gruplarının benzer olduğu tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur.

Çizelge 4.6.6.1.2. Buğdayın farklı su aktivite (aw) değerindeki bazı (nem, pH, aw, küf ve Af B<sub>1</sub>) parametrelere ilişkin analiz değerleri

<b>Analiz Koşul</b>	<b>Nem</b>	<b>pH</b>	<b>aw</b>	<b>Log<sub>10</sub> kob/ ml küf</b>	<b>Af B<sub>1</sub></b>
0,6 aw	9,31 ± 0,06 c	6,49 ± 0,02 a	0,58 ± 0,00 c	0,38 ± 0,06	0,46 ± 0,09
0,77 aw	13,13 ± 0,18 b	6,42 ± 0,02 b	0,78 ± 0,01 b	0,44 ± 0,05	0,64 ± 0,18
0,9 aw	14,82 ± 0,24 a	6,41 ± 0,02 b	0,83 ± 0,00 a	0,43 ± 0,06	0,77 ± 0,19
p	<0,01	<0,01	<0,01	ÖD	ÖD

Araştırmada buğday numuneleri farklı sıcaklıklarda depolanması suretiyle küfler ve bitki esansiyel yağları ile kontamine edilmiş ve sonuçlardan nem değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.1.3.'de en yüksek nem değerini küf + kontrol grubu, en düşük nem değerini ise kontrol grubunda tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar  $p < 0,01$  düzeyinde önemli bulunmuştur.

pH değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.1.3.'de en yüksek pH değerini küf + sorbat grubu en düşük pH değerini ise küf + kekik grubunda tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar  $p < 0,01$  düzeyinde önemli bulunmuştur.

Su aktivite (aw) değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.1.3.'de en yüksek aw değerini küf + sorbat grubu en düşük aw değerini ise kontrol grubunda tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur.

Küf ( $\log_{10}$  kob / ml.küf) değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.1.3.'de küf değerlerinin küf + bitki esansiyel yağ gruplarının benzer olduğu tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur.

Af B<sub>1</sub> değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.1.3.'de en yüksek Af B<sub>1</sub> değerini küf + kontrol grubu en düşük Af B<sub>1</sub> değerini ise küf + biberiye grubunda tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar  $p < 0,01$  düzeyinde önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.6.6.1.3.'de Buğdayın farklı bitki esansiyel yağ ve küf suşları ile kontaminasyonunun bazı (nem, pH, aw, küf ve Af B<sub>1</sub>) parametrelere ilişkin analiz değerleri

<b>Analiz Koşul</b>	<b>Nem</b>	<b>pH</b>	<b>aw</b>	<b>Log<sub>10</sub> kob/ ml küf</b>	<b>Af B<sub>1</sub></b>
kontrol	8,70 ± 0,94 d	6,55 ± 0,04 a	0,69 ± 0,01 b	0,41 ± 0,075	0,35 ± 0,096 b
küf + kontrol	14,51 ± 0,40 a	6,51 ± 0,03 a	0,74 ± 0,01 a	0,56 ± 0,103	1,78 ± 0,485 a
küf + kekik	12,40 ± 0,28 c	6,18 ± 0,03 c	0,74 ± 0,02 a	0,32 ± 0,075	0,38 ± 0,11 b
küf + biberiye	12,46 ± 0,26 c	6,43 ± 0,02 b	0,71 ± 0,01 ab	0,41 ± 0,073	0,32 ± 0,09 b
küf + defne	13,01 ± 0,30 bc	6,41 ± 0,03 b	0,73 ± 0,01 a	0,43 ± 0,075	0,50 ± 0,14 b
küf + p.sorbat	13,42 ± 0,31 b	6,57 ± 0,03 a	0,75 ± 0,01 a	0,37 ± 0,076	0,40 ± 0,11 b
p	<0,01	<0,01	ÖD	ÖD	<0,01

Araştırmada buğday numuneleri farklı depolama sürelerinde, küf ve bitki esansiyel yağları ile kontamine edilmiş ve sonuçlardan nem değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.1.4.'de en yüksek nem değerini 14. günlük değeri, en düşük nem değerini ise 21. gün değeri tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar p<0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur.

pH değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.1.4.'de en yüksek pH değerini 28. günlük değeri, en düşük pH değerini ise 7. gün değeri tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar p<0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Su aktivite (aw) değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.1.4.'de en yüksek aw değerini 7. günlük değeri, en düşük aw değerini ise 21. gün değeri tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar p<0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Küf (log<sub>10</sub> kob / ml.küf) değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.1.4.'de küf değerlerinin 28. günlük değeri, düşük küf değerlerinin etkisi ise 7. ve 14. gün değeri tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar p<0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Af B<sub>1</sub> değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.1.4.'de en yüksek Af B<sub>1</sub> değerini 28. günkü değeri, düşük Af B<sub>1</sub> değerini ise 7. ve 14. gün değeri tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar p<0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.6.6.1.4.'de Buğdayın farklı farklı depolama sürelerindeki değişimlerinin bazı (nem, pH, aw, küf ve Af B<sub>1</sub>) parametrelere ilişkin analiz değerleri

<b>Analiz Koşul</b>	<b>Nem</b>	<b>pH</b>	<b>aw</b>	<b>Log<sub>10</sub> kob/ ml küf</b>	<b>Af B<sub>1</sub></b>
7. gün	12,17 ± 0,27 b	6,19 ± 0,02 d	0,76 ± 0,01 a	0 ± 0 c	0 ± 0 b
14. gün	13,00 ± 0,27 a	6,37 ± 0,02 c	0,72 ± 0,01 bc	0 ± 0 c	0 ± 0 b
21. gün	12,04 ± 0,28 b	6,54 ± 0,02 b	0,69 ± 0,01 c	0,31 ± 0,043 b	0,24 ± 0,074 b
28. gün	12,45 ± 0,29 ab	6,67 ± 0,02 a	0,74 ± 0,01 ab	1,36 ± 0,08 a	2,25 ± 0,3 a
p	ÖD	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01

#### 4.6.6.2. Mısırın İstatiksel Analiz Sonuçları

Araştırmada mısır numuneleri farklı sıcaklıklarda depolanması suretiyle küfler ve bitki esansiyel yağları ile kontamine edilmiş ve sonuçlardan nem değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.2.1'de yüksek nem değerini depolama 1'de (18 – 22 °C), düşük nem değerini ise depolama 2'de (32 – 36 °C)'li grupta tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar p<0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur.

pH değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.2.1'de pH değerlerinin depolama sıcaklığında değişmediği ve benzer olduğu tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur.

Su aktivite (aw) değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.2.1'de aw değerlerinin depolama sıcaklığında değişmediği ve benzer olduğu tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur.

Küf ( $\log_{10}$  kob / ml.küf) değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.2.1’de yüksek küf değerini depolama 1’de (18 – 22 °C), düşük küf değerinin ise depolama 2’de (32 – 36 °C)’li grupta tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar  $p<0,01$  düzeyinde önemli bulunmuştur.

Af B<sub>1</sub> değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.2.1’de yüksek Af B<sub>1</sub> değerini depolama 1’de (18 – 22 °C), düşük Af B<sub>1</sub> değerinin ise depolama 2’de (32 – 36 °C)’li grupta tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar  $p<0,01$  düzeyinde önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.6.6.2.1. Mısırın farklı depolama sıcaklıklarında, bazı (nem, pH, aw, küf ve Af B<sub>1</sub>) parametrelere ilişkin analiz değerleri

<b>Analiz</b> <b>Koşul</b>	<b>Nem</b>	<b>pH</b>	<b>aw</b>	<b>Log<sub>10</sub> kob/ ml</b> <b>küf</b>	<b>Af B<sub>1</sub></b>
Depo sıcak. 1 (18 – 22 °C)	12,41 ± 0,18 a	5,79 ± 0,025	0,71 ± 0,007	0,69 ± 0,058 a	1,04 ± 0,18 a
Depo sıcak. 2 (32 – 36 °C)	11,55 ± 0,19 b	5,80 ± 0,061	0,70 ± 0,007	0,19 ± 0,024 b	0,002 ± 0,001 b
p	<0,01	ÖD	ÖD	<0,01	<0,01

Araştırmada mısır numuneleri farklı sıcaklıklarda depolanması suretiyle küfler ve bitki esansiyel yağları ile kontamine edilmiş ve sonuçlardan nem değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.2.2.’de en yüksek nem değerini 0,9 aw’li grup, en düşük nem değerini ise 0,6 aw’li grupta tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar  $p<0,01$  düzeyinde önemli bulunmuştur.

pH değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.2.2.’de pH değerlerinin depolama sıcaklığında değişmediği ve benzer olduğu tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur.

Su aktivite (aw) değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.2.2.’de en yüksek aw değerini 0,9 aw’li grup verirken, en düşük 0,6 aw’li grupta tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar  $p<0,01$  düzeyinde önemli bulunmuştur.

Küf ( $\log_{10}$  kob / ml.küf) değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.2.2.'de küf değerlerinin su aktivite gruplarının benzer olduğu tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur.

Af B<sub>1</sub> değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.2.2.'de Af B<sub>1</sub> küf değerlerinin su aktivite gruplarının benzer olduğu tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur.

Çizelge 4.6.6.2.2. Mısırın farklı su aktivite (aw) değerindeki bazı (nem, pH, aw, küf ve Af B<sub>1</sub>) parametrelere ilişkin analiz değerleri

<b>Analiz Koşul</b>	<b>Nem</b>	<b>pH</b>	<b>aw</b>	<b>Log<sub>10</sub> kob/ ml küf</b>	<b>Af B<sub>1</sub></b>
0,6 aw	9,56 ± 0,14 c	5,80 ± 0,036	0,57 ± 0,004 c	0,42 ± 0,056	0,39 ± 0,08
0,77 aw	12,49 ± 0,18 b	5,83 ± 0,062	0,71 ± 0,005 b	0,44 ± 0,055	0,52 ± 0,18
0,9 aw	13,89 ± 0,22 a	5,75 ± 0,066	0,83 ± 0,007 a	0,46 ± 0,061	0,64 ± 0,19
p	<0,01	ÖD	<0,01	ÖD	ÖD

Araştırmada mısır numuneleri farklı sıcaklıklarda depolanması suretiyle küfler ve bitki esansiyel yağları ile kontamine edilmiş ve sonuçlardan nem değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.2.3.'de en yüksek nem değerini küf + kontrol grubu, en düşük nem değerini ise kontrol grubunda tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar p<0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur.

pH değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.2.3.'de pH değerlerinin küf + bitki esansiyel yağ karışımlarından değişmediği tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur.

Su aktivite (aw) değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.2.3.'de en yüksek aw değerini küf + sorbat ve küf + kekik grubu, en düşük aw değerini ise kontrol grubunda tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar p<0,05 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Küf ( $\log_{10}$  kob / ml.küf) değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.2.3.'de küf değerlerinin küf + bitki esansiyel yağ gruplarının benzer olduğu tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur.

Af B<sub>1</sub> değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.2.3.'de en yüksek Af B<sub>1</sub> değerini küf + kontrol grubu, düşük Af B<sub>1</sub> değerlerini diğer gruplarda tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar  $p < 0,01$  düzeyinde önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.6.6.2.3.'de Mısırın farklı bitki esansiyel yağ ve küf suşları ile kontaminasyonunun bazı (nem, pH, aw, küf ve Af B<sub>1</sub>) parametrelere ilişkin analiz değerleri

<b>Analiz</b> <b>Koşul</b>	<b>Nem</b>	<b>pH</b>	<b>aw</b>	<b>Log<sub>10</sub> kob/ ml küf</b>	<b>Af B<sub>1</sub></b>
kontrol	8,56 ± 0,14 d	5,59 ± 0,106 b	0,67 ± 0,011 b	0,36 ± 0,077	0,32 ± 0,101 b
küf + kontrol	14,05 ± 0,36 a	5,78 ± 0,056 ab	0,71 ± 0,014 a	0,57 ± 0,102	1,63 ± 0,486 a
küf + kekik	12,12 ± 0,22 c	5,80 ± 0,059 ab	0,72 ± 0,014 a	0,53 ± 0,082	0,36 ± 0,11 b
küf + biberiye	11,87 ± 0,23 c	5,84 ± 0,061 a	0,69 ± 0,013 ab	0,38 ± 0,071	0,19 ± 0,08 b
küf + defne	12,25 ± 0,27 c	5,86 ± 0,057 a	0,71 ± 0,012 a	0,40 ± 0,075	0,29 ± 0,09 b
küf + p.sorbat	13,04 ± 0,34 b	5,88 ± 0,116 a	0,72 ± 0,014 a	0,40 ± 0,076	0,33 ± 0,10 b
p	<0,01	ÖD	<0,05	ÖD	<0,01

Araştırmada mısır numuneleri farklı depolama sürelerinde, küf ve bitki esansiyel yağları ile kontamine edilmiş ve sonuçlardan nem değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.2.4.'de en yüksek nem değerini 7. günlük değeri, en düşük nem değerini ise 21. gün değeri tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar  $p < 0,01$  düzeyinde önemli bulunmuştur.

pH değerleri incelendiğinde Çizelge 4.6.6.2.4.'de en yüksek pH değerini 28. günlük değeri, en düşük pH değerini ise 7. gün değeri tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar  $p < 0,01$  düzeyinde önemli bulunmuştur.



Su aktivite ( $a_w$ ) değerleri incelendiğinde izelge 4.6.6.2.4.'de en yüksek  $a_w$  değerini 7. günkü değeri, en düşük  $a_w$  değerini ise 28. gün değeri tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar  $p < 0,01$  düzeyinde önemli bulunmuştur.

Kf ( $\log_{10}$  kob / ml.kf) değerleri incelendiğinde izelge 4.6.6.2.4.'de kf değerlerinin 28. günkü değeri, düşük kf değerlerinin etkisi ise 7. günkü değeri tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar  $p < 0,01$  düzeyinde önemli bulunmuştur.

Af B<sub>1</sub> değerleri incelendiğinde izelge 4.6.6.2.4.'de en yüksek Af B<sub>1</sub> değerini 28. günkü değeri, düşük Af B<sub>1</sub> değerini ise 7. ve 14. gün değeri tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî analiz sonucunda muamele grupları arasındaki farklar  $p < 0,01$  düzeyinde önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.6.6.2.4.'de Mısırın farklı depolama sürelerindeki değişimlerinin bazı (nem, pH,  $a_w$ , kf ve Af B<sub>1</sub>) parametrelere ilişkin analiz değerleri

<b>Analiz Koşul</b>	<b>Nem</b>	<b>pH</b>	<b><math>a_w</math></b>	<b><math>\log_{10}</math> kob/ ml kf</b>	<b>Af B<sub>1</sub></b>
7. gün	12,91 $\pm$ 0,22 a	5,37 $\pm$ 0,028 d	0,75 $\pm$ 0,01 a	0 $\pm$ 0 d	0 $\pm$ 0 b
14. gün	11,88 $\pm$ 0,22 b	5,55 $\pm$ 0,028 c	0,73 $\pm$ 0,01 a	0,03 $\pm$ 0,02 c	0 $\pm$ 0 b
21. gün	11,24 $\pm$ 0,27 b	5,93 $\pm$ 0,077 b	0,68 $\pm$ 0,01 b	0,30 $\pm$ 0,043 b	0,04 $\pm$ 0,014 b
28. gün	11,89 $\pm$ 0,30 b	6,32 $\pm$ 0,077 a	0,65 $\pm$ 0,01 b	1,42 $\pm$ 0,077 a	2,04 $\pm$ 0,33 a
p	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01

## 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Dünya sağlık teşkilatı (WHO)'nın 91 ülkenin tıbbi bitkileri üzerinde yapılmış olan bazı çalışmalara dayanarak yaptığı bir araştırmaya göre tedavi amacıyla kullanılan tıbbi bitkilerin toplam miktarının 20.000 kadar olduğu belirtilmiştir. Doğal olarak yetişen bitkilerin gövde, yaprak, tohum ve köklerinde birçok mikroorganizmanın büyümesini inhibe edebilecek maddeler izole edilmiş, bu maddeler mikroorganizmalar üzerine denenmiş ve aktiviteleri geleneksel halk hekimliğinde kullanılan bitkiler bilimsel bir süzgeçten geçirilerek yeniden değerlendirilmiş ve fitoterapi bir bilim dalı haline gelmiştir. Bu bilim dalı giderek gelişmekte ve daha fazla önem kazanmaktadır. Dünya sağlık örgütü (WHO) verileri, gelişmekte olan ülkelerde insanların % 80'nin bu terapi yöntemlerini kullandığını ve 3,3 milyar insanın da tıbbi bitkilerden terapi aracı olarak yararlandığını ortaya koymuştur (Çelik ve Çelik 2007).

Türkiye bitki türü ile dünyanın en zengin florasına sahip ülkelerden biri olmanın yanı sıra köklü bir kültüre de sahiptir. Bu durum, bitkisel ilaçların daha etkili, daha toksik ve daha pahalı olan sentetik ilaçlar ile bir arada kullanımlarında tamamlayıcı rol oynamalarına olanak sağlamakta, tek başlarına ise alternatif terapi aracı olarak deri ve mukoza lezyonları ile diğer sistemlerin enfeksiyonlarında iyileştirici ve antiseptik amaçlı olarak kullanımlarını gündeme getirmektedir. Bu yönüyle antibakteriyel aktiviteye sahip bitkilerin bakteriyel orijinli insan, hayvan ve bitki hastalıklarının kontrolünde etkili olabileceği bildirilmektedir (Baytop 1990).

Ayrıca baharat özelliğindeki bazı bitkilerin içerdikleri uçucu yağlar ile yem ve gıdaların organoleptik özelliğinde kayba neden olmaksızın mikrobiyel bozulmayı geciktirdikleri ve buna bağlı olarak koruyucu amaçla kullanıldıkları saptanmıştır (Hulin ve Ark., 1998, Üner ve Ark., 2000, Çelik ve Çelik 2007).

Bitkilerden elde edilen esansiyel yağların antimikrobiyal etkileri birçok araştırmacı tarafından yapılan çalışmalar ile bildirilmiştir. Yine çalışmamızda antifungal aktiviteleri ölçülen bitkilerden kekik esansiyel yağının anti fungal etkisinin güçlü olduğu, defne ve biberiye esansiyel yağının anti fungal etkisinin etkili olduğu söylenebilir. Sentetik kimyasalların – katkı maddelerinin canlı sağlığına etkisi alım miktarına bağlı olarak değişmektedir. Kullanılan bu tarz sentetik katkıların kullanımları yasalar ile sınırlandırılmıştır. Doğal olmayan bu sentetik maddelerin yerine alternatififi doğal maddelerin kullanılması yapılacak çalışmaların sayısının artması ile de artış gösterecektir.

Baharatların mikroorganizmalar üzerine etkileri eskiden beri araştırılan bir konu olmuştur. Ancak bu etkinin mikroorganizmanın türüne ve baharattaki uçucu yağ konsantrasyonuna bağlı olduğu bildirilmektedir. Esansiyel yağların bileşim ve miktarları baharat cinsine, üretim şekline, iklime ve yetiştirildiği bölgenin coğrafi yapısına bağlı olarak değişmektedir (Üner ve Ark., 2000, Özcan ve Erkmen 2001).

Ayrıca bu bitkisel esansiyel yağın kendisi veya baharatın etkisinin sindirim kanalında daha düzgün bir floranın gelişmesine, patojenlerin sindirim kanalından temizlenmesinin etkilerinin geniş bir spektrumda araştırılması gerekmektedir.

Baharat esansiyel yağlarının buğday ve mısırın raf ömrünü uzatmak amacıyla yapılan bu çalışmada *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus*'a karşı gelişimini engellediği gözlenmiştir. Analiz edilen baharatlar içinde en etkilisinin kekik olduğu bulunmuştur. Çalışmada kuru buğday ve mısır ortamdan zamanla nem alarak veya küf sporları ile bulaşması gibi riskleri taşımaktadırlar. Bu çalışmada ortamdaki küf sporların temizlenmesi için kullanılan potasyum sorbatın yerine kekik esansiyel yağlarının kullanılması ile buğday ve mısırın küflenmesi geçikecektir. Çalışma in vitro şartlarında denenmiştir. Çalışmada elde edilen sonuca bağlı olarak sahada da denemeler kurularak çalışma genişletilebilir. Ürünün raf ömrünü olumlu olarak etkilediği gibi ürünlere doğru oranda kullanılması sonucunda üründe istenen hoş bir tat oluşmasına da olanak sağlayacağı tahmin edilmektedir.

Özellikle antifungisid olarak piyasalarda (tahıl endüstrisinde, un sanayinde, pastacılık uygulamalarında) kullanılan potasyum sorbat, potasyum benzoat gibi koruyucuların yerine daha doğal olan, ülkemizde yaygın bir üretimine sahip olan kekik ve defnenin; tahılların saklanması, yem ve gıda maddelerinin korunmasında, tat zenginliğinin artırılmasında, antimikrobiyal etkilerinden dolayı da endüstride kullanılmasında gelecek vaad etmektedir.

Geleneksel tıpta kullanılan bu bitkilerin yeni antimikrobiyal bileşiklerin potansiyel bir kaynağı olarak, bilimsel açıdan araştırılmaları oldukça önemlidir. Ayrıca, doğal ürünler olmaları yanı sıra etkili ve güvenilirliklerinden dolayı doğal uygulamalarda ve artan tüketici talebindeki ilginin güçlenmesi de bitkisel uçucu yağlarla ilgili daha ayrıntılı çalışmaların yapılmasını beraberinde getirmiştir. Esansiyel yağların etkilerinin ne kadar süreceği ve stabilitesinin irdelenmesi gerekmektedir.

Çalışmada baharatlar veya esansiyel yağları çok farklı kullanım amaçlarına hitap edebilen bir üründür. Gıda maddelerinin kalitesini arttırmak, görünümünü zenginleştirmek, raf ömrünü uzatmak gibi amaçlarla kullanılabilir. Ülkemiz bazı baharatın üretimi ve ihracatı açısından önemli bir potansiyele sahiptir. Bu potansiyel baharat kullanım alanlarını çeşitlendirerek üretimini arttırmak, üretim ve ambalajlama teknolojisini geliştirerek daha kaliteli, hijyenik açıdan uygun ürün elde etmesini sağlamak suretiyle daha da geliştirilebilir. Baharatın antimikrobiyal ve antifungal özellikleri üzerine yapılan çalışmaların artması bu potansiyele önemli katkılar sağlayacaktır.

Esansiyel yağların ilk üç haftada etkili olmasının en belirgin sebebinin seçilen esansiyel yağ konsantrasyonunun denk seçilmiş olduğu söylenebilir. Bu durum gerek potasyum sorbatın etkisi ile diğer bitkisel esansiyel yağların etkilerinin denliğini göstermektedir. Bu bağlamda potasyum sorbatın endüstride kullanım yerlerine hem doğal olması ve hemde etkisinin yeterli derecede olması nedeni ile alternatif olarak kullanılması tavsiye edilmektedir.

## 6. KAYNAKLAR

- Abu-Shanab B, Adwan G, Abu-Safiya D, ve Adwan K, 2004. Antibacterial activities of some plant extracts utilized in popular medicine in *Palestine*. Turk J Biol 28. 99–102, 2004.
- Abu-Shanab B, Adwan G, Abu-Safiya D, ve Adwan K, 2006. Antibacterial Effects of Nutraceutical Plants Growing in Palestine on *Pseudomonas aeruginosa*. Turk J Biol 30. 239–242
- Afnor 1988. Contrôle de la qualité des produits alimentaires. Épices et aromates. Recueil de normes françaises. 2a. Ed. 365 p. France.
- Afnor 1989. Huilles essentielles. Recueil de normes françaises. 3a. Ed. 609 p. France.
- Akgül A, 1993. Baharat Bilimi Ve Teknolojisi, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, No.15. Ankara.
- Akın M, 1996. Konya’da Doğal Olarak Yetişen Bazı Bitkilerde Esansiyel Yağ Miktarları Ve Esansiyel Yağların Antimikrobiyal Etkileri. Selçuk Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi,
- Aktuğ S. E, ve Karapınar M, 1988. Sensitivity of some common food poisoning bacteria to *thyme, mint and bay leaves*. Int.J.Food Microbiol, 3(6).349-354p
- Aldred D, Fuller V. C, ve Magan N, 2008. Environmental factors affect efficacy of some essential oils and resveratrol to control growth and ochratoxin a production by *Penicillium verrucosum* and *A. westerdijkiae* on wheat grain. Journal of Stored Products Research, Volume 44, Issue 4, 2008, Pages 341–346.
- Alippi M. A, Ringuet J. A, Cerimete E. L, Re M. S, ve Henning C. P, 2002. Antimicrobial Activity Of Some Essential Oils Against *Paenibacillus Larvae*, The Causal Agent Of American Foulbrood Disease, Journal Of Herbs,
- Al Howiriny T.A, 2003. Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Salvia lanigera*, 6 (2).133-135p.
- Anonymous 1976. The Merck Index. An Encyclopedia of Chemicals and Drugs, 9th ed, Merck Co, Rahway, NJ, p. 238-9, 1214p.
- Anonymous 1979. WHO. Environmental Health Criteria 11. Mycotoxins
- Anonymous 1980a. Microbial Ecology of Foods. Vol.1. Factors affecting Life and Death of Microorganisms (ICMSF) Academic Press New York. (Chapter 4) 70–91
- Anonymous 1980b. Microbial Ecology of foods. Vol.2 Food Commodities. (ICMSF) Academic Press New York.
- Anonymous 1985. TSE 4672 Aflatoksin Analizi

- Anonymous 1985a. ICMSF, An Evaluation of the Role of microbiological Criteria for food and food Protection, food and Nutrition Board, National Research Council. National Academic Press. Washington D.C. 436 p.
- Anonymous 1989. TSE 6580 Kf ve Maya Sayımı
- Anonymous 1990a. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists.
- Anonymous 1990b. WHO. Environmental Health Criteria 105. Selected Mycotoxins. Ochratoxins, Trichothecenes, Ergot
- Anonymous 1997. TSE 12294 Mikotoksin Analizi
- Anonymous 1999. TSE 3263 ISO 10523 İme Sularında pH Tayini
- Anonymous 2001a. TSE 1135 ISO 712 Tahıl ve Tahıl rnlerinde Nem Tayini
- Anonymous 2001b. TSE 7894 ISO 7218 Hayvan Yemlerinde Mikrobiyolojik Tayin Yöntemleri
- Anonymous 2002a. The Good Scents Company. Material Safety data sheet. *Thymol* stability and reactivity. Available at [www.my.execp.com/~goodscent/msds/md101476.html](http://www.my.execp.com/~goodscent/msds/md101476.html). Accessed on
- Anonymous 2002b. TSE ISO 14718 Hayvan Yemlerinde HPLC Yöntemi ile Aflatoksin Analizi
- Anonymous 2003. [www.bitkisel-tedavi.com](http://www.bitkisel-tedavi.com)
- Anonymous 2008. Mısır Tarımı ve Bölgedeki Mısır Tarımı Zincirine Genel Bir Bakış. Sakarya Tarımsan Araştırma Enstitüsü. [Http://www.Staem.Gov.Tr/Teknik.Htm](http://www.Staem.Gov.Tr/Teknik.Htm).
- Anonymous 2009a. AKSUVİTAL Doğal rnler ve Gıda San. Tic. A.ř.'nin Baharat Bitkilerinin Analiz Sertifikaları.
- Anonymous 2009b. Devlet İstatistik Enstitüsü verileri. Son 20 yılın verileri
- Anonymous 2009c. [www.doctordoga.com.tr](http://www.doctordoga.com.tr)
- Anonymous 2009d. GAMMA – PAK Sterilizasyon San. Ve Tic. A.ř.'nin Tahıl ve Baharat Bitkilerinin Analiz Sonuçları
- Anonymous 2009e. [www.herbalistatabay.com](http://www.herbalistatabay.com)
- Anssen A. M, Scheffer J. J, ve Baerheim S. A, 1987. *Planta Ned*, 53, 395-398s.
- Aslan N, 2005. Kekik Tarımı ve Kullanım Alanları, Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Lisans Bitirme Tezi.

- Aureli P, Costantini A. ve Zolea S, 1992. Antimicrobial Activity Of Some Essential Oils *Against paeni B. larvae* The Casual Agent Of American Foulbrood Disease. *Journal Of Food Protection*, Vol, 55, 344-348.
- Azaz A.D, Irtem H. A, Kurtçuoğlu M, ve Başer K. H. C, 2003. Composition and the in vitro Antimicrobial Activities of the Essential Oils of some *Thymus Species*. *Z. Naturforsch.* 59 c; received April 22/June 18, 2003.
- Bağcı E, ve Dığrak M, 1996. Antimicrobial activity of essential oils of some *Abies (Fir) species* from Turkey. *Flav. Frag. J*, 11.251-256p
- Bammi J, Khelifa R, ve Remmal A, 1997. Etudes de l'activite antivirale de quelques huiles essentielles, In Proceedings of the intern, Congr. Arom. Medicinal Plants & Essential Oils, Benjilali B, Ettalibi M, İsmaili-Alaoui M, Zrira S (eds), Actes Editions, Rabat, Morocco, 502p.
- Bakshu L. M, ve Venkata R. R, 2002. Essential Oil Composition And Antimicrobial Activity Of *Tuberous Roots Of Pimpinella Tirupatiensis* Bal.&Subr, An Endemic Taxon From Eastern Ghats, İndia, *Flavour And Fragrance Journal* 17, 413-415.
- Baranowska M. K, Mardarowicz M, Wiwart M, Pobłocka L, ve Dynowska M, 2002. Antifungal Activity of the Essential Oils from Some Species of the Genus *Pinus*. *Z. Naturforsch.* 57 c, 478-482 (2002); received January 29/March 5, 2002
- Barata M. T, Dorman H. J. D, Deans, S. G, Figueiredo A. C, Barroso, J. G. ve Ruberto G, 1998. Antimicrobial and Antioxidant properties of Some Commercial Essential Oils. *Flavour And Fragrance Journal*. Vol, 13, 235-244.
- Basim H, Yegen O, ve Zeller W, 2000. Antibacterial Effect Of Essential Oil Of *Thymbra Spicata* L. *Var. Spicata* On Soma Plant Pathogenic Bacteria, *J. Plant Dis. Prot.*3, 279-284.
- Bauer J. D, 1982. *Clinical Laboratory Methods*, C.V. Mosby Company. London,
- Baydar H, Sağdıç, O, Özkan G, ve Karadoğan T, 2003. Antibacterial Activity And Composition Of Essential Oils From *Origanum, Thymbra And Satureja Species* With Commercial Importance İn Turkey. *Food Control*, Vol,
- Bayram E, 2004. E.Ü. Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Ege Üniversitesi Tarımsal Araştırma ve Uygulama Merkezi Teknik Bülten
- Baytop A, 1991. *Farmasötik Botanik*. İstanbul Ün. Eczacılık Fakültesi Ders Kitabı / İstanbul.
- Baytop T. ve Başer K. H. C, 1995. On Essential Oils and Aromatic Waters Used as Medicine in İstanbul Between 17 th. and 19 th. Centuries-Başer, K.H.C, (ed.). *Flavours Fragrances and Essential Oils-Proceedings of the 13 th. International Congress of Flavours, Fragrances and Essential Oils, (15-19 October 1995) İstanbul*.
- Baytop T, 1984. Türkiye'de Bitkiler İle Tedavi. İ. Ü. Ecz. Fakültesi Y. No.40, İstanbul, 520s.

- Baytop T, 1999. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi, Geçmişte ve Bugün, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi İstanbul 550s.
- Belletti N, Ndagijimana M, Sisto C, Guerzoni M. E, Lanciotti R, ve Gardini F, 2004. Evaluation Of The Antimicrobial Activity Of *Citrus Essences On Saccharomyces Cerevisiae*, Journal Agric. Food Chem. 52, 6932-6938.
- Benli M, ve Yiğit N, 2005. Ülkemizde Yaygın Kullanımı Olan Kekik (*Thymus vulgaris*) Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesi. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi C 03 S 08.1-8s.
- Bilgehan H, 1989. Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi, Barış Yayınları. İzmir.
- Bennett C. A, ve Franklin N. L, 1963. Statistikal Analysis in Chemistry and Chemical Industry. New York John Wiley & Sons, Inc. London
- Bisht G. S, Awasthi A. K, ve Dhole T. N, 2006. Antimicrobial Activity Of *Hedycium Spicatum*, Fitoterapia 77 , 240-242.
- Boyraz N, ve Koçak R, 2006. Bazı Bitki Ekstraktlarının In Vitro Antifungal Etkileri Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 20 (38). 82-87s
- Boyraz N, ve Özcan M, 1997. Bitki Patojeni Funguslara Bazı Yerli Baharat Ekstrakt ve Uçucu Yağlarının Antifungal Etkileri. Gıda, 22(6). 457-462s.
- Boyraz N, ve Özcan M, 2006. Inhibition of phytopathogenic fungi by essential oil, hydrosol, ground material and extract of summer savor (*Satureja hortensis L.*) growing wild in Turkey. International Journal of Food Microbiology (In Pres).
- Brul S. ve Coote P, 1999. Preservative Agents İn Foods Mode Of Action And Microbial Resistance Mechanisms. International Journal Of Food Microbiology. Vol, 50, 1-17.
- Bluma R. V, ve Etcheverry M.G, 2007. Application Of Essential Oils İn Maize Grain. Impact On Aspergillus Section Flavi Growth Parameters And Aflatoxin Accumulation. Food Microbiology 25 (2008) 324-334
- Caccioni D. R. L, Guizzardi M, Biondi D. M, ve Renda, G. R, 1998. Relationship Between Volatile Components Of *Citrus* Fruit Essential Oils And Antimicrobial Action On *Penicillium Digitatum* And *Penicillium İtalicum*. Internatioanal Jornal Of Food Microbiology, Vol. 43, 73–79.
- Canillac N, ve Mourey, A, 2001. Antibacterial Activity Of The Essential Oil Of *Picea Excelsa* On *Listeria*, *Staphylococcus aureus* And *Coliform Bacteria*. Food Microbiology, Vol, 18, 261-268.
- Carvalho A, Melo V, Craveiro A, Machado M, Bantim M, Rabelo E, 2003. Larvicidal Activity of the Essential Oil from *Lippia sidoides* Cham. against *Aedes aegypti* Linn. Brasil Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 98(4). 569-571p,
- Cengiz Y, 1979. Ormancılık Araştırma Enstitüsü Yayınları Teknik Raporlar Serisi No 5



- Ceylan A, 1987. Tıbbi Bitkiler 2 (Uçucu Yağ İçerenler), Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, 481.188, İzmir.
- Chaibi A, Ababouch, L. H, Belasri K, Boucetta, S, ve Busta, F. F, 1997. Inhibition Of Germination And Vegetative Growth Of *Bacillus Cereus* T And *Clostridium botulinum* 62a Spores By Essential Oils. Food Microbiology, Vol. 14, 161–174.
- Chang S. T, Chen P. F. ve Chang S. C, 2001. Antibacterial Activity Of Leaf Essential Oils And Their Constituents From *Cinnamomum Osmophloeum*. Journal Of Ethnopharmacology. Vol, 77, 123-127.
- Collins C. H, Lyne P. M, ve Grange J. M, 1989. Microbiological Methods. Butterworths, London,
- Conner D. E, 1993. Naturally Occurring Compounds. In. Davidson P. M. (Ed.), Antimicrobials In Foods. Marcel Dekker, New York, Pp. 441–468.
- Conner D. E, Beuchat L. R, Worthington R. E. ve Hitchcock, H. L, 1984. Effects of Essential Oils And *Oleoresins* Of Plants On Ethanol Production, Respiration And Sporulation Of Yeasts. International Journal Of Food Microbiology, Vol.1, No.2, 63-74.
- Cowan M. M, 1999a. Plant Products as Antimicrobial Agents. Clinical Microbiology Reviews, Oct. 1999, p. 564 – 582. Department of Microbiology, Miami University, Oxford, Ohio 45056
- Cowan M. M, 1999b. Clinical Microbiol. Review, 12, 564-582s.
- Çakır C, ve Yeğen O, 1991. Antalya ve Çevresindeki Bazı Bitkilerin ve Uçucu Yağlarının Fungitoksik Potansiyellerinin araştırılması. VI. Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildirileri, 213-218s.
- Çelik E, ve Çelik G. Y. 2007. Bitki Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Özellikleri. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi. Yıl. 2007 Cilt. 05 Sayı. 2 Sayfa. 1-6.
- Dağcı E, K, ve Dığrak M, 2002. Kahramanmaraş İlinde Yetişen Bazı Ağaç Türlerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması, KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi 5 (1)
- Dağcı E. K, ve Dığrak M, 2005. Bazı Meyve Ekstraktlarının Antibakteriyel ve Antifungal Aktiviteleri KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi, 8(2)
- Deans S. G, ve Ritchie G, 1987. Antibacterial properties of plant essential oils. Int.J.Food Microbiol, 5(2).165-180p
- Deans S. G. ve Dorman. H. J. D, 2000. Antimicrobial Agents From Plants. Antibacterial Activity of Plant Volatile Oils, J. Appl. Microbiol, 88, 308- 316.
- Deena M. J, ve Thoppil, J. E, 2000. Antimicrobial Activity Of The Essential Oil Of *Lantana Camara*, Fitoterapia 71, 453-455.

- Delaquis P. J, Stanich K, Girard B, ve Mazza G. 2001. Antimicrobial Activity Of Individual And Mixed Fractions Of Dill, Cilantro. *Coriander And Eucalyptus* Essential Oils, International Journal Of Food Microbiology 2377,
- Demirci F, Baser K. H. C, Calis, I, ve Gökhan E, 2001. Essential Oil And Antimicrobial Evaluation Of The *Pistacia Eurycarpa*. Chemistry Of Natural Compounds, Vol, 37, No. 4, 332-335.
- Dokuzlu C, 2000. Gıda Analizleri. Marmara Kitap Evi. Bursa
- Dorman H. J. D. ve Deans S.G, 2000. Antimicrobial agents from plants antibacterial activitiy of plant volatile oils, J. App. Microb, 88, 308-316s.
- Dülger B, Ceylan M, Alitsaous M, ve Uğurlu E, 1999. *Artemisia absinthium L. (Pelin)*'un Antimikrobiyal Aktivitesi. Tr. J. Biol 23.377-384s / TÜBİTAK
- Ehrich J, Bauermann,U, ve Thomann, R, 1995. Antimicrobial effect of CO<sub>2</sub> spice extracts from summer savory to cinnamon. Lebensmitteltechnik, 27(11).51-53p
- Elof J. N, 1998a. Planta Medicine, 64, 711-713s.
- Eloff J. N, 1998b. Which Extractant should be used for the Screening and İsolation of Antimicrobial Components from Plants, J. Ethnopharmacol, 60, 1-8.
- El-Sakhawy F. S, El-Tantawy M. E, Ross S. A, ve El-Sohly M. A, 1998. Composition And Antimicrobial Activity Of The Essential Oil Of *Murraya Exotica L*, Flavour And Fragrance Journal, Vol.13. 59-62.
- El-Shazly A, Dorai G, ve Wink M, 2002. Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil and Hexane-Ether Extract of *Tanacetum santolinoides*, (DC.) Feinbr. And Fertig, (2002), 620-623p.
- Ertürk Ö, ve Demirbağ Z, 2003. *Scorzonare mollis Bieb (Compositae)* Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesi, ÇEV-KOR, 12, 47, 27-31s.
- Farag R. S, Daw Z.Y, Hewedi F.M, ve EL-Baroty G.S.A, 1989. Antimicrobial activity of some *Egyptian spice* essential oils. J.Food Protect, 52(9).665-667p
- Floridata 1996. *Laurus nobilis*. www.floridata.com/ref/L/laur-nob.cfm
- Foulds J, 1995. Dyeing and Printing. Intermediate Technology Publication. UK. P.4
- Habsah M, Amran M, Mackeen M. M, Lajis N. H, Kikuzaki H, Nakatani N, Rahman, A. A, ve Ghafar Ali A. M, 2000. Screening Of *Zingiberaceae Extracts* For Antimicrobial And Antioxidant Activities, Journal Of Ethnopharmacology 72, 403-410.
- Halkman A. K, 2007. Merck Gıda Mikrobiyoloji Uygulamaları. Ankara 2005 / rev 01.
- Hammer K. A, Carson C.F, ve Riley T. V, 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts, Journal of Applied Microbiology 86, 985-990.

- Haznederoğlu M. Z, Karabay N. U, ve Zeybek U, 2001. Antibacterial Activity Of *Salvia Tomentosa* Essential Oil. *Fitoterapia*, Vol, 72, 829-831.
- Hulin V, Mathot A. G, Mafart P, ve Dufosse L, 1998. Les Proprietes Antimicrobiennesdes *Huiles Essentielles et Composes D'aromes* Sci. Aliments, 18, 563-582s.
- İlhan S, Savaroğlu F, ve Çolak F, 2007. Antibacterial and Antifungal Activity of *Corchorus olitorius L. (Molokhia)* Extracts. *International Journal of Natural and Engineering Sciences* 1 (3). 59–61,
- İşcan G, Demirci F, Krimer N, Kürkçüoğlu M, ve Başer K. H. C, 2001. Antibacterial And Antifungal Effects Of Various Plant Extracts, *Pharm. Biol.* 37, 216- 220.
- Jantova S, Nagy M, Ruzekova L, ve Grancai D, 2000. Antibacterial Activity Of Plant Extracts From The Families *Fabaceae, Oleaceae, Philadelphaceae, Rosaceae And Staphyleaceae*, *Pytotherapy Research* 14, 601-603.
- Juteau F, Masotti M, Bessiere J. M, Dherbomez M, ve Viano J, 2002. Antibacterial And Antioxidant Activities Of *Artemisia Annuna* Essential Oil, *Fitoterapia* 73, 532-535.
- Juven B. J, Kanner J, Schved, F. ve Weisslowicz, H, 1994. Factors That Interact With The Antibacterial Action Of *Thyme* Essential Oil And Its Active Contituents. *J. Appl. Bacteriol.* Vol, 76, 626-631.
- Kalembe D, Kusewicz D, ve Swiader K, 2002. Antimicrobial Properties Of The Essential Oil Of *Artemisia Asiatica Nakai*, *Phytotherapy Research* 16, 288-291.
- Karaman S, Diğrak M, Ravid U, ve Ilcim A, 2001. Antibacterial And Antifungal Activity Of The Essential Oils Of *Thymus Revolutus Celak* From Turkey, *Journal Of Ethonopharmacology* 76, 183-186.
- Karanika M. S, Komaitis, M. ve Aggelis, G, 2001. Effect Of Aqueous Extracts Of Some Plants of Lamiaceae Family On The Growth Of *Yarrowia Lipolytica*. *Int. Journal Of Food Mic*, Vol, 64, 175-181.
- Keleş O, Ak S, Bakirel T, ve Alpınar K, 2001. Türkiye’de Yetişen Bazı Bitkilerin Antibakteriyel Etkisinin İncelenmesi. *Turk J Vet Anim Sci* 25. 559-565s. TÜBİTAK
- 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
- Kıvanç M. ve Akgül A, 1986. Antibacterial Activities of Essential Oils from Turkish Spices and *Citrus*, *Flavour and Fragrance Journal*, 1.175-179s.
- Knobloch K, Weis N, ve Weigand H, 1986. Mechanizm Of Antimicrobial Activity Of Essential Oils. *Planta Medica*, Vol, 52, 556.

- Koneman E. W, Allen S. D, Janda W. M, Schreckenberger P. C, ve Winn W. C, 1997. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, Lippincott-Raven Pub, Philadelphia, USA, pp 785-856s.
- Koutsoumanis K, Lambropoulou K, ve Nychas G. J. 1999. *Escherichia* A Predictive Model For The Non-Thermal Inactivation Of *Salmonella Enteritidis* in a Food Model System Supplemented With Natural Antimicrobial. International Journal Of Food Microbiology. Vol, 49, 63–74.
- Kubeczka K. H, 1979. Vorkommen und Analytik Atherischeröle, Georg, Thieme Verlag, Stutgrat,
- Kujungiev A, Tsvetkova I, Serkedjieva Y, Bankova V, Christov R, ve Popov S, 1999. Antibacterial Antifungal And Antiviral Activity Of Propolis Of Different Geographic Origin. Journal Of Ethnopharmacology, Vol, 64, 235-240.
- Lambert R. J, Skandamis Proteus N, Coote Proteus J, ve Nychas, G. J, 2001. A Study Of The Minimum Inhibitory Concentration and Mode of Action of *Oregano* Essential Oil, Thymol And Carvacrol. Journal of Applied Microbiology. Vol, 91, 453-462.
- Larhsini M, Oumoulid L, Lazrek H. B, Wataleb S, Bousaid M, Bekkouche K, ve Jana M, 2001. Antibacterial Activity Of Some *Moroccan* Medicinal Plants, Phytotherapy 15, 250-252.
- Laurel 1998. www.ang.kfunigraz.ac.at (*Laurus nobilis*)
- Lawrance R. N, 1999. Rediscovering Natural Product Biodiversity. Drug Discovery Today, Vol, 4, 449-451.
- Leal-Cardoso J.H. ve Fonteles M.C, 1999. Pharmacological Effect of Essential Oils of Plants of the Northeast of Brazil. Acad Bras Cienc, 71 (2). 207-13s.
- Maksimovic Z. A, Dordevic S, ve Miraovic M, 2005. Antimicrobial Activity *Chenopodium Botrys* Essential Oil. Fitoterapia 76, 112-114.
- Mangena T, ve Muyima N. Y. O, 1999. Comparative Evaluation Of The Antimicrobial Activities Of Essential Oils Of *Artemisia Afra*, *Pteronia Incana* And *Rosmarinus Officinalis* On Selected Bacteria And Yeast Strains, Letters In Applied Microbiology 28, 291-296.
- Manou I, Bouillard L, Devleseschouwer M. J, ve Barel A. O, 1998. Evaluation Of The Preservative Properties Of *Thymus Vulgaris* Essential Oil In Topically Applied Formulations Under A Challenge Test, Journal Of Applied Microbiology 84, 368- 376.
- Marino M, Bersani C, ve Comi G, 2001. Impedance Measurements To Study The Antimicrobial Activity Of Essential Oils From *Lamiaceae* And *Copositae*. International Journal Of Food Microbiology, Vol, 67, 187-195.
- Mehrabian.S, ve Majd I, 2000. Antimicrobial Effects Of Three Plants On Some Airbone Microorganisms, Aerobiologia, 16, 455-458.

- Mendivil E. S, Rodríguez J, M, Espinosa M. S, Fajardo J. G, ve Vázquez E. O, 2006. Chemical Composition And Fungicidal Activity Of The Essential Oil Of *Thymus Vulgaris* Against *Alternaria Citri*. e-Gnosis, año /vol. 4 Universidad de Guadalajara Guadalajara, México
- Mouhssen L, 2004. Methods to Study the Phytochemistry and Bioactivity of Essential oils. *Phytother. Res.* (2004) 18, 435–448.
- Nakipoğlu M, ve Otan H, 1992. Tıbbi Bitkilerin Flavonitleri, Anadolu, JOAARI, 4 (1), 70-93s.
- NCCLS, 1993. Performance Standards for Antimicrobial Disc Susceptibility Tests. Approved Standard NCCLS Publication M2-A5, Villanova PA, USA,
- Ngassouma M. B, Essia-Ngang J. J, Tatsadjieu L. N, Jirovetz L, Buchbauer G, ve Adjoudja O, 2003. Antimicrobial Study Of Oils Of *Ocimum Gratissimum* Leaves And *Zantoxylum Xanthoxyloides* Fruits From Cameroon, *Fitoterapia* 74, 284-287.
- Ngono Ngane A, Biyiti L, Bouchet Ph, Nkengfack A, ve Amvam Zollo, P. H, 2003. Antifungal Activity Of *Piper Guineense* Of Cameroon, *Fitoterapia* 74, 464-468.
- Newbold P, 2000. İşletme ve İktisat için İstatistik. İstanbul Teknik Üniversitesi İşletme Fakültesi. Çeviren Ümit Şenesen.
- Nielson P. V, ve Rios R, 2000. Inhibition Of Fungal Growth On Bread By Volatile Components From Spices And Herbs, And The Possible Application In Active Packaging With Special Emphass on Mustard Essential Oil. *International Journal Of Food Microbiology*, Vol, 60, 219-229.
- Nostro A, Germano M.P, D'angelo V, Marino A. ve Cannatelli M.A, 2000. Extraction Methods and Bioautography for Evaluation of Medicinal Plant Antimicrobial Activity *Lett. Appl. Microbiol*, 30 (5), 79-84s
- Nostro A, Bisignano G, Cannatelli, M. A, Crisafi G, Germano M. P, ve Alonzo V, 2001. Effects Of *Helichrysum Italicum* Extract On Growth And Enzymatic Activity Of *Staphylococcus Aureus*. *International Journal Of Antimicrobial Agents* 17, 517-520.
- Novak J, Zitterl-Eglseer K, Deans S. G, ve Franz C. M, 2001. Essential Oils Of Different Cultivars Of *Cannabis Sativa L.* And Their Antimicrobial Activity. *Flavour And Fragrance Journal*, Vol, 16, 259-262.
- Nychas G. J. E, 1995. Natural Antimicrobials From Plants, In G. W. Gould, *New Methods of Food Preservation* (58-89) London. Blackie Academic Professional.
- Ojala T, Remes S, Haansuu P, Vuorela H, Hiltunen R, Haahtela K. ve Vuorela P, 2000. Antimicrobial Activity of Some Coumarin Containing Herbal Plants Growing In Finland. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol, 73, 299-305.
- Oumzil H, Ghouami S, Rhajaoui M, Idrissi A, Tetouani F, Faid M, ve Benjouad A, 2002. Antibacterial And Antifungal Activity Of Essential Oils Of *Mentha Suaveolens*, *Phytotherapy* 16, 727-731.

- Ölmez F. N, 2004. Farklı Kaynatma Sürelerinde Defneden (*Laurus nobilis L.*) Elde Edilen Renkler ve Bazı Haslık Değerleri Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi (J. Agric. Sci.), 14 (1). 35-40s
- Özay G, 1988. Gıdalarda mikotoksinlerin detoksifikasyonu. Gıda.13 (2).137–141.
- Özay G, ve Yılmaz A, 2000. Gıda ve Yemlerde Mikotoksinlerin Detoksifikasyonu. TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi, Gıda Bilimi ve Teknolojisi Araştırma Enstitüsü, Gebze,
- Özcan M, ve Erkmen O, 2001. Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Turkish Plant Spices, Eur Food Res Technol, 212, 658-660s.
- Özcan S, Toprak G, Torun C, ve Vural C, 2008. *Thymus sipyleus Boiss subsp. rosulans (Borbis) J. Jalas*'in Organik Ekstrakt ve Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Aktivitesi Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi 1 (2). 17-22p.
- Pandit V. A, ve Shelef L. A, 1994. Sensitivity Of *Listeria Monocytogenes* To Rosemary (*Rosmarinus Officinalis*). Food Microbiology, Vol, 37, 155-162.
- Perez C, Agnese A. M. ve Cabrera J. L, 1998. The Essential Oil Of *Senecio Graveolens (Compositae)* Chemical Composition And Antimicrobial Activity Tests. Journal Of Ethnopharmacology, Vol.66, 91-96.
- Periago P. M, ve Moezelaar R, 2001. Combined Effect of Nisin And Carvacrol At Different Ph And Temperature Levels on The Viability Of Different Strains of *B. Cereus*. Internatioanal Journal of Food Microbiology. Vol, 68, 141-148.
- Pichhardt K, 2004. Gıda Mikrobiyolojisi. Gıda Endüstrisi için Temel Esaslar ve Uygulamaları. Çevirenler Prof. Dr. Yılmaz Sekin, Yrd. Doç. Dr. Nural Karagözlü.
- Pitt, I, ve Hocking A. D, 1985. Fungi and Food Spoilage. Acedemic Press. Inc. Ltd. London
- Pinto E, Vaz C. P, Salgueiro L, Gonçaves M. J, Oliveira S. C, Cavaleiro C, Palmeira A, Rodrigues A, ve Oliveira J. M, 2006. Antifungal activity of the essential oil of *Thymus pulegioides* on *Candida*, *Aspergillus* and *dermatophyte species*. J Med Microbiol 55 (2006), 1367–1373; DOI. 10.1099/jmm.0.46443–0
- Politeo O, Juki M, ve Milo M, 2007. Chemical Composition And Antioxidant Activity Of Free Volatile Aglycones From *Laurel (Laurus Nobilis L.)* Compared To Its Essential Oil. Croatica Chemica Acta.
- Pomeranz Y, ve Meloan C. E, 1987. Food Analysis. Theory and Practice. Washington State University. Department of food Science and Human Nutrition. 2 ed. Washington.
- Prabuseenivasan S, Jayakumar M, ve Ignacimuthu S, 2006. In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. BMC Complementary and Alternative Medicine
- Press J. B, 1996. Biodiversity Exciting Prospects For Drug Discovery And Development. Meeting Report of The Monroe Wall Symposium. Chemractsorganic Chemistry. Vol, 9, 286-298.

- Quiroga E. M, Sampietro A. R, ve Vattuone M. A, 2001. Screening Antifungal Activities Of Selected Medicinal Plants, *Journal Of Ethnopharmacology* 74, 89-96.
- Rahman A, Choudhary M. I, Farooq A, Ahmed A, Iqbal, M.Z, Demirci, B, ve Demirci, F, ve Baser K. H. C, 1999. Antifungal Activities And Essential Oil Constituents Of Some Spices From Pakistan, Third International Electronic Conference On Synthetic Organic Chemistry (Ecsoc-3), 1-7.
- Ramanoelina A. R, Terrom G. P, Bianchini, J. P, ve Coulanges, P, 1987. Antibacterial Action Of Essential Oils Extracted From Madagascar Plants. *Archives De L'institut Pasteur De Madagascar*. Vol, 53, 217-226.
- Rasooli I, Rezaei M. B, ve Allameh A, 2004. Growth Inhibition And Morphological Alterations Of *Aspergillus niger* By Essential Oils From *Thymus Eriocalyx* And *Thymus X-Porlock*. *Food Control* 17, 359-364.
- Rasooli I, Rezaei M. B, ve Allameh A, 2006. Ultrastructural Studies On Antimicrobial Efficacy Of *Thyme* Essential Oils On *Listeria Monocytogenes*, *International Journal Of Infectious Diseases* 10, 236-241.
- Rizi M. V, 2008. Phenological Variation Of *Laurus Nobilis* L. Essential Oil From Iran. *Electronic Journal of Environmental, Agriculture and Food Chemistry* 7 (11 ),
- Samy R. P, ve Gopalakrishnakone P, 2008. Therapeutic Potential of Plants as Anti-microbials for Drug Discovery. *Venom and Toxin Research Programme, Department of Anatomy, Yong Loo Lin School of Medicine, National University of Singapore, Singapore - 117597*
- Sartoratta A, Machado A. L, Delarmelina C, Figueria G. M, Duarte M.C.T, ve Rehder V. L. G, 2004. Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils from Aromatic Plants Used in Brazil, 35. 275-280p.
- Sartoratto A, Machado A. L, Delarmelina C, Figueira G. M, ve Duarte M. D, 2004. Composition And Antimicrobial Activity Of Essential Oils From Aromatic Plants Used In Brazil.
- Saxena V. K, ve Sharma R. N. 1999. Antimicrobial Activity Of The Essential Oil Of *Lantana Aculeata*. *Fitoterapia*, Vol, 70, 67-70.
- Schmitz S, Weidenboerner M, ve Kunz B, 1993. Herbs and spices as selective inhibitors of mould growth. *Chemie Mikrobiologie Technologie der Lebensmittel*, 15 (5/6).175-177
- Schwob I, Bessiere J. M, Dhermomez M, ve Viano J, 2002. Composition And Antimicrobial Activity Of The Essential Oil Of *Hypericum Coris*, *Fitoterapia* 73, 511-513.
- Singh G, Kapoor I. P. S, Pandey S. K, Singh U. K, ve Singh R. K, 2002. Studies On Essential Oils. Part 10. Antibacterial Activity Of Volatile Oils Of Some Spices, *Phytoterapy* 16, 680-682.

- Skandamis P. N, ve Nychas G. J. E, 2000. Development And Evaluation Of A Model Predicting The Survival Of E. coli O157-H7 Nctc 12900 İn Homemade Eggplant Salad At Various Temperatures, Ph And *Oregano* Essential Oil Concentrations. Appl. Environ. Microbio, Vol, 66, 1646-1653.
- Smith – Palmer A, Stewart J, ve Fyfe, L, 1998. Antimicrobial Properties Of Plant Essential Oils And Essences Against Five Important Food Boorne Pathogens. Letters İn Applied Microbiology, Vol, 26, 118-122.
- Stange R, Midland S. L, Sims J. J, ve Mccollum T. G, 2002. Differential Effects Of *Citrus Peel* Extracts On Growth Of *Penicillium Digitatum*, *Penicillium İtalicum* And *Penicillium Expansum*, Physiological And Molecular Palnt Pathology, 61,303- 311.
- Soylu E. M, Tok F. M, Soylu S, Kaya D, ve Evrendilek G. A, 2005. Antifungal Activities of the Essential Oils on Post-harvest Disease Agent *Penicillium digitatum* Pakistan Journal of Biological Sciences 8 (1). 25-29, 2005
- Sümbüllüoğlu K. ve Sümbüllüoğlu V, 1997. Biyoistatistik. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi ders kitabı.
- Süzer S, 2007. Ayçiçeği – Buğday Ekim Nöbeti Sisteminde Farklı Toprak İşleme Yöntemlerinin Buğday Verimine Etkisi. 25–27 Haziran 2007 VII. Tarla Bitkileri Kongresi, Erzurum.
- Şafak İ, ve Okan T, 2004. Kekik, Defne ve Çam Fıstığının Üretimi ve Pazarlanması. Doğu Akteniz Ormancılık Araştırma Müdürlüğü. DOA Dergisi (Journal of DOA) Sayı 10, S.101-129.
- Şahin F, Güllüce M, Daferera D, Sökmen A, Sökmen M, Polissiou M, Ağar G, ve Özer H, 2004. Biological Activities Of The Essential Oils And Methanol Extract Of *Origanum Vulgare Ssp. Vulgare* İn The Eastern Anatolia Region Of Turkey. Food Control, Vol. 15, 549-557.
- Şarer E, 1991. Uçucu Yağların Biyolojik Etkileri ve Tedavide Kullanımları, 9. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler Kitapçığı, Eskişehir
- Tanker M, Tanker N, Şarer E, Atasu E, Şener B, Kurucu S, ve Meriçli F,1990. Result of Certain Investigation on the Volatile Oil Centaining Plants of Turkey, Essential Oils for Perfumery and Flavours, Preceedings of an İnternational Conference, 26-30 ve 16-29 Antalya.
- Tassou C, Kautsoumanis K. ve Nychas G. J. E, 2000. İnhibition of *Salmonella Enteritidis* and *Staphylococcus aureus* İn Nutrient Broth By Mint Essential Oil. Food Research International. Vol, 33, 273-280.
- Temiz A, 2000. Genel Mirobiyoloji Uygulama Teknikleri. Hatipoğlu Yayınevi no 96. Ankara.
- Thanaboripat D, Suvathi Y, Srilohasin P, Sripakdee S, Patthanawanitchai O, ve Charoensettasilp S, 2007. İnhibitory Effect Of Essential Oils On The Growth Of *Aspergillus flavus*. Kmitl Sci. Tech. J. Vol. 7 No. 1 Jan. - Jun. 2007



- Topal Ş, 1988. Çeşitli gofret, şekerleme, bisküvi, kraker ve benzeri ürünlerde küf florası ve risk durumlarının incelenmesi. 6. Diyabet ve Endokronoloji Yıllığı, Emek Matbaacılık, İstanbul, s. 226–238
- Topal Ş, 1996. Gıda Güvenliği ve Kalite Yöntemi Sistemleri, Kocaeli Tübitak Marmara Araştırma Merkezi Gıda ve Soğutma Teknolojisi Bölümü.
- Toroğlu S, Dığrak M, ve Kocabaş Y. Z, 2005. Çay Veya Baharat Olarak Tüketilen *Teucrium polium L.*, *Thymbra spicata L. var. spicata*, *Ocimum basilicum L.* ve *Foeniculum vulgare* Miller'in Uçucu Yağlarının In-Vitro Antimikrobiyal Aktivitesi ve Bazı Antibiyotiklerle Etkileşimleri KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi, 8(2)
- Toroğlu S, Dığrak M, ve Çenet M, 2006. Baharat Olarak Tüketilen *Laurus nobilis Linn* ve *Zingiber officinale Roscoe* Bitki Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri ve Antibiyotiklere İn-Vitro Etkilerinin Belirlenmesi. KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi, 9(1)
- Tunçel G, 1993. Kampüs mutfaklarındaki potansiyel bulaşma kaynakları üzerine bir araştırma. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Çoğaltma Yayın No.95. Bornova.
- Türküsay H, ve Onoğur E, 1998. Bazı Bitki Ekstraktlarının In Vitro Antifungal Etkileri Üzerine Araştırmalar Tr. J. of Agriculture and Forestry 22 (1998) 267-271s. / TÜBİTAK
- Uçan F, 2008. DL-Limonenin Mayalar Üzerine Antifungal Etkisi Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. Adana.
- Ultee A. ve Smid, E. J, 2001. Influence of Carvacrol on Growth And Toxin Production By *B. Cereus*. International Journal of Food Microbiology. Vol, 64, 373-378.
- Ultee A, Gorris L. M. G, ve Smid E. J, 1998. Bactericidal Activity of Carvacrol Towards The Food Borne Pathogen *B. Cereus*. Journal Of Applied Microbiology. Vol, 85, 211-218.
- Uzel A, Güvensen A, ve Çetin E, 2004. Chemical Composition And Antimicrobial Activity Of The Essential Oils Of *Anthemis Xylopoda O. schwarz* From Turkey, Journal Of Ethnopharmacology 95, 151-154.
- Üner Y, Aksu H. ve Ergün Ö, 2000. Baharatın Çeşitli Mikroorganizmalar Üzerine Etkileri, İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi VETFAK dergi,
- Ünlütürk A, ve Turantaş F, 1996a. Gıda Mikrobiyoloji Uygulamaları. Ege Üniversitesi. İzmir.
- Ünlütürk A, ve Turantaş F, 1996b. Gıda Mikrobiyoloji. Ege Üniversitesi. İzmir.
- Verastegui M.A, Sanchez C.A, Heredia N.L. ve Garcia-Alvarado J.S, 1996. Antimicrobial Activity of Extracts Three Major Plants from the Chihuahuan Desert, J. Ethnopharmacol, 52, 175-177.
- Yıldırım A, Mavi A, ve Kara A. A, 2003. Antioxidant And Antimicrobial Activities Of *Polygonum Cognatum Meissn* Extracts. Journal Of The Science Of Food And Agriculture, Vol, 83, 64-69.

- Yin M, ve Tsao S, 1999. Inhibitory Effect Of Seve *Allium Plants* Upon Three *Aspergillus*. International Journal Of Food Microbiology, Vol, 49, 49-56.
- Yonucu N, 1997. Bitki Ekstrakt ve Kompostlarının Çukurova Bölgesinde Sorun Olan Bazı Fungal Hastalıklara Karşı Antifungal Özelliklerinin Araştırılması, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. Adana.
- Yu J, Lei, J, Yu H, Cai, X, Zou G, 2004. Chemical Composition And Antimicrobial Activity Of The Essential Oil Of *Scutellaria Barbata*. Phytochemistry, Vol. 65, 881–884.

## ÖZGEÇMİŞ

1975 Ardahan doğumluyum. İlk, orta öğrenimimi Kocaeli’de, lise öğrenimimi İstanbul’da tamamladım. Lisede Kimya bölümünü okudum ve birincilikle tamamladım. 1992’de önlisans öğrenimime T.Ü. Tekirdağ Meslek Yüksekokulunda Fermente Ürünler bölümünde başladım ve 1994’te mezun oldum. Önlisans eğitimin esnasında SSK Göztepe Hastanesinde Mikrobiyoloji ve Biyokimya laboratuvarında eş zamanlı olarak çalıştım. Mezun olduktan sonra iş hayatıma Unlu mamüller A.Ş. (UNO Ekmek)’te devam ettim. UNO ekmekte çalışırken Lisans eğitimim için tekrar sınava girerek T.Ü. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümüne 1995’te başladım. Gerek okul hayatımda gerek iş hayatımı eş zamanlı olarak devam ettim. Sırası ile S Q MART Laboratuvarında, TEE Endüstrisinde ve Tekel Likör Fabrikasında çalıştım. Lisans eğitimimi 1999’da bitirdikten sonra Kar Gıda Fabrikasında Kalite Kontrol ve İşletme Şefi olarak işe başladım. 2000 yılında T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsünde Yüksek Lisans eğitimime başladım. 2003 yılında askerlik hizmetimi tamamladım. 2003’te Şölen Çikolata’da İşletme ve Kalite Güvence Müdürü olarak işe başladım. Kalite Yönetimi, İş geliştirmeye, ISO 9001, ISO 22000, BRC, IFS, ISO 17025, Baş Denetçi, Hijyen ve Sanitasyon uygulamaları, İyi lab. uygulamaları, İyi Üretim teknikleri, Verimlilik analizleri gibi konularında eğitimler verdim. 2006 yılında Elvan Çikolata’ya Şekerleme ve Çikolata Fabrikası kurmam istenerek yumuşak, sert şeker üretim tesisi ve nuga karamel bar üretim tesisi kurdum. Halen Elvan Çikolata’da İşletme ve Kalite Güvence Müdürü olarak görev yapmaktayım.