

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

OTLU PEYNİRE KATILAN ÖNEMLİ OT TÜRLERİNİN
ANTİMİKROBİYEL, ANTIOKSİDAN ETKİLERİ, AROMA
PROFİLİ VE BAZI KİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ

ŞAHİN DAĞDELEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

MALATYA
Ocak 2010

Tezin Başlığı: Otlı Peynıre Katılan nemli Ot Türlerinin Antimikrobiyel, Antioksidan Etkileri, Aroma Profili ve Bazı Kimyasal zelliklerinin Belirlenmesi

Tezi hazırlayan: şahin DAĞDELEN

Yukarıda adı geçen tez jürimizce değerlendirilerek Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda "Yüksek Lisans Tezi" olarak kabul edilmiştir.

Sınav Jürisi yeleri

Doç.Dr. İhsan KARABULUT (Danışman)

Doç.Dr. A.Adnan HAYALOĞLU

Yrd.Doç.Dr. Gökhan DURMAZ

Prof.Dr. Asım KÜNKÜL

Enstitü Müdürü

ONUR SÖZÜ

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum “Otlı Peynıre Katılan Önemli Ot Türlerinin Antimikrobiyel, Antioksidan Etkileri, Aroma Profili ve Bazı Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığını ve yararlandığım tüm kaynakların, hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Şahin DAĞDELEN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

OTLU PEYNİRE KATILAN ÖNEMLİ OT TÜRLERİNİN ANTİMİKROBİYEL, ANTIOKSİDAN ETKİLERİ, AROMA PROFİLİ VE BAZI KİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Şahin DAĞDELEN

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Bölümü

79 + xiii sayfa

2010

Danışman: Doç. Dr. İhsan KARABULUT

Yabani otlar; Van İli ve çevresinde geleneksel olarak üretilen Otlu peynire özellikle aroma sağlaması amacıyla, üretim aşamasında katılmaktadır. Bu çalışmada Otlu peynir üretiminde en çok kullanılan yabani otlardan Sirmo (*Allium schoenoprasum* L.), Mendi (*Anthriscus nemorosa* (Bieb.)), Siyabo (*Silene vulgaris* (Moench) Garcke var.), Yabani Nane (*Mentha spicata* L. subsp. *spicata*) ve Heliz (*Ferula orientalis* L. (Apiaceae) otlarının aroma bileşimi, antioksidan ve antimikrobiyel özellikleri ile bazı kimyasal özellikleri incelenmiştir.

Elde edilen bulgulara göre yabani otların kuru maddedeki kül içerikleri %11,22 (Mendi) ile %18,11 (Sirmo) arasında, besinsel lif içerikleri ise %11,89 (Heliz) ile %17,02 (Yabani Nane) arasında değişmektedir. Yabani otların yağ içerikleri %0,3'ün altında bulunmuş, doymamış yağ asitlerinin diğerlerine göre bileşimde daha fazla yer aldığı saptanmıştır. SPME-GC-MS tekniğiyle uçucu madde analizleri belirlenen otların oldukça geniş yelpazede farklı aroma bileşikleri içerdikleri saptanmıştır. Sirmo otunda 66, Mendi otunda 114, Siyabo otunda 105, Yabani Nane'de 104 ve Heliz otunda 69 adet bileşik belirlenmiştir.

Diğer analizler yabani otların uygun bir şekilde dondurularak kurutulması ile elde edilen tozlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yabani otların toplam karotenoid içerikleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılık saptanmıştır ($P<0,05$). En yüksek karotenoid içeriğine sahip olan otun Yabani Nane ($294,2 \mu\text{g } \beta\text{-karoten/g}$ kuru ot) olduğu görülmüştür. Yabani otlardan değişik çözücüler (su, metanol, etanol ve etil asetat) kullanılarak elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde ve antioksidan kapasiteleri belirlenmiştir. Fenolik maddeleri ekstrakte edebilirlik bakımından metanol en güçlü çözücü olarak belirlenmiş ve bu çözücüdeki en yüksek fenolik madde içeriğine

Heliz otunun (15,4 µg gallik asit/g dondurularak kurutulmuş ot) sahip olduğu saptanmıştır. Antioksidan aktivite DPPH ve ABTS radikal süpürme metotları kullanılarak belirlenmiştir. En yüksek DPPH radikal süpürme gücü yabani otların metanol ekstraktlarında gözlenmiştir. DPPH testi sonuçlarına göre antioksidan kapasite bakımından yabani otlar tüm çözücüler bazında yüksek kapasiteden düşük kapasiteye doğru Heliz, Mendi, Yabani Nane, Sirmo ve Siyabo şeklinde sıralanmıştır. ABTS radikal süpürme gücü bakımından otlar arasında su ekstraktı hariç en yüksek etkiyi Heliz otu göstermiştir.

Beş bitkinin antimikrobiyel aktivitesi 11 farklı mikroorganizma kullanılarak broth dilüsyon tekniği ile belirlenmiştir. Yabani ot metanol ekstraktları, Gram negatif bakteriler ve mayaya(*C. albicans*) kıyasla Gram pozitif bakteriler için daha fazla antimikrobiyel etki göstermiştir. Minimum inhibisyon konsantrasyonlarına göre, beş bitki arasında Heliz otu metanol ekstraktının antimikrobiyel aktivitesinin Gram pozitif bakteriler üstünde en güçlü etkinliğe sahip olduğu, bunu Siyabo ekstraktının takip ettiği belirlenmiştir.

ANAHTAR KELİMELEER: Otlu peynir, yabani otlar, aroma, antioksidan etki, antimikrobiyel etki.

ABSTRACT

Master Thesis

DETERMINATION OF ANTIMICROBIAL, ANTIOXIDANT EFFECTS, AROMA PROFILE AND SOME CHEMICAL PROPERTIES OF IMPORTANT HERBS SPECIES ADDED TO OTLU CHEESE

Şahin DAĞDELEN

Inönü University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

79 + xiii pages

2010

Supervisor: Assoc.Prof. İhsan KARABULUT

In order to provide a specific flavor to the cheeses, wild cultivated herbs are generally used in traditionally manufacturing process of herby cheese around the Van province. In this study, in addition to the flavor composition, antioxidative and antimicrobial properties of the most popular herbs, namely Sirmo (*Allium schoenoprasum* L.), Mendi (*Anthriscus nemorosa* (Bieb.)), Siyabo (*Silene vulgaris* (Moench) Garcke var.), Wild Mint (*Mentha spicata* L. Subsp. *spicata*) and Heliz (*Ferula orientalis* L. (Apiaceae) were investigated.

According to the findings, ash and dietary fiber contents of the samples varied between %11,22 (Mendi) - %18,11 (Sirmo) and between %11,89 (Heliz) to %17,02 (Yabani Nane), respectively. The oil content of the herbs was lower than 0.3% which mainly composed of unsaturated fatty acids. It was found that the herbs investigated contain aroma compounds in a wide range. The number of the aroma compounds for Sirmo, Mendi, Siyabo, Wild Mint and Heliz was 66, 114, 105, 104 and 69, respectively.

The remainder of the analysis was conducted on lyophilized samples. Total carotenoid content of the five herbs were significantly different ($P < 0,05$). The highest carotenoid content was determined in Wild Mint (294,2 μg β -caroten/g freeze dried herb). The total phenolic content and antioxidant capacity of the extracts which were prepared by different solvents (water, methanol, ethanol and ethyl acetate) were determined. The methanol was found as the most powerful solvent with regard to the extractability of the phenolic constituents. The highest total phenolic content was found in the methanolic extract of Heliz (15,4 μg gallic acid/g freeze dried herb). To determine the antioxidant capacities of the samples, DPPH and ABTS tests were

conducted on the extracts prepared by different solvents. The highest radical scavenging capacity was observed with methanolic extracts. According to the results of the DPPH test, antioxidant capacity of the extracts obtained from herbs with different solvents were changed from higher to lower as Heliz, Mendi, Wild Mint, Sirmo and Siyabo. Among the herbs, radical scavenging power of the extracts from Heliz, except water extract, was the highest.

Antimicrobial effect of the methanolic extracts of the herbs was determined by using to 11 different microorganism with broth dilution technique. Compared to the antimicrobial activity against to Gram negative bacteria and yeast, more inhibitory effect was observed for Gram positives. When the minimum inhibitory concentration of the extracts from 5 herbs was taken into account, it was determined that Heliz has the powerful effect on Gram positive bacterias followed by Siyabo.

KEYWORDS: Herby cheese, wild herb, flavor, antioxidant, antimicrobial

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın her aşamasında yardım, öneri ve desteğini esirgemeden beni yönlendiren danışman hocam Sayın Doç.Dr. İhsan KARABULUT'a;

Tezin deneysel aőamalarında bana büyük yardımları olan Doç. Dr. A. Adnan HAYALOğLU'na, Yrd. Doç. Dr. Gökhan DURMAZ'a, Dr. İncilay GÖKBULUT'a ve Arő. Grv. Tuğçe BİLENLER'e, ayrıca aroma bileőenlerinin değerlendirilmesi konusunda yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Murat YILMAZTEKİN'e;

Bu alıőmayı İnönü Üniversitesi Araştırma Fonu 2009/37 nolu proje ile maddi olarak destekleyen ve olanak sağlayan İnönü Üniversitesi Rektörlüğü'ne;

Ayrıca çalıőmalarım süresince desteğini esirgemeyen değerli eőim Füsün'a

Teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI.....	i
ONUR SÖZÜ.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
EKLER DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Antioksidan Aktivite ve Antioksidanlar.....	3
1.1.1. Karotenoidler.....	5
1.1.2. Fenolik bileşikler.....	6
1.1.3. Toplam antioksidan kapasite testleri.....	8
1.2. Bitki Ekstraktlarının Antimikrobiyel Etkileri.....	8
1.3. Otlu Peynir Yapımı ve Tüketim Durumu.....	12
1.4. Otlu Peynir Yapımında Kullanılan Yabani Otlar.....	13
1.4.1. Otların peynirin özellikleri üzerine etkisi.....	16
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	18
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	21
3.1. Kullanılan Kimyasallar.....	21
3.2. Kullanılan Alet, Ekipman ve Cihazlar.....	22
3.3. Materyal.....	22
3.4. Yöntem.....	22
3.4.1. Otların dondurularak kurutulması.....	22
3.4.2. Ekstrakt hazırlanması.....	23
3.4.3. Bileşim analizleri.....	23
3.4.3.1. Nem miktarının belirlenmesi.....	23
3.4.3.2. Kül miktarının belirlenmesi.....	23
3.4.3.3. Besinsel lif tayini.....	24
3.4.3.4. Yağ miktarının belirlenmesi.....	24
3.4.3.5. Yağ asidi bileşiminin belirlenmesi.....	24
3.4.3.6. Aroma maddelerinin belirlenmesi.....	25
3.4.3.7. Toplam karotenoid miktarının belirlenmesi.....	25
3.4.3.8. Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi.....	26
3.5. Antioksidan Kapasite Testleri.....	26
3.5.1. DPPH testi.....	26
3.5.2. ABTS testi.....	27
3.6. Antimikrobiyel Aktivitelerin Belirlenmesi.....	27
3.7. İstatistiksel Analiz.....	29
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	30
4.1. Bileşim Analizleri.....	30
4.1.1. Nem, kül, besinsel lif ve yağ miktarları.....	30
4.1.2. Yağ asidi bileşimi.....	30
4.1.3. Aroma maddeleri.....	32
4.1.4. Toplam karotenoid miktarı.....	42

4.1.5.	Toplam fenolik madde miktarı.....	42
4.2.	Antioksidan Kapasite.....	43
4.2.1.	DPPH testi.....	44
4.2.2.	ABTS testi.....	45
4.3.	Antimikrobiyel Aktivite.....	46
4.3.1.	Sirmo otu ekstraktının antimikrobiyel etkisi.....	46
4.3.2.	Mendi otu ekstraktının antimikrobiyel etkisi.....	47
4.3.3.	Siyabo otu ekstraktının antimikrobiyel etkisi.....	48
4.3.4.	Yabani nane otu ekstraktının antimikrobiyel etkisi.....	49
4.3.5.	Heliz otu ekstraktının antimikrobiyel etkisi.....	50
5.	TARTIŞMA VE SONUÇ	52
6.	KAYNAKLAR	66
7.	EKLER	75
	ÖZGEÇMİŞ	79

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. Yabani otların toplam karotenoid miktarları. (Kolonlar üzerinde gösterilen farklı harfler arasında ($P > 0,05$) düzeyinde farklılık bulunmaktadır.)	42
Şekil 4.2. Yabani otların toplam fenolik madde miktarları. (Küçük harfler yabani otlar arasında aynı ekstrakt için $P > 0,05$ düzeyinde farklılığı, büyük harfler ise aynı yabani ot için ekstraktlar arasındaki farklılığı $P > 0,05$ düzeyinde göstermektedir.).....	43
Şekil 4.3. Farklı çözücü ekstraktlarının trolox eşdeğeri DPPH radikal süpürme güçleri. (Küçük harfler yabani otlar arasında aynı ekstrakt için $P > 0,05$ düzeyinde farklılığı, büyük harfler ise aynı yabani ot için ekstraktlar arasındaki farklılığı $P > 0,05$ düzeyinde göstermektedir.) ...	45
Şekil 4.4. Farklı çözücü ekstraktlarının trolox eşdeğeri ABTS radikal süpürme güçleri. (Küçük harfler yabani otlar arasında aynı ekstrakt için $P > 0,05$ düzeyinde farklılığı, büyük harfler ise aynı yabani ot için ekstraktlar arasındaki farklılığı $P > 0,05$ düzeyinde göstermektedir.)....	46
Şekil 5.1. Mendi otunun yağ asidi bileşimine ait kromatogram.....	54
Şekil 5.2. Sirmo otunun aroma bileşiklerine ait kromatogram.....	57
Şekil 5.3. Mendi otunun aroma bileşiklerine ait kromatogram.....	57
Şekil 5.4. Siyabo otunun aroma bileşiklerine ait kromatogram.....	58
Şekil 5.5. Yabani Nane otunun aroma bileşiklerine ait kromatogram.....	58
Şekil 5.6. Heliz otunun aroma bileşiklerine ait kromatogram.....	59

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1.	Bazı reaktif oksijen türleri.....	4
Çizelge 1.2.	Bazı baharat ve yabancı otların inhibisyonuna neden olduğu mikroorganizmalar	10
Çizelge 1.3.	Bazı baharat ve yabancı otlarda bulunan antimikrobiyel bileşikler.....	11
Çizelge 1.4.	Otlu peynire katılan yabancı otların latince adları, mahalli adları ve kullanım alanları	13
Çizelge 3.1.	Antimikrobiyel aktivite belirlemelerinde kullanılan ekstrakt konsantrasyonları.....	28
Çizelge 4.1.	Yabancı otların bazı bileşimsel özellikleri.....	30
Çizelge 4.2.	Yabancı otların yağ asidi bileşimleri.....	31
Çizelge 4.3.	Sirmo otunun aroma bileşimi.....	34
Çizelge 4.4.	Mendi otunun aroma bileşimi.....	35
Çizelge 4.5.	Siyabo otunun aroma bileşimi.....	37
Çizelge 4.6.	Yabancı Nane otunun aroma bileşimi.....	39
Çizelge 4.7.	Heliz otunun aroma bileşimi.....	41
Çizelge 4.8.	Farklı konsantrasyonlarda Sirmo otu metanol (% 70'lik) ekstraktının mikroorganizmaların gelişimine etkileri.....	47
Çizelge 4.9.	Farklı konsantrasyonlarda Mendi otu metanol (% 70'lik) ekstraktının mikroorganizmaların gelişimine etkileri.....	48
Çizelge 4.10.	Farklı konsantrasyonlarda Siyabo otu metanol (% 70'lik) ekstraktının mikroorganizmaların gelişimine etkileri.....	49
Çizelge 4.11.	Farklı konsantrasyonlarda Yabancı nane otu metanol (% 70'lik) ekstraktının mikroorganizmaların gelişimine etkileri.....	50
Çizelge 4.12.	Farklı konsantrasyonlarda Heliz otu metanol (% 70'lik) ekstraktının mikroorganizmaların gelişimine etkileri.....	51
Çizelge 5.1.	Yabancı otların metanol (%70'lik) ekstraktlarının farklı mikroorganizmaların gelişimini inhibe edebilen en düşük konsantrasyonları (MIC).....	64

SİMGELER VE KISALTMALAR

AACC	: American Association for Clinical Chemistry
ABTS	: 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)
ANOVA	: Varyans analizi
ATCC	: Amerikan kültür koleksiyonu
BHA	: Bütil hidroksi anizol
BHI	: Brain Heart İnfusion (Kalp Beyin Ekstraktı)
BHT	: Bütil hidroksi toluen
CUPRAC	: Küprik iyon indirgeme potansiyeli
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DPPH	: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
EDTA	: Etilen diamid tetraasetik asit
FRAP	: Ferrik radikal indirgeme potansiyeli
FTS	: Fizyolojik tuzlu su
GC	: Gaz kromatografisi
GC-FID	: Gaz kromatografisi-Alev iyonizasyon dedektörü
GC-MS	: Gaz kromatografisi kütle spektrometresi
GRAS	: Güvenilir kabul edilen sınır
HPLC	: Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
ISO	: Uluslararası Standardizasyon Teşkilatı
MH	: Müller hinton
MIC	: Minimum inhibitör konsantrasyon
MRSA	: Multiresistant <i>Staphylococcus aureus</i>
NIST	: Ulusal standartlar ve teknoloji enstitüsü
PBS	: Fosfat tampon tuzu
RI	: Retention index
RSHM	: Refiksaydam Hıfısısıhha Merkezi
UV-VIS	: Mor ötesi ve görünür bölge

EKLER DİZİNİ

EK 1. β -karoten standart eğrisi.....	75
EK 2. Gallik asit standart eğrisi.....	76
EK 3. Trolox standart eğrisi (DPPH testi).....	77
EK 4. Trolox standart eğrisi (ABTS testi).....	78

1. GİRİŞ

Baharat ve tuz, insanoğlunun kullandığı en eski katkı maddeleridir. Bunlar ilk çağlarda özellikle et ve ürünlerinin bozulmasının önlenmesi ve hoş olmayan kokuların maskelenmesi amacıyla kullanılmışlardır. Yirminci yüzyıldaki teknolojik gelişmeler ve çeşitli gıda muhafaza tekniklerinin uygulamaya konması baharatın koruma amaçlı kullanımını azaltırken, günümüzde lezzet ve ürün çeşitliliğinin artırılması ve sentetik koruyuculara olan şüpheli yaklaşımlar nedeniyle yeniden kullanımını artırmıştır. Baharat bitkileri antik çağlardan beri gıdalara tat, koku ve renk vermede kullanılmaktadır. Bu kullanımların yanı sıra pek çok baharattan tedavi amaçlı da yararlanılmaktadır [1].

Çeşitli iklim ve topoğrafik bölgelerin bulunduğu bir kavşak noktası olarak Türkiye de yaklaşık 3000'den fazlası endemik olmak üzere 9000 bitki türü bulunmaktadır. Bunlar arasında 500'den fazla bitki türü değerli tıbbi aromatik ve boya amaçlı kullanılmaktadır. Ülkemizde 30 kadar bitki (kimyon, anason, rezene, defne, çörekotu, kekik, adaçayı, papatya, meyankökü, sumak, çöven, mahlep, gül, kenevir ve haşhaş başta olmak üzere) dış pazara sunulmaktadır. Haşhaş, anason, çörekotu, rezene, şerbetçiotu, gül, kimyon gibi kültürü yapılan bitkilerin dışında kalanların tamamına yakını doğal floradan toplanarak değerlendirilmektedir [2].

Nüfusunun büyük bir kısmının kırsal bölgelerde yaşaması nedeniyle Türk halkı yabani bitkiler ile yakından ilgilidir. Halk, yabani bitkilerin bir bölümünden gıda, baharat, boyar madde ve ilaç olarak yararlanmaktadır. Özellikle yabani bitkilerin ilaç olarak kullanılışı çok eski devirlere kadar uzanmaktadır. Bu açıdan son yıllarda tıbbi bitkiler ve bunlardan elde edilen aktif maddeler üzerindeki çalışmalar ve bunlara karşı olan ilgi çok artmıştır [3].

Bitkilerin bazıları yiyeceklere tat ve koku vermek amacı ile kullanılırken, bazıları ise yaprak ve çiçek tomurcukları sıcak suda bekletilerek çay olarak kullanılır. Bu amaçlarla kullanımı olan bitkiler "baharat" olarak adlandırılır. Günümüzde, Uluslararası Standardizasyon Teşkilatı (ISO) tarafından Dünya üzerinde 70 kadar baharat tanımlanmıştır. Ancak Dünya'nın çeşitli bölge, ülke ve yörelerinde yüzlerce bitkiden baharat adı altında yararlanılmaktadır [1].

Bitkiler çeşitli mekanik etkiler sonucunda kendilerine has bir koku verirler. Bu koku; bitkideki bazı bileşiklerin hava ile teması sonucunda oluşur ve uçucu karakterdedir. Başta aromayı sağlayan uçucu (uçucu yağlar gibi) bileşikler ile uçucu olmayan tat (alkaloitler gibi) ve renk (karotenoidler gibi) maddeleri baharatlara kendilerine has özellikleri veren bileşiklerdir. Bu bağlamda bitkisel materyal çok sayıda

kimyasal bileşik içerir ve bu bileşim başta iklim ve yetiştirilme şartları olmak üzere birçok etkene göre farklılık gösterir [1].

Epidemiyolojik çalışmalarda antioksidan aktivitelerine bağlı olarak oksidatif stresle ilgili kronik hastalık riskini azaltabileceği düşüncesiyle bazı bitkilerin tüketimi özellikle önerilmiştir [4]. Aynı zamanda antioksidanların gıda endüstrisinde yağların oksidasyonunu serbest radikallerin oluşumunu engellemek suretiyle azaltabileceği de bildirilmiştir. Bütil hidroksi anizol (BHA), bütil hidroksi toluen (BHT) ve propil galat gibi sentetik antioksidanların gıdalarda kullanımına dair olumsuz düşünceler oluşmaya başlamıştır. Antioksidatif değişimlerin önlenmesi ile beraber gıdanın mikrobiyolojik açıdan da güvenilirliği ön plandadır. Doğal antioksidanların gıdalarda koruyucu olarak kullanılması tüketicinin katkı maddesi içermeyen doğal gıda tercihi bakımından da önemlidir. Bu nedenle antioksidan ve antimikrobiyel özelliği doğal ürünler giderek ilgi çekmeye başlamıştır.

Amerikan diyet kurumu (American Dietetic Association) meyve, sebze ve hububatlar gibi antioksidan maddelerce zengin gıdaların tüketilmesi ile bazı hastalıklara karşı koruma sağlanabileceğini bildirmiştir [5]. Epidemiyolojik çalışmalarda da meyve ve sebzelerin yüksek miktarlarda tüketilmesi ile arterosklerozis ve kanser gibi hastalık riskinin düşürülebileceği gösterilmiştir [6]. Tarih öncesi dönemlerden itibaren ot ve baharatlar gıdalarda aroma verici, tıbbi ve antiseptik olarak kullanılmaktadır [7]. Bu bağlamda bitki-ot ekstraktları; kırmızı et, beyaz et ve domuz eti ürünlerinde, soya yağında koruyucu olarak kullanılmıştır [7, 8].

Baharat ve otlar fenolik asit, flavonoid ve aromatik bileşikler gibi maddelerce zengindirler. Yapılan çalışmalarda bitki ekstraktlarının geniş bir aralıkta antioksidan ve antibakteriyel etkiye sahip oldukları gösterilmiştir. Baharat ve otların aroma sağlamak amacıyla kullanımı ile etlerde gıda zehirlenmesi yapan patojenlere karşı bir engellenmenin olduğu ve antioksidan etki ile de renk stabilizasyonunun sağlandığı belirlenmiştir [9, 10].

Yapılan son araştırmalarda aroma bileşiklerinin gıdaya sadece duyuşsal ve kalite bakımından etkide bulunmadığını, aynı zamanda antioksidan, antimikrobiyel ve tedavi edici fonksiyonlarda bulunduğu saptanmıştır. Bu bakımdan karanfil ve Hindistan cevizi [11], *Terminalia catappa* L. yapraklarının [12], soya fasulyesi [13] ve bazı *allium* türlerinden [14] elde edilen uçucu yağların antioksidan özellikleri belirlenmiştir. Bitkilerden elde edilen aroma bileşikleri gıda hazırlama proseslerinde lipit oksidasyonunu önlemede kullanılabilirler. Aynı zamanda baharat ve yabani

otlardan elde edilen aroma bileşiklerinin antimikrobiyel etkileri yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [15]. Saptanan bu antimikrobiyel etkinin uçucu yağ bileşiminde yüksek oranlarda yer alan monoterpen, eugenol, sinnamaldehit, thimol ve izotiyosiyanat gibi bileşiklerden kaynaklandığı bildirilmiştir [16].

Aroma bileşiminde saptanan bileşikler aşağıda verildiği gibi gruplandırılabilir[17].

- Hidrokarbonlar; limonen, pinen, okimen, alfa pellanren ve betakaryofilen,
- Alkoller; hekzanol, cis-3-hekzen-1-ol, geraniol, sitronellol, eugenol ve 1-mentol
- Aldehitler; asetaldehit, hekzanal, 2,4-dekadienal, sitral ve vanilin,
- Ketonlar; diasetil, iyonon ve nootkaton,
- Asitler; asetik asit, bütirik asit, pirolisenius asit,
- Esterler; etil asetat, linalil asetat, etil fenil asetat, metil dihidroyasmanat,
- Laktonlar, gama nonalakton, delta dekalakton ve gama undekalakton,
- Hemiasetaller; asetaldehit, dietilasetat ve sitral dimetil asetat,
- Azot içerenler; trimetilamin,
- Kükürt içerenler; dimetilsülfid, tiyolaktik asit ve alil disülfid,
- Heterosiklik Bileşikler; furanlar, pirazinler, piridinler ve tiyazoller

1.1. Antioksidan Aktivite ve Antioksidanlar

Baharat ve otların bileşiminde yer alan antioksidan maddeler katıldığı gıda maddesinde tüketilinceye kadar koruyucu etkide bulunurken, gıdayla birlikte vücuda alındığında aynı fonksiyonunu devam ettirmektedir. Bu bakımdan, farklı gıdaların antioksidatif güçlerini belirlemek suretiyle onların değerlendirilmesinin yapılması çok yaygın bir uygulamadır.

Tanım olarak antioksidanlar; “küçük miktarlarda bulunduğu bile yağlar gibi biyolojik materyallerin oksidasyonunu engelleyen veya geciktiren bileşiklerdir” denilebilir. Yağlarla birlikte, proteinler, karbonhidratlar ve DNA gibi diğer makro moleküller de oksidasyonla hasara uğrayabilmektedir [18]. Bu hasar, serbest radikallerin saldırısı sonucu gerçekleşmektedir. Serbest radikaller; son yörüngelerinde paylaşılmamış elektron içeren atom veya moleküllere verilen isimdir. Serbest radikaller; çeşitli kimyasalların, radyasyonun, ilaçların etkisiyle oluşabilen zararlı yapılardır. Ancak normal fizyolojik koşullarda da oluşmakta ve hücrede çeşitli işlevler görmektedirler. Serbest radikallerin üretimi normalden daha fazla olunca, paylaşılmamış elektronlarından kaynaklanan kararsızlıklarını gidermek için, çevresindeki biyolojik moleküllerden elektron koparmak suretiyle hasar oluşturmakta

ve çeşitli anormalliklerin oluşmasına sebep olmaktadır. Özellikle membran bölgelerinde bu tür radikallerin oluşmasıyla membran lipidleri okside olmakta ve lipid oksidasyon ürünleri oluşmaktadır. Lipid oksidasyon ürünleri kendileri de radikal yapısındadırlar ve başka lipidleri de okside ederler. Bu reaksiyonlar birbirini takip eden ve tetikleyen reaksiyonlar olduğu için “zincir reaksiyonlar” olarak adlandırılır [19].

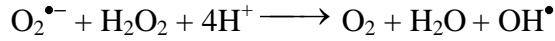
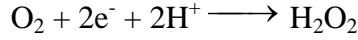
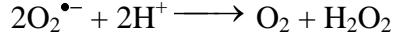
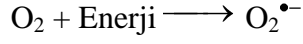
Serbest radikallerin birçoğu oksijen kaynaklıdır ve dolayısıyla radikal oksijen türleri olarak adlandırılır. Ancak radikal yapıda olmadığı halde reaktif olan oksijen türleri de vardır. Dolayısıyla radikal tanımı yetersiz kaldığı için tüm bu reaktif moleküllere “reaktif oksijen türleri” denilmektedir. Çizelge 1.1’de reaktif oksijen türleri verilmektedir [20].

Çizelge 1.1. Bazı reaktif oksijen türleri

Reaktif Oksijen Türleri			
Radikaller		Radikal Olmayanlar	
Süperoksit	$O_2^{\bullet-}$	Hidrojen Peroksit	H_2O_2
Hidroksil	OH^{\bullet}	Hipoklorik Asit	$HOCl$
Peroksil	RO_2^{\bullet}	Hipobromik Asit	$HOBr$
Alkoksil	RO^{\bullet}	Ozon	O_3
Hidroperoksi	HO_2^{\bullet}	Singlet Oksijen	$^1O_2^{\bullet}$

Reaktif oksijen türleri, canlı sistemlerde çoğunlukla oksidatif fosforilasyon sırasında, oksijenin suya indirgenmesiyle ortaya çıkar. Elektronun çok yüksek bir hızla molekülden uzaklaşmasıyla molekülün son yörüngesinde paylaşılmamış elektron(lar) meydana gelir. Oksijenin tamamen suya indirgenebilmesi için 4 elektronun transfer olması gerekir. Bu indirgenme sırasında eğer 4’den daha az elektronun transferi gerçekleşirse, reaksiyon ara ürünleri olarak reaktif oksijen türleri oluşur. Reaktif oksijen türleri; genellikle hidroksil radikali (OH^{\bullet}) gibi oksijen merkezli radikaller ve hidrojen peroksit, hipoklorik asit ve ozon gibi non-radikaller için kullanılan yaygın bir terimdir. Moleküler oksijenin bir elektron almasıyla süperoksit radikali ($O_2^{\bullet-}$) oluşur. Daha sonra çeşitli etkilerle hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali gibi reaktif oksijen türleri oluşur [19].

Önemli bazı reaktif oksijen türlerinin oluşum mekanizmaları aşağıda verilmektedir;

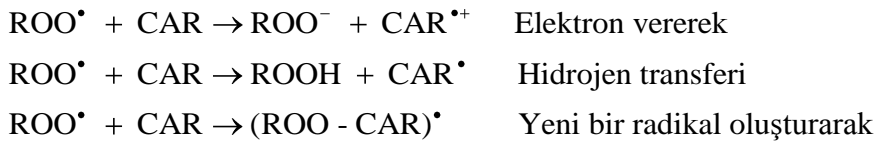


Antioksidanlar bu serbest radikallerin *in vivo* ve *in vitro* koşullarda oluşturacakları hasarları önleyen moleküller olarak bilinmektedir. Antioksidanlar yapı ve işlev olarak birbirinden oldukça farklı özelliklerde olduğu gibi antioksidan aktivite mekanizmaları da çok çeşitlidir. Bu antioksidanlardan bazıları reaktif oksijen türlerini ortadan kaldırarak (Süperoksit dismutaz), bazıları metalleri tutuklayarak (sitrik asit, EDTA), bazıları zincirleme radikal reaksiyonlarını durdurarak (askorbik asit, flavonoidler), bazıları singlet oksijeni süpürerek (karotenoidler), bazıları ise lipit peroksidasyon ürünlerini parçalayarak (glutasyon peroksidaz) etki gösterirler [21]. Antioksidanlar bunun yanında etki mekanizmasına göre primer ve sekonder antioksidanlar olarak da sınıflandırılabilir. Birincil antioksidanlar serbest radikallerle direkt olarak etkileşen ve süpüren antioksidanlar olarak tanımlanırken, sekonder antioksidanlar ise ortamdaki metalleri tutuklayarak veya oksidasyonu indükleyen diğer faktörleri ortadan kaldırarak oksidasyonu önleyen antioksidanlar olarak tanımlanmaktadır. Ayrıca buldukları yere göre antioksidanlar; endojen (canlı dokuda üretilen ve bulunan bilirubin, glutasyon, ürik asit, süperoksit dismutaz ve katalaz gibi) ve ekzojen (gıdalarla dışarıdan alınan fenolik maddeler, karotenoidler ve askorbik asit gibi) olarak da sınıflandırılabilir [22]. Diğer bir yaklaşımla antioksidanlar, enzimatik (glutasyon peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz) ve enzimatik olmayan (selenyum, vitamin E ve C) şeklinde de sınıflandırılabilir [23]. Enzimatik antioksidanlar serbest radikallere karşı canlı sistemlerin en temel savunma mekanizmalarını oluşturmaktadır.

1.1.1. Karotenoidler

Bitkilerde doğal olarak bulunan bir grup bileşiğe verilen genel isimdir. Başlıca karotenoidler; β -karoten, likopen, kriptoksantin ve fitofluendir. Karotenoidler izopren ünitelerinden oluşmuşlardır ve yağda veya organik çözücülerde iyi çözünen, suda ise

çözünürlükleri zayıf olan moleküllerdir. Bu yüzden de bitkisel yağlar ekstrakte edilirken yapıda bulunan karotenoidlerin büyük ölçüde yağa geçmesi beklenir [25]. Karotenoidler A vitamini öncülü bileşiklerdir ve vücutta gerektiğinde A vitaminine dönüşürler. Ancak bu bileşikler vitamin öncülü olmalarının yanında diğer bazı önemli fonksiyonları da yerine getirirler [26]. Karotenoidler gıdalarda ve yağlarda oksidatif bozulmalara karşı koruyucu özellik gösterirler. Aşağıda da gösterildiği gibi karotenoid molekülleri lipid radikallerini etkisiz hale getirerek antioksidan özellik göstermektedir [27].



Bunun yanında karotenoidler güçlü singlet oksijen süpürücüler olarak bilinir. Karotenoidler *in vitro* olarak çözelti içerisinde ve *in vivo* olarak da membranlarda radikal tutucu özellik gösterirler [28]. Karotenoidlerin antioksidan özellikleri oksijen kısmi basıncından oldukça etkilenmektedir ve düşük oksijen varlığında artmaktadır [29].

1.1.2. Fenolik bileşikler

Fenolik bileşiklerin bitkilerde aromatik aminoasit metabolizması sırasında sentezlenen yan bileşiklerden oluşan ikincil metabolitler oldukları varsayılmaktadır. Fenolik bileşikler meyve ve sebzelerin kendilerine özgü buruk tadını verirler. Kalıcı olan bu algılama, fenolik bileşiklerin ağız mukozasındaki protein ve polisakkaritlerle gerçekleşen tepkimelere bağlanmaktadır. Bazı fenolik bileşiklerin acı tadın oluşmasında da rol aldıkları bildirilmektedir. Fenolik bileşikler, 80 monomerli bileşiklere kadar kondanse olabilirler ve proteinlerle kompleks oluşturarak tortu yaparlar. Gıda bileşiği olarak fenolik bileşikler; insan sağlığı açısından işlevleri, tat ve koku oluşumundaki etkileri, renk oluşumu ve değişimine katılmaları, antimikrobiyel ve antioksidatif etki göstermeleri, enzim inhibisyonuna neden olmaları, değişik gıdalarda saflık kontrol kriteri olmaları gibi birçok açıdan önem taşımaktadırlar [30].

Fenolik bileşikler yapısında en az bir tane fenol halkası ve bunun üzerinde en az bir tane hidroksil grubu taşıyan kimyasal yapılar olup, bitkisel yapılarda sekonder metabolitler olarak ortaya çıkmaktadır. Bu yapıda olan fenolik bileşikler basit fenoller ve fenolik asitler, kinonlar, flavononlar, flavonoidler, flavonoller, taninler ve kumarinler şeklinde sayılabilir. Fenolikler bitkisel yapılar içerisinde doku, hücre veya daha alt birimleri içerisinde homojen bir şekilde dağılmamıştır. Çözünmeyen fenolikler daha çok

hücre duvarında şekerler gibi bileşiklere bağlı olarak yer alırken, çözünür özellikte olanlar hücre vakuollerinde bulunmaktadır [31].

Antioksidan etki, fenol halkasında –OH grubu sayısı arttıkça artmakta ve aynı bileşikte ise bu etki meta-, orto- ve para- sırası ile yükselmektedir. Fenolik bileşikler içerisinde en fazla antioksidan etkiyi gallik asit, floroglusirik asit, kafeik asit ve gentisik asit göstermektedir. Parabenler veya bir başka ifade ile p-hidroksi benzoik asidin alkil esterleri örneğin metil, etil ve propil esterleri de antimikrobiyel özelliklerinden dolayı koruyucu madde olarak kullanılmaktadır. Fenolik bileşiklerin antitümör ve antikarsinogenik etkilerinin de olduğu bilinmektedir [30].

Meyve, sebze, ot, tahıl ve diğer fenolik bileşiklerce zengin bitki kısımlarında elde edilen ekstraktlara olan ilgi bu bileşiklerin oksidatif değişimleri engelleme veya geciktirmeleri dolayısıyla ve gıdanın kalitesini ve beslenme değerini arttırmaları nedeniyle artmaktadır. Bitkisel yapılardaki antioksidatif bileşikler kalp hastalıklarından, kanserden koruma sağlaması nedeniyle gelecekte bu bileşikleri içeren ve spesifik sağlık faydası bulunan fonksiyonel gıda üretimine yönelik olarak bilim adamlarının, gıda üreticileri ve tüketicilerinin dikkatini giderek artan bir şekilde çekmektedir [32]. Flavonoidler ve diğer fenolik bileşiklerin kanser ve kalp hastalıklarında koruyucu rollerinin olduğu bildirilmiştir. Kırmızı şaraptan ekstrakte edilen alkol içermeyen kısım ya da fenolik bileşik karışımı insan plazmasının antioksidan mekanizmasını geliştirmektedir [33]. Meyve ve sebzelerce zengin diyetle yapılan kontrollü beslenmenin plazma antioksidan kapasitesini önemli düzeyde arttırdığı ve bu durumun plazmada alfa tokoferol veya karotenoid konsantrasyonundaki artışla açıklanamayacağı bildirilmiştir [34]. Ayrıca epidemiyolojik çalışmalarda meyve ve sebze tüketimi ile kalp hastalıklarından ölüm oranı arasında güçlü bir negatif ilişki saptanmıştır [35].

Antioksidan bileşikleri içeren potansiyel kaynakları meyve ve sebzeler, yağlı tohumlar, tahıllar, bitki yaprak, kök ve kabukları, baharat ve otlar ve diğer bazı bitkiler incelenerek belirlenmiştir [36]. Flavonoidler ve diğer bitkisel fenoliklerden fenolik asitler, taninler, ve lignin genellikler yapraklarda, çiçek dokularında ve dallarında bulunmaktadır Bu bileşiklerin bitkinin kendi yaşamında da bitkiyi enfeksiyonlara ve çeşitli yaralanmalara karşı koruduğu bildirilmektedir. Ayrıca flavonoidlerin yaprak, çiçek ve meyvelerde renk oluşturmada işlevleri bulunmaktadır. Bu bileşiklerin bitkilerde glikozit türevleri olarak buldukları bilinmekle beraber, inorganik sülfat veya organik asitlerle de konjugasyona uğradığı da unutulmamalıdır [37]. Fenolik bileşiklerin antioksidatif aktiviteleri redoks potansiyellerine bağlı olarak bu bileşiklerin

indirgen madde, hidrojen donörü ve singlet oksijen süpürücü özellikleri sayesinde meydana gelmektedir. Ayrıca bu bileşiklerin metal bağlayıcı özelliklerinin de bu etkide rolü bulunmaktadır [38].

Meyvelerin antioksidatif aktivitelerinin belirlenmesine yönelik olarak üzüm üzerinde birçok çalışma yapılmış ve üzümün insanda düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyonunu etili bir şekilde engellediği belirlenmiştir [39]. Taze çilek ekstraktının trolox'a kıyasla 15 kez daha fazla antioksidan kapasiteye sahip olduğu bildirilmiştir [40]. Benzer şekilde, yapılan birçok çalışmada fenolik bileşiklerin antioksidatif etkileri saptanmış durumdadır.

1.1.3. Toplam antioksidan kapasite testleri

Gıda maddelerinde antioksidan kapasite tayinleri son yıllarda oldukça yaygın olarak çalışılan bir konudur. Bu çalışmalarda birbirinden farklı metotlar kullanılmaktadır. Bunun yanında, birçok çalışmada da en az 2-3 farklı metot aynı materyal için kullanılmaktadır. Bunun sebebi de, belli bir metodun tek başına her zaman tam ve yeterli bilgi verememesidir [41]. Antioksidan kapasite tayinleri genelde polar reaksiyon karışımlarında yapılmaktadır. Örneğin DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radikal süpürme gücü, metanol veya etanolde [42], ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) radikal süpürme gücü [43], indirgeme gücü [44]; suda, beta karoten beyazlatma yöntemi sulu emülsiyonda yapılmaktadır [45]. Bu durum yağların antioksidan kapasitelerinin ölçümünde önemli sınırlamalar getirmektedir. Bundan dolayı, araştırmacılar bu yöntemleri yağlara uygulamak için çeşitli modifikasyon yollarına gitmiştir. DPPH yöntemi oldukça yaygın kullanılan ve hızlı sonuç veren bir yöntemdir. Yapılan bir çalışmada hem DPPH hem de yağları iyi çözen bir çözügen aranmış ve etil asetatın bu noktada en iyi sonucu verdiği görülmüştür [46].

1.2. Bitki Ekstraktlarının Antimikrobiyel Etkileri

Çok sayıda muhafaza tekniğinin uygulanabilir olmasına rağmen işlenmiş gıdalarda patojenik ve bozulma etmeni bakterilerin neden olduğu gıda kaynaklı zehirlenme ve hastalıklar halen gıda üreticileri, gıda güvenliği araştırmacıları ve yasal düzenleme yapan kurumların başlıca sorunları arasındadır. Bazı patojen mikroorganizmaların antibiyotik uygulamalarına karşı gösterdiği direnç de varlığı kabul edilen bir başka sorundur [47-49]. Bu bağlamda sentetik koruyucu içeren gıdalar tüketiciler açısından soru işareti kaynağıdır. Bu bulgular dikkate alındığında etkili ve toksik olmayan yabani ot ve baharat ekstraktları gibi antimikrobiyel etki gösteren maddelerin gıdalarda kullanılmaları uzun zamandan beri ilgi kaynağı olmaktadır [50]. Baharatların ve yabani

otların gıdalara eklenmesiyle katıldığı gıdaya sağladığı aroma yanında gösterdiği antioksidatif etki ile oksidatif acılaşmayı önlemesi ve bakteriyostatik etki ile de mikrobiyel bozulmaları önlemesi sayesinde gıdanın raf ömrünü uzattığı bu gün için iyi bilinen bir uygulamadır [51]. Birçok maddenin uzun yıllardan beri geleneksel olarak birçok ülke ve üründe kullanılması bu anlamda yazılı bilgilere gereksinim olmadan güvenilir ingrediyeent olduklarının göstergesidir [50]. Son yıllarda baharat ve yabani otların aroma sağlama fonksiyonlarının dışında antimikrobiyel ve tıbbi etkileri üzerine yapılan birçok çalışmada bu yargı bilimsel olarak da ispatlanarak içeriklerinde kullanım amacına bağlı olarak biyoaktif bileşiklerin tanımlanması sağlanmıştır [52]. Bitkisel ekstraktların gıda zehirlenmelerine neden olan patojenleri de kapsayan farklı tipteki mikrobiyolojik canlılar üzerine olan antimikrobiyel etkilerini gösteren birçok çalışma bulunmaktadır [52-55].

Gıdaların patojen mikroorganizmalarca bozulması ve zehirlenmelere neden olması ile oluşan büyük ekonomik kayıp nedeniyle gıda sistemlerinin doğal bileşiklerle korunmasına yönelik ilgi son yıllarda artmıştır. Gıdaların bozulmasıyla insan sağlığına yönelik oldukça ciddi olumsuzluklar oluşabilmektedir. Gıda kaynaklı hastalıkların yaygınlaşmasına bağlı olarak patojen ve kokuşma yapan mikroorganizmalar üzerine araştırmalar artmıştır. Günümüzde baharat ve otların ekstraktlarında bulunan antibakteriyel bileşikler ile gıdaların korunması dikkat çekici bir durumdur. Bitkilerden elde edilen esansiyel yağ ve ekstraktlar bileşimlerindeki antibakteriyel bileşiklerden dolayı uzun zamandan beri doğal koruyucu olarak gıdalarda ve içeceklerde kullanılmaktadır [56]. Endüstrileşmiş ülkelerde gıda kaynaklı hastalıklar oldukça hızlı bir şekilde artmaktadır. Bir Gram pozitif bakteri olan *Staphylococcus aureus* enfeksiyon, toksik şok belirtileri, kalp iltihaplanması (endocarditis), kemik iliği iltihaplanması (osteomyelitis) ve gıda zehirlenmelerinden sorumlu olan başlıca bakteridir [57]. Gram negatif bakterilerden *Escherichia coli* de insan bağırsağı kaynaklı bir bakteri olup üriner sistem rahatsızlıkları, mesane iltihabı ve kan zehirlenmesine (septisemi) neden olmaktadır Baharat ve otların antimikrobiyel özellikleri günümüzde iyi biliniyor durumdur. Doğal maddelerin katkı maddesi olarak kullanımına yönelik ilginin artışına bağlı olarak baharat ve otlar üzerine ilgi artmış ve sentetik antimikrobiyel ve antioksidan maddelerin yerine kullanımları tercih edilir hale gelmiştir [58-60].

Uçucu yağların ve türevlerinin antimikrobiyel etkileri uzun zamandır kabul edilmektedir [61-63]. Son on yılda antimikrobiyel etki gösteren bitki ürünleri

mikroorganizmalara olan etkileri nedeniyle büyük ilgi kazanmışlardır. Baharatların ve uçucu yağlarının antimikrobiyel, antifungal ve antioksidan etkilerini incelenmek amacıyla pek çok deneyler yapılmıştır [64]. Bunun sebebinin; özellikle yiyeceklere eklenen sentetik maddelerin sağlığa zararlı olan etkisi olduğu bilinmektedir [65].

Baharat ve uçucu yağlar; hazır yiyecek ürünlerine ilave edildiğinde gösterdikleri antimikrobiyel etki ile yiyeceklerin depolanma süresini arttırmaktadır [66]. Bakteri ve küflere karşı antimikrobiyel etki gösteren uçucu yağlar arasında mercan köşk, kekik, adaçayı, biberiye, karanfil, çörekotu, sarımsak ve soğana ait olanlar dikkat çekicidir [62]. Maya ve mantarların inhibe olmasını sağlayan yağların özellikle fenol, aldehit ve alkoller bakımından zengin olduğu belirlenmiştir [67].

Baharat ve yabancı ot ekstraktlarının bileşiminde yer alan fenolik yapıların antioksidatif ve farmakolojik olarak olumlu etkide buldukları saptanmıştır [10, 68, 69]. Fenolik bileşiklerin aynı zamanda antimikrobiyel etkide buldukları da saptanan özellikler arasındadır [55]. Bu bağlamda literatürde bulunan bazı baharat ve yabancı otlar ve etkide buldukları mikroorganizmalar Çizelge 1.2’de verilmiştir.

Çizelge 1.2. Bazı baharat ve yabancı otların inhibisyonuna neden olduğu mikroorganizmalar [61].

Baharat/Yabancı Ot	Etkili Olduğu Mikroorganizma
Sarımsak	<i>Salmonella typhimurium, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Bacillus subtilis, mycotoxigenic Aspergillus, Candida albicans</i>
Soğan	<i>Aspergillus flavis, Aspergillus parasiticus</i>
Tarçın	<i>Mycotoxigenic Aspergillus, Aspergillus parasiticus</i>
Karanfil	<i>Mycotoxigenic Aspergillus</i>
Hardal	<i>Mycotoxigenic Aspergillus</i>
Yenibahar	<i>Mycotoxigenic Aspergillus</i>
Keklikotu	<i>Mycotoxigenic Aspergillus, Salmonella spp., Vibrio parahaemolyticus</i>
Biberiye	<i>Bacillus cereus, Staphylococcus aureus, Vibrio parahaemolyticus</i>
Defneyaprağı	<i>Clostridium botulinum</i>
Adaçayı	<i>Bacillus cereus, Staphylococcus aureus, Vibrio parahaemolyticus</i>
Kekik	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>

Baharat ve yabancı otların bileşiminde yer alan ve başlıca esansiyel yağ veya uçucu yağ şeklinde adlandırılan ekstraktların bahsedilen antimikrobiyel etkide buldukları bilinmektedir. Çizelge 1.3’de bazı bitki ekstraktlarda antimikrobiyel etkilerinin yüksekliği saptanan biyoaktif bileşiklerden bazıları verilmiştir.

Çizelge 1.3. Bazı baharat ve yabancı otlarda bulunan antimikrobiyel bileşikler [61].

Baharat/Yabancı Ot	Antimikrobiyel Bileşik
Sarımsak	Allicin
Hardal	Allyl isothiocyanate
Tarçın	Cinnamaldehyde, Eugenol
Karanfil	Eugenol
Adaçayı	Thymol, Eugenol
Keklikotu	Thymol, Carvacrol

Allicin ve allyl isothiocyanate sülfür içeren bileşiklerdir ve bunlardan sarımsakta bulunan alicinin Gram pozitif ve Gram negatif bakteri gelişimini inhibe etmektedir. Bu bileşiklerden bazıları örneğin fırıncılık ürünlerine eklendiğinde küf gelişimini engellerken, katılığı ürüne aroma kazandırmaktadır [70].

Baharat ve yabancı otların antimikrobiyel etkileri Zaika [71] tarafından aşağıda verildiği şekilde maddeler halinde özetlenmiştir;

1. Mikroorganizmaların belirli bir baharat ve yabancı ota karşı dirençleri farklıdır.
2. Belirli bir mikroorganizmanın farklı baharat ve yabancı otlara karşı dirençleri farklıdır.
3. Bakterilerin dirençleri funguslardan daha fazladır.
4. Bakteri sporlarına karşı etki aynı bakterinin vejetatif formuna olan etkiden farklı olabilir.
5. Gram negatif bakteriler, pozitiflere kıyasla daha dirençlidirler.
6. Baharat ve yabancı otun etkisi inhibisyon veya antiseptik şekillerde olabilir.
7. Baharat ve yabancı otların kendisi mikrobiyal kontaminasyon kaynağı olabilir.
8. Baharat ve yabancı otlar mikrobiyel gelişimde veya toksin üretiminde substrat fonksiyonu görebilirler.
9. Gıdalara eklenen miktarlar çok düşük seviyelerdedir ve etkin bileşikler diğerleriyle sinerjistik olarak etkide bulunabilir
10. Baharatların bileşiminde yer alan besin öğeleri mikroorganizma gelişimini arttırabilir.

1.3. Otlı Peynir Yapımı ve Tüketim Durumu

Ülkemizde Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölge halkının beslenmesinde büyük rolü olan, hatta her gün sofralarından eksik olmayan Otlı peynir bazı özellikleri itibariyle Beyaz peynirden farklılık arz etmektedir. Kışın uzun sürmesi nedeniyle bitkisel gıdalardan uzak kalan yöre halkının, vitamin eksikliğinden ileri gelebilecek beslenme yetersizliklerini bir ölçüde önlemede peynire katılan otların etkisi olabileceği ileri sürülmüştür [72]. Ayrıca otların peynire özel bir tat ve aroma kattığını, peynirin besin değeri ve sindirilme derecesiyle depolama süresinin bu otlar sayesinde artırıldığını yöre halkı beyan etmekte ve büyük beğeniyle tüketmektedir. Yapılan araştırmalardan elde edilen sonuçlar bu tespitleri doğrular yöndedir. Otlı peynirlerin dağınık üretim birimlerinde imal edilmesi nedeniyle, üretim miktarları hakkında kesin bir rakam vermek mümkün değildir. Otlı peynirler iki şekilde tuzlanıp olgunlaştırılmaktadır. Bunlardan birincisi salamurada tuzlama, ikincisi ise kuru tuzlamadır. Kuru tuzlanan peynirler çoğunlukla plastik bidonlara basılarak ve ağız ters çevrildikten sonra toprağa gömülerek olgunlaştırılmaktadır. Otlı peynirin halk arasında en çok rağbet göreni “kuru tuzlama” ya da “basma yöntemi” diye tabir edilen yöntemle üretilenidir. Otlı peynir üretimi çok eskilere dayanmakla birlikte halen çözümlenmesi gereken birçok sorunu vardır. Bunlardan üretimde henüz standardizasyona gidilmemiş olması, geleneksel yöntemde kullanılan alet ve ekipmanın illikelliğini koruması, piyasaya arzının hijyenik olmayan şartlarda yapılması, standardının olmaması gibi problemler kayda değer olanlar arasındadır [73].

Otlı peynir üzerinde yapılan bir çalışmada; Otlı peynir tüketilen bölgelerde halkın yaklaşık % 96 gibi büyük çoğunluğunun Otlı peyniri günlük öğünlerde ve her mevsimde tükettiği anlaşılmaktadır. Çalışmada verilen bilgilere göre, tüketicileri büyük kesimi peynirde ot oranının normal düzeylerde olmasını tercih etmektedirler. Tüketiciler peynirde daha çok yöresel adıyla Sirmo otunu veya Sirmo'nun diğer otlarla karışık olarak bulunmasını arzu etmektedir. Yörede Otlı peynir tüketiminin alışkanlık halini aldığı belirtilen çalışmada, bu alışkanlıkta otların tat ve aromasının etkili olduğu düşünülmektedir. Otlı peynirlerin tuzluluk derecelerinin, kabul edilebilir sınırlar içerisinde olması gerektiğinin de altı çizilmiştir. Halkın büyük çoğunluğu Otlı peyniri plastik ambalajlara basarak olgunlaştırmayı tercih etmektedir. Otlı peynir tüketicileri günlük/aylık/yıllık ihtiyaçlarını ya kendileri üreterek karşılamakta veya taze alıp ihtiyaca göre plastik kaplara basarak olgunlaştırmak suretiyle karşılamakta ya da satın alma yoluna gitmektedir. Alternatif olarak Otlı peynirler bir aydan yine yaklaşık bir

yıla kadar toprak altında olgunlaştırılmaktadır. Fakat çoğunlukla olgunlaşma süresi 3- 4 ay veya 5-6 ay civarında gerçekleşmektedir. Otlu peynir plastik ambalajlara basılırken kap içerisinde boşluk kalmamasına dikkat edilmekte ve peynir kalıpları arasındaki boşlukları kapatmada yöresel adıyla cacık (çökelek) kullanılmaktadır. Cacık daha çok belirli otlarla karıştırılarak kullanılmaktadır. Bunun yanında sade cacık, sade lor, otlu lor, sade ot, sade yoğurt, sarımsaklı yoğurt, peynir kırıntısı, tuz, maydanoz ve yeşilbiber gibi dolgu maddeleri de kullanılmaktadır. Yörede kişi başına Otlu peynir tüketiminin yılda ortalama 14,74 kg olarak gerçekleştiği ifade edilmektedir. Bu rakam Türkiye ortalamasının (3,2 kg/yıl) çok üzerindedir [73, 74].

1.4. Otlu Peynir Yapımında Kullanılan Yabani Otlar

Halk arasında otların peynire katılış amacı; peynire aroma kazandırmak, peyniri daha uzun süre muhafaza etmek ve hazımın kolay olmasını sağlamak şeklinde sıralanmaktadır. Peynire katılan yabani otların sayısı 25 civarındadır. Bu otların latince adları, mahalli adları ve kullanım alanları Çizelge 1.4’de sunulmuştur.

Tamamı otsu kabul edilebilecek bu bitkiler dağların yüksek kesimlerinde doğal olarak yetişmektedir. Uzun yıllardan beri Van yöresinde değişik gıdaların hazırlanması veya direkt olarak tüketilmesi nedeniyle doğadaki rezervleri azalmaya yüz tutmuştur. Bu bağlamda bu bitkilerin gelişigüzel toplanmaması ve toplama işleminin kontrollü yapılması gerekmektedir. Yörede süt ürünlerinde yaygın olarak kullanılıyor olmaları bu önlemleri almayı gerekli kılmaktadır. Aksi halde ileride doğada bu bitkileri bulmak mümkün olmayabilir [73, 75].

Çizelge 1.4. Otlu peynire katılan yabani otların latince adları, mahalli adları ve kullanım alanları [75]

Latince adı	Mahalli adı	Kullanım alanı
<i>Ranunculus polyanthemos</i> L. (<i>Ranunculaceae</i>)	Çünk	Otlu peynire ve cacığa katılır
<i>Nasturtium officinale</i> R. Br. (<i>Brassicaceae</i>)	Tere	Otlu peynire katılır, direkt tüketilir
<i>Gypsophila</i> L. Spp. (<i>Caryophyllaceae</i>)	Çöven	Otlu peynire katılır
<i>Silene vulgaris</i> (Moench) Garcke var. <i>Vulgaris</i> (<i>Cayophyllaceae</i>)	Siyabo	Otlu peynire, yayla çorbasına, cacığa katılır.
<i>Anthriscus nemorosa</i> (Bieb.) Sprengel (<i>Apiaceae</i>)	Mendi, Mendo	Süt ürünlerine katılır ve yemeği yapılır.

Çizelge 1.4. (Devamı)

Latince adı	Mahalli adı	Kullanım alanı
<i>Ferula rigidula</i> DC. (<i>Apiaceae</i>)	Heliz	Süt ürünlerine katılır, sebze olarak tüketilir
<i>Thymus kotschyanus</i> Boiss. Et Hohen. Var. <i>Glabrescens</i> Boiss. (<i>Lamiaceae</i>)	Catır, Zater, Kekik	Peynire katılır, baharat olarak kullanılır
<i>Allium fuscoviolaceum</i> Fomin (<i>Liliaceae</i>)	İt soğanı, sirmo	Peynire-cacığa katılır ve baharat olarak kullanılır
<i>Allium scorodoprasum</i> L. subsp. <i>rotundum</i> (L.) Stearn (<i>Liliaceae</i>)	Çatlanguş, sirmo	Süt ürünlerine katılır ve baharat olarak kullanılır
<i>Allium aucheri</i> Boiss. (<i>Liliaceae</i>)	Sirno, sirim	Peynire ve cacığa katılır
<i>Allium paniculatum</i> L. subsp. <i>paniculatum</i> (<i>Liliaceae</i>)	Sirno, handuk	Peynire katılır
<i>Allium akaka</i> S.G. Gmelin (<i>Liliaceae</i>)	Kuzukulağı	Süt ürünlerine katılır, soğan olarak kullanılır ve yemeği yapılır
<i>Allium cf. Cardiostemon</i> Fisch. Et Mey. (<i>Liliaceae</i>)	Sirno, sirik	Peynire ve cacığa katılır
<i>Thymus migricus</i> Klokov et Des.-Shost. (<i>Lamiaceae</i>)	Catır, Zater, Kekik	Peynire katılır, baharat olarak kullanılır
<i>Mentha spicata</i> L. subsp. <i>Spicata</i> (<i>Lamiaceae</i>)	Yarpuz, Pünye	Peynire katılır, baharat olarak kullanılır
<i>Ziziphora clinopodioides</i> Lam. (<i>Lamiaceae</i>)	Keklikotu, kekikotu	Peynire katılır, baharat olarak tüketilir
<i>Ocimum basilicum</i> L. (<i>Lamiaceae</i>)	Reyhan	Süt ürünlerinde ve baharat olarak kullanılır
<i>Eremurus spectabilis</i> Bieb. (<i>Liliaceae</i>)	Çiriş	Peynire katılır ve sebze olarak kullanılır
<i>Carum carvi</i> L. (<i>Apiaceae</i>)	Tarakotu	Otlu peynire katılır
<i>Anethum graveolens</i> L. (<i>Apiaceae</i>)	Dereotu	Süt ürünlerine katılır, direkt tüketilir
<i>Prangos pabularia</i> Lindl. (<i>Apiaceae</i>)	Heliz, Kerkur	Süt ürünlerine katılır, besicilikte maraz giderici olarak kullanılır
<i>Prangos ferulacea</i> (L.) Lindl. (<i>Apiaceae</i>)	Heliz	Süt ürünlerine katılır, besicilikte maraz giderici olarak kullanılır
<i>Ferula</i> L. Sp. (<i>Apiaceae</i>)	Hitik	Süt ürünlerine katılır, sebze olarak tüketilir
<i>Ferula orientalis</i> L. (<i>Apiaceae</i>)	Heliz	Süt ürünlerine katılır, sebze olarak tüketilir

Otlu peynir yapımında zambakgiller (*Liliaceae*), karanfilgiler (*Caryophyllaceae*) ve düğün çiçeğigiler (*Ranunculaceae*) gibi familyalara ek olarak, ballıbabagiller (*Labiatae*) ve maydanozgiller (*Umbelliferae*) familyalarına ait bitkiler de kullanılmaktadır [76].

Otlu peynir yapımında en çok kullanılan bitkiler sırasıyla Sirmo, Mendo ve Heliz'dir. Otlar peynire ayrı ayrı katıldığı gibi karışım halinde de katılabilmektedir. Sirmo bitkisinin çok kullanılmasının nedeni; diğerlerine göre daha yaygın ve fazla yetişmesi ile tadının ve aromasının Otlu peynirde daha fazla arzu edilmesinden kaynaklanmaktadır.

Öztürk ve ark. [77] yaptıkları bir çalışmada Otlu peynire katılan 61 çeşit bitki türü ve bu türlerin 9 ayrı familyaya ait bitkiler olduğunu belirlenmişlerdir. Bu familyalardan 19 tür ile en fazla türe sahip olan *Apiaceae* (Maydanozgiller) ilk sırada, 15 tür ile *Liliaceae* (Zambakgiller) ikinci sırada ve 12 tür ile *Lamiaceae* (Nanegiller) üçüncü sırada yer almıştır. Bunlardan *Lamiaceae* ve *Apiaceae* özellikle hoş kokulu bitkileri kapsamaktadır. Peynire katılan *Liliaceae* türlerinin, *Eremurus spectabilis* hariç olmak üzere, esasen çeşitli yabancı soğan türleri olduğu belirtilmiştir.

Otlu peynirde bitki kullanımı yöreye göre değişmektedir. Örneğin kaliteli Otlu peyniriyle meşhur Van'ın Görentaş Köyünde ağırlıklı olarak Sirmo, Kekik ve Mendo türleri kullanılırken; Gürpınar ilçesinde Kekik, Çatak ilçesinde Heliz, Bahçesaray ilçesinde Sirmo ve Siyabo, Siirt'te Sirmo, Dirik ve Zater türleri kullanılmaktadır. Erciş ve Bahçesaray gibi ilçelerin yüksek yerleşim merkezlerinde Sov otu ağırlıktadır. Sov otu (*Heracleaum sp.*) sadece ülkemizde yetişmekte olan bir bitkidir [73, 76].

Baharın gelmesiyle filizlenen bu bitkiler, çiçeklenmeden önce yaprakları ve taze gövdeleri toplanarak ya salamura yapılmakta veya direkt peynir yapımında kullanılmaktadır. Salamura yapımında toplanan otlar iyice yıkanarak toz, çamur ve kirleri giderildikten sonra kıyılmakta uygun kaplara konmaktadır. Üzerine tuzlu su dökülerek 15 -20 gün bu şekilde bekletildikten sonra kullanılmaktadır. Otlar peynire ve cacığa katılacağı zaman tuzu yıkayıp giderildikten sonra veya direkt olarak da katılabilmektedir. Heliz gibi otlar zehirli olduklarından peynir suyunda iyice kaynatılır, yıkanır ve tuzlanarak kullanılır. Ot hazırlamada kullanılan salamura tuz oranı % 16'dan az olacak şekilde ayarlanmaktadır [73].

Otların peynire katılış oranının bölgelere göre farklılık gösterdiği ve genellikle % 0,1-15 arasında değiştiği bildirilmektedir [72]. Tüketiciler otu az olan peyniri tercih etmekte ve otu fazla olan peynirler kabul görmemektedir. Salamura otlar 50 kg'lık plastik bidonlara sıkıca basılarak, üzeri salamura suyu ile tamamlanmakta, ağızları kapatılmakta ve serin bir yerde saklanmaktadır. Otlar salamura olsa da kullanım boyunca mümkünse +4 °C' de saklanmalıdır [73].

Salamura otlar üzerine yapılan bir çalışmada; otların içinde bulunduğu suların pH

değeri 3.85, asitlik değeri %1,06 ve tuz oranı % 5,82 şeklinde saptanmıştır. Salamura otlarda toplam mikroorganizma sayısı 5,73 log kob/g, koliform sayısı 3,31 log kob/g ve maya-küf sayısı 6,09 log kob/g olarak bulunmuştur [78].

Otlu peynirde kullanılan bazı taze otlar vitamin C yönünden araştırılmıştır. Taze otlarda belirlenen vitamin C miktarları mahalli adlarıyla Sirmo'da (*Allium sp.*) ortalama 77,07 mg/100 g, Siyabo'da (*Silene sp.*) 5,02 mg/100 g, Mendo'da (*Anthriscus sp.*) 3,87 mg/100 g, Heliz'de (*Ferula sp.*) 3,87 mg/100 g şeklinde olmuştur [74]. Bu sonuçlar bize, kışın uzun sürdüğü yörede söz konusu bitkilerin peynire ve diğer süt ürünlerine katılması suretiyle, belli ölçüde vitamin ihtiyacının karşılandığını göstermektedir. Dünya çapında üretilen birçok peynirde vitamin C bulunmamaktadır.

1.4.1. Otların peynirin özellikleri üzerine etkisi

Yabani bitkilerin veya baharatların gıda maddelerine tat ve aroma verici olarak katıldığı yüzyıllar öncesinden bilinmekte [79], günümüzde de bu gibi bitkilerin aynı amaçla ve hatta değişik tıbbi tedavi yöntemleri için kullanıldığı da bilinmektedir [80]. Soğan, sarımsak, kekik ve nane gibi baharatların kendileri ya da özütleri üzerine gerçekleştirilen araştırmalarda başta *E. coli* olmak üzere bazı patojen bakterilerin ve ayrıca maya-küflerin gelişmesini inhibe ettikleri ortaya konmuştur [73]. Van Otlu peynirinde kullanılan otlarda da benzer etkiler söz konusudur. Kekik, Nane, Sirmo ve Mendo bulunan besiyerlerinde koliform grubu mikroorganizma gelişimi yavaşlamıştır [81].

Kullanılan yabani otlar, peynirin duyuusal özellikleri, bilhassa tipik tat ve aroması üzerinde önemli etkiye sahiptir [81]. Peynirin üretim, ambalajlama ve olgunlaştırma şartları dikkate alındığında, yabani otlardan gelen antimikrobiyel etkinin yeterli olmayacağını söylemek mümkündür. Bundan dolayı Otlu peynir yapımında da genel hijyenik kurallara uyulmalı, süt pastörize edilmeli ve sonradan meydana gelebilecek bulaşmalar önlenmelidir.

Otlu peynir yapımında kullanılan otlardan *Allium sp.*, *Thymus sp.*, *Anhriscus sp.* ve *Ferule sp.*'nin süt ve ürünlerinde ve özellikle de peynir üretiminde starter kültür olarak kullanılan mezofilik laktik asit bakterileri (*Lc. lactis* subsp. *lactis* ile *Lc. lactis* subsp. *cremoris*) üzerine olumsuz bir etkisi belirlenmemiştir. İlaveten, yabani otlar laktik asit bakterilerinin asit üretimini teşvik etmiştir [82]. Aynı otların termofilik laktik asit bakterileri olan *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* üzerinde benzer etkileri tespit edilmiştir [83]. Peynir gibi değişik gıdalarda kullanılan baharat esaslı bitkilerde bulunan antibakteriyel bileşiklere karşı laktik asit

bakterilerinin genelde dayanıklı olduğu tespit edilmiştir [84].

Otlu peynirde ot oranı (*Allium* sp.) arttıkça olgunlaşma boyunca suda eriyen azot, trikloroasetik asitte eriyen azot ve fosfotungustik asitte eriyen azot oranları artmaktadır. Kısaca peynirde ot oranı artışı proteolitik parçalanmayı hızlandırmaktadır. Aynı durum lipolitik parçalanma için de geçerlidir [85]. Ot oranı artışıyla proteoliz ve lipolizde meydana gelen artış, otlarla peynire bulaşan mikroorganizmaların etkisinden kaynaklanabilir. Otlu peynire katılan otlardan mahalli adıyla Siyabo'nun peynirde renk ve görünüş gibi duyuşsal özellikleri olumsuz etkilediği, fakat tat ve aroma özelliklerini de olumlu yönde etkilediği bildirilmiştir. Siyabo'nun tat ve aroma üzerine olumlu etkisi, peynirdeki olgunlaşma parametrelerinde de kendini göstermiş ve Siyabo ilaveli Otlu peynirlerde daha fazla olgunlaşma indeksi ile daha fazla proteolitik ve lipolitik parçalanma saptanmıştır [86].

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Ülkemizde Otlı peynir üretiminde kullanılan otların kimyasal bileşimi üzerine yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak otların peynire katılmasından sonra peynire olan etkilerine yönelik bazı çalışmalar bulunmaktadır. Bunlardan bazıları Beyaz ve Otlı peynirde bazı metal kalıntı düzeylerinin belirlenmesi [88], Van Otlı peynirlerinin nitrit ve nitrat düzeyleri [88], Van Otlı peynirlerine katılan otların peynirin duysal, fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik niteliklerine, olgunlaşmasına etkileri [81], Van Otlı peynirine ot katma oranları üzerine araştırma [89], Otlı peynir üretiminde kullanılan otların vitamin C içeriklerinin belirlenmesi [74], ot kullanımının peynirin lipoliz ve proteoliz özelliklerine etkisi üzerine değerlendirmeler [85] gibi çalışmalardır. Ayrıca Van Otlı peynir yapımında kullanılan otların sistematigi de belirlenmiştir [75,77].

Bunlara ilave olarak Otlı peynirde otların mikrobiyolojik etkilerinin saptanmasına yönelik çalışmalar da bulunmaktadır. Bu çalışmalarda otların antimikrobiyel etkileri genellikle peynir üzerinden hareket edilerek belirlenmeye çalışılırken, bu çalışmada saf kültür kullanımı ile otların mikroorganizmalara etkisi belirlenmiştir. Sözü edilen çalışmalarda Ankara'da satışa sunulan Otlı peynirlerin mikrobiyolojik özellikleri saptanmış [90], Kozluk-Batman bölgesinde satışa sunulan Otlı peynirlerin mikrobiyolojik özellikleri üzerine çalışma yapılmış [91], Van Otlı peynirinde *Brucella* varlığı ve dayanımı saptanmış [92], Van Otlı peynirleri ile olgunlaşma süresince mikrobiyolojik özellikleri incelenmiştir [82, 93, 94].

Van Otlı peyniri üretiminde kullanılan otların antioksidan özellikleri CUPRAC, ABTS/persulfate, FRAP, and Folin metotları kullanılarak belirlenmiş durumdadır. Bu çalışmada uygulanan yöntemlerin sonuçları kıyaslanarak antioksidan kapasite değerlendirmesinde hangi yöntemin daha uygun sonuç verdiği belirlenmiştir [95].

Baharatların genel bileşimi diğer bitkisel ürünlerde olduğu gibi başta iklim ve yetiştirme şartları olmak üzere birçok etkene bağlı olarak farklılık gösterir. Burada en önemli unsur, baharata özgü özellikleri veren uçucu bileşikler (uçucu yağlar) ile uçucu olmayan tat ve renk maddeleridir (alkoloitler, karotenoidler). Bunların dışında çok sayıda farklı kimyasal bileşikler de içermektedirler. Bunlar; su, karbonhidratlar, azotlu bileşikler, lipitler, glikozitler, organik asitler, vitaminler, enzimler, mineraller, antimikrobiyeller, kükürtlü bileşikler, reçineler, terpenler ve aromatik maddelerdir.

Literatürde yabancı otların süt ürünlerinde raf ömrünü uzatma amaçlı kullanımına yönelik birkaç çalışma bulunmaktadır. Bunlardan birinde Tulsi (*Ocimum sanctum* L.)

yapraklarının bileşiminde yer alan fenolik maddelerin sahip olduğu antioksidatif özellik sayesinde ghee'nin (tereyağından elde edilen sadeyağ) oksidatif stabilitesini arttırdığı belirlenmiştir [96].

Değişik antioksidan karışımlarının tek başlarına kullanımlarına göre daha iyi antioksidan özellik gösterdiğini bildirmiştir. Bu nedenle süt ürünlerine ot ilavesinin antioksidan kapasiteyi arttıracığı düşünülmektedir. Bu bağlamda meyve preparatlarının süt ürünlerine ilavesinin depolama esnasında antioksidan kapasiteyi arttırdığı bildirilmiştir [97].

Büyük miktarlarda polifenoller gibi antioksidan maddeleri içeren birçok medikal bitkinin aktif oksijen oluşumu ve lipid peroksidasyonu sonucu ortaya çıkan yaşlanma ve stresle alakalı hastalıkları önlemede etkili olacağı belirlenmiştir [98].

Doğu Anadolu bölgesinde yarı kurak Akdeniz ikliminin olduğu Van bölgesine ek olarak Muş, Bitlis gibi kışları soğuk geçen bölgelerde çeşitli otların ilavesiyle elde edilen peynir halk arasında Otlu peynir olarak bilinmektedir. Bölgesel Otlu peynir üretiminin 200 yıldan beri devam ettiği düşünülmektedir. Bu amaçla yabancı sarımsak (*Allium*) türleri antimikrobiyel koruma ve aroma sağlaması amacıyla kullanılan otların başında gelmektedir. Otların bu fonksiyonlarına ek olarak soğuk kış aylarında taze sebze tüketiminin sınırlı olduğu dönemlerde, yöre halkının vitamin ihtiyacını karşılamaya yönelik faydaları da bulunmaktadır [73, 74].

Antioksidanların serbest radikal süpürme güçlerini belirlemede DPPH serbest radikali yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Antioksidanlar DPPH ile etkileşime girerek elektronlarını veya hidrojen atomlarını vermek suretiyle DPPH'nin serbest radikal özelliğini nötralize etmektedir. [99]. Antioksidan özellik taşıyan ve bitkisel yapılarda bolca bulunan polifenoller kapsamında yer alan taninler, flavonoidler yüksek polar ekstraktlar içerisinde yer almaktadır [100]. Fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesinin redoks potansiyellerine bağlı olduğu ve bu özellik sayesinde serbest radikallerin etkisini yok ettiği veya singlet/triplet oksijen süpürme veya peroksitleri parçalama işlevlerinin yerine geldiği bilinmektedir [101]. Bileşimde yer alan diğer bileşiklerin biyoaktif bileşiklerin biyolojik veya kimyasal özelliklerini etkileyebileceği düşüncesiyle bitkisel yapılardan sözü edilen antioksidan maddelerin izolasyonu yerine organik ekstraktlarının kullanımı tercih edilmektedir [102].

Bitki orijinli esansiyel yağ ve ekstraktlar gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır ve genellikle güvenilir (GRAS; Generally Recognized as Safe) olarak kabul edilmektedir. Esansiyel yağ ve bitki ekstraktlarının antimikrobiyel aktivitesi

üzerine birçok çalışma yapılmıştır [103]. Bazı araştırmacıların bildirdiğine göre fenolik yapıda olan mono ve sekse terpenoitler esansiyel yağların temel bileşimidirler. Aynı şekilde antimikrobiyel etkinin de fenolik bileşiklerin etkisinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir [104]. Yapılan birçok çalışma fenolik bileşiklerin hücre membranlarına etkileri üzerine yoğunlaşmıştır. Fenolik bileşikler bakteri hücre duvarı ve membranlarını etkileyerek, geçirgenliklerinde olumsuz değişime neden olurken, aynı zamanda elektron transportu, DNA sentezi veya enzim aktivitesi gibi membran fonksiyonlarıyla da etkileşimde bulunmaktadır. Bu şekilde fenolik bileşikler bakteriyel inhibisyonu sağlamaktadır.

Baharat ve türevlerinin mikrobiyel etkisi besiyeri ortamında farklı yöntemlerle belirlenebilmektedir. Bu yöntemlerin başlıcaları; difüzyon, dilüsyon ve buhar fazıdır. Denenen bitki materyali ve türü, test tekniği, mikroorganizma türü, materyal ve mikroorganizma konsantrasyonu gibi birçok faktör değişik sonuçlar alınmasına neden olabilmektedir. Mikroorganizmaların üremesinin durdurucu veya önleyici etkisi, son bulgulara göre ekstrakt ya da uçucu yağda en çok bulunan bileşiklerden kaynaklanabilmektedir [61].

Bazı uçucu yağların spesifik olarak Gram pozitif bakterilerin aktivitesini engellediği ve Gram negatif bakterilerin ise bitkisel kaynaklı esansiyel yağlara karşı dirençli olduğu bildirilmiştir [105]. Gram negatif bakterilerin hidrofilik hücre duvarlarında yer alan lipo-polisakkarit yapı hidrofobik yağların penetrasyonunu engellemesi sayesinde bu etkinin oluştuğu saptanmıştır [106].

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasallar

Kullanılan bütün kimyasallar ‘‘Sigma’’ firmasından temin edilmiştir. Farklı firmalardan temin edilen kimyasalların satın alındığı firma parantez içerisinde belirtilmiştir. Bu tez çalışmasında; aseton, metanol, DPPH, ABTS, β -karoten, 2-propanol, n-hegzan, petrol eteri, sodyum tiyosülfat, potasyum ferri siyanür, ferik klorür, hidroklorik asit, sodyum klorür, PBS (fosfat tamponu tuzu), potasyum klorür, sodyum karbonat, sodyum-potasyum tartarat, bakır sülfat, folin-fenol belirteci, kullanılmıştır. Aroma maddelerin RI (retention index) değerlerinin belirlenmesi amacıyla kullanılan hidrokarbon standardı (C10-C26) Labor Dr. Ehrenstorfer-Schafers'dan (Augsburg, Almanya) sağlanmıştır.

Ayrıca antimikrobiyel aktivitenin belirlenmesinde kullanılan mikroorganizmalar ve sağlandıkları yerler şu şekildedir:

Gram Pozitif Bakteriler;

- Staphylococcus aureus* → Refiksaydam Hıfısısıhha Merkezi (RSHM) (Ankara)
No: 1021/06008
- Bacillus cereus* → RSHM No: 869
- Enterococcus faecalis* → İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji Laboratuvarı
- Streptococcus* → İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji Laboratuvarı
- MRSA* → İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji Laboratuvarı

Gram Negatif Bakteriler;

- Shigella flexneri* → RSHM No: 184
- Enterobacter* → İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji Laboratuvarı
- Salmonella* → İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji Laboratuvarı
- Escherichia coli* → İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji Laboratuvarı
- Klebsiella* → İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji Laboratuvarı

Maya:

Candida albicans → RSHM No: 04055, Amerikan kültür koleksiyonu (ATCC) 90028

Bakteriler Nütrient Agar'da (Oxoid, Hampshire, İngiltere), maya ise Sabouraud Dextrose Agar'da (Merck, Darmstadt, Almanya) +4 °C' de muhafaza edilmiştir. Test edilecek mikroorganizmaların aktifleştirilmesinde besiyeri olarak Brain Heart İnfusion (BHI) Broth (Merck, Darmstadt, Almanya) kullanılmıştır. Analiz yapılmadan bir gün önce kültürler önceden hazırlanarak BHI brotlara ekilmiştir. 37 °C' de 24 saatlik inkübasyonun ardından antimikrobiyel denemelerde kullanılmıştır.

3.2. Kullanılan Alet, Ekipman ve Cihazlar

UV-VIS spektrofotometre, HPLC (yüksek performanslı sıvı kromatografisi) sistemi, GC-FID (Gaz kromatografisi-Alev iyonizasyon dedektörü) sistemi, GC-MS (Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi sistemi) su banyosu, vorteks karıştırıcı, soğutmalı ve normal santrifüj cihazları, etüv, otomatik büret, otomatik pipet seti tez kapsamında kullanılan ekipman ve düzeneklerdir.

3.3. Materyal

Van İli'nden Otlu peynir üretiminde kullanılan otlar arasından en yaygın olanlardan beş tanesi seçilmiştir. Bunlar sırayla şu şekildedir: Sirmo (*Allium schoenoprasum* L.), Mendi (*Anthriscus nemorosa* (Bieb.)), Siyabo (*Silene vulgaris* (Moench) Garcke var.), Yabani Nane (*Mentha spicata* L. Subsp. *spicata*), Heliz (*Ferula orientalis* L. (Apiaceae). Mayıs-Haziran aylarında otlardan ikişer örnek toplanarak ambalajlanıp laboratuara getirilmiş ve kullanılıncaya kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.4. Yöntem

3.4.1. Otların dondurularak kurutulması

Çalışmada kullanılan otlar dondurularak kurutulmuş, antioksidan ve antimikrobiyel özelliklerin belirlenmesinde kullanılmıştır. Kurutma de Ancos et al [107], tarafından önerildiği şekilde yapılmıştır. Bu işlem için, laboratuara getirilen otlar önce toprak ve yabancı madde kısımlarından ayrılmış, küçük parçalara kıyılarak derin dondurucuda yaklaşık 6-8 saat süre ile dondurulmuştur. Dondurucudan alınan numuneler dondurarak kurutucu (freeze-drier) cihazına (Armfield, England) konulmuştur. 5 mm-Hg basınç ve -50 C° kondenser sıcaklığında kurutulmuştur. Her bir kurutma işlemi 12-15 saat sürmüştür.

3.4.2. Ekstrakt hazırlanması

Otlarda bulunan antioksidan bileşiklerin etkisini belirlemede kullanılmak üzere farklı polariteye sahip organik çözücüler (su, metanol, etanol ve etil asetat) kullanılarak ekstraktlar elde edilmiştir.

Bu amaçla dondurularak kurutulmuş otlardan yaklaşık 0,5 g alınarak 50 mL çözücüde çözülerek, homojenizatörde (Ultra-Turraks) 13500 devir/dakika hızla 2 dakika parçalanmıştır. Bir gece bekletildikten sonra Whatman No:1 süzgeç kağıdından süzülüş, üstte kalan katı kısma 30 mL ilave çözücü ilave edilerek ikinci bir ekstraksiyon yapılmış ve ekstraktlar birleştirilmiştir. Her bir süzütünün hacmi kendi çözücüsü kullanılarak 100 mL'ye tamamlanmıştır.

3.4.3. Bileşim analizleri

3.4.3.1. Nem miktarının belirlenmesi

Rutubet miktarı tayini, 80 °C'de sabit ağırlık elde edilinceye kadar infrared kurutucu (OHAUS MB45) kullanılarak yapılmıştır.

3.4.3.2. Kül miktarının belirlenmesi

Toplam kül miktarı tayini TS 2131'de tanımlandığı şekilde [108] yapılmıştır. Bu yöntemde önce içine numune tartılacak olan porselen kapsüller 550 °C'ye ayarlanmış elektrikli kül fırınında yaklaşık bir saat süreyle ısıtılmıştır. Kapsüller desikatörde oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra 0,5 mg duyarlıkta tartılmıştır. Daha sonra yaklaşık 2 g numune porselen kapsül içine 0,0001 g duyarlıkta tartılmıştır. Deney numunesi tamamen yanıcaya (karbonlaşıcaya) kadar kapsül metal yüzeyli ısıtıcı üzerinde ısıtılmıştır. Numune, 550 °C'a ayarlanmış elektrikli kül fırınında (Protherm. PLF120/7) yaklaşık 2 saat süreyle yakılmıştır. Kapsül soğutulduktan sonra içerisindeki kül saf suyla nemlendirilmiş, önce su banyosunda daha sonra metal yüzeyli elektrikli ısıtıcıda kurutulmuştur. Sonra tekrar 550 °C'a ayarlanmış elektrikli kül fırınında yakılmıştır. Desikatörde soğutulmuş ve 0,0001 g duyarlıkta tartılmıştır. Birbirini izleyen iki tartım arasındaki fark 0,0005 g'dan az oluncaya kadar ısıtma, desikatörde soğutma ve tartım işlemlerine devam edilmiştir. Toplam kül miktarı kütlece yüzde olarak aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

$$w = \{(m_3 - m_1) / (m_2 - m_1)\} \times 100$$

w = Toplam Kül muhtevası, %

m₁= Boş kapsülün kütlesi, g

m₂= Deney numunesi ve boş kapsülün kütlesi, g

m₃= Tayinde elde edilen kalıntı ve boş kapsülün kütlesi, g

3.4.3.3. Besinsel lif tayini

Besinsel lif miktarı, AACC toplam besinsel lif metodu ve AACC çözümlü/çözünmez besinsel lif metodunda bazı modifikasyonlar yapılarak belirlenmiştir [109]. Bu yöntemde, 1gr numune ısıya dirençli α -amilaz enzimi, proteaz enzimi ve amiloglukozidaz enzimleri ile birbirini takip eden bir enzimatik parçalanmaya uğratılmıştır. Çözünür/çözünmez besinsel lif miktarının tespiti için, çözünmez besinsel lif filtre (geçirgenlik derecesi P;100) edilerek ve kalıntı yıkanmıştır. Filtrat solüsyonu ve yıkama suyu birleştirilmiş etilalkol ile çöktürülmüştür. Toplam besinsel lif miktarının tespiti için bir önceki aşamada elde edilen çözünür besinsel lif, etilalkol ile çöktürülmüş ve kalıntı filtre edildikten sonra tartılmıştır. Toplam besinsel lif değeri, protein ve kül içeriğine göre % olarak hesaplanmıştır.

3.4.3.4. Yağ miktarının belirlenmesi

Soxhelet Ekstraktörü ve çözücü olarak dietileter kullanılarak otlardan yağ ekstrakte edilmiştir. Kurtulmuş olan numuneler, öğütücü kullanılarak partikül çapları 1 mm den daha düşük oluncaya kadar öğütülmüştür. Daha sonra öğütülmüş olan numuneden ekstraksiyon kartuşlarına 0,0001 g hassasiyetle yaklaşık 10 g tartılmıştır. Kartuşların ağızları pamukla kapatılarak ekstraktöre yerleştirilmiştir. Çözücü olarak dietileter kullanılmış ve kartuşlar 15-16 saat süre ile ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Ekstraksiyon sonunda çözücü rotary evaporatörde uzaklaştırılmış ve elde edilen yağ ekstraktı gravimetrik olarak belirlenmiş ve sonuçlar % yağ miktarı olarak verilmiştir.

3.4.3.5. Yağ asidi bileşiminin belirlenmesi

Soxhelet ekstraksiyonu ile elde edilen yağ kullanılarak bileşim belirlenmiştir. Yağ asidi metil esterleri Şahin ve ark.'nın [110] kullandığı yöntemle göre hazırlanmıştır. Yaklaşık 40 mg yağ, amber renkli viallere tartılmış ve üzerine 3 mL % 6 HCl içeren metanol eklenmiştir. Vialler vortekslenmiş ve 75 °C'ye ayarlanmış bir etüvde 2 saat bekletilmiştir. Etüvden çıkarılan vialler buz içerisinde bekletilerek soğutulmuş, her bir vialde 2 mL hegzan eklenerek çalkalanmış ve 2000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenmiştir. Hegzan fazı bir pastör pipetiyle alınarak incelenmek üzere viallere alınmıştır.

Yabani ot yağlarının yüzde yağ asidi bileşimi Agilent 7890A Gaz kromatografi sistemi, 7683B serisi oto enjektör ve alev iyonizasyonu dedektörü (FID) ile belirlenmiştir. Kromatografik ayırım için DB-23 kapillar GC kolonu (60 m × 0.25 mm, 0.25 µm film kalınlıklı; J&W Scientific, USA) kullanılmıştır. Analiz şartları; enjektör sıcaklığı; 250 °C, dedektör sıcaklığı; 250 °C, fırın sıcaklığı programı; 140 °C'de 5 dakika, 4 °C/dakika artışla 240 °C ve bu sıcaklıkta 10 dakika bekleyecek şekilde

belirlenmiştir. Taşıyıcı gaz olarak helyum (30 mL/dk akış hızıyla) kullanılmış ve 1:30 split modu seçilmiştir. Ticari yağ asidi metil esterleri karışımı, dış standart olarak, her bir yağ asidi metil esterinin çıkış zamanını belirlemek için kullanılmıştır. Her bir yağ asidinin % oranı, o yağ asidine ait pikin altında kalan alanının, toplam pik alanına bölümünden elde edilmiştir.

3.4.3.6. Aroma maddelerinin belirlenmesi

Bitki örnekleri $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de dondurulmuştur. Daha sonra buradan 3,0 g örnek 15 mL hacimli vial alınarak $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de 30 dakika bekletilmiştir. Uçucu maddelerin ekstraksiyonunda çözücüsüz teknik kullanılmıştır. Ekstraksiyon işlemi, $75\text{ }\mu\text{m}$ carboxen-polydimethylsiloxane fiber-vial enjeksiyonu ile gerçekleştirilmiştir. Fiber $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de 30 dakika tepe boşluğunda (headspace) tutularak aroma maddelerinin fiber yapısına geçmesi sağlanmıştır. Ekstrakte edilecek uçucu bileşiklerin desorpsiyonu GC-MS sisteminde yapılmıştır. Desorpsiyon sırasında fiber enjeksiyon bloğuna daldırılarak $250\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de 2 dakika bekletilmiştir. Taşıyıcı gaz olarak 1 mL/dakika akış hızında helyum kullanılmıştır. Bileşiklerin ayrımında DB-Wax (60 m, 0.25 mm, 0.25 μm) kolonu kullanılmıştır. Uygulanan fırın sıcaklık programı şöyledir: başlangıçta $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de 2 dakika tutulmuş (desorpsiyon periyodu) ve dakikada $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ olmak üzere sıcaklık $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' ye yükseltilerek bu sıcaklıkta 1 dakika tutulmuştur. Daha sonra sıcaklık dakikada'da $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ artışla $240\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' ye çıkarılmış ve burada 30 dakika tutulmuştur. Kütle spektrometresi 33–450 amu arası set edilmiş (eşik değeri 1000) ve örnekleme hızı dakikada 1.11 tarama olarak ayarlanmıştır. Bitkilerdeki uçucu aroma bileşiklerinin belirlenmesinde Shimadzu GC–2010 gaz kromatografisi sistemi ve buna bağlı Shimadzu QP–2010 kütle spektrometresi sistemi kullanılmıştır. Ayrımı gerçekleştirilen aroma bileşiklerinin tanımlanmasında Wiley, National Institute of Standards and Technology (NIST) kütüphaneleri ve her bir pikin alıkonma zamanları ile hidrokarbon standardının alıkonma zamanları kullanılarak hesaplanan “Retention Index” (RI) değerleri referans alınmıştır. Sonuçlar her bir pikin toplam pik alanına % oranı şeklinde verilmiştir.

3.4.3.7. Toplam karotenoid miktarının belirlenmesi

Toplam karotenoid miktarı Andre ve ark.'nın [111] kullandığı yönteme göre yapılmıştır. Bu amaçla, dondurularak kurutulan ot örneklerinden 200 mg alınarak üzerlerine %1 BHT (buthylated hydroxyanisole) içeren aseton çözeltisinden 4 ml eklenmiş ve tüpler 2 dakika vortekslenmiş ve ardından 4000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Üstteki berrak faz bir başka deney tüpüne alınmış ve ilave aseton ile işlem tekrarlanmıştır. Ekstraktlar 8 mL'ye tamamlanarak çift ışın yollu UV-VIS

spektrofotometrede (Shimadzu UV-1700, Tokyo, Japon), kuvaris küvet kullanılarak 450 nm'de absorbansları okunmuştur.

Standart eğrinin hazırlanmasında:10 mg/L'lik stok çözeltiden hazırlanan 0,5, 1, 3 ve 5 mg/L β -karoten çözeltileri kullanılarak 450 nm'de absorbansları ölçülmüş ve standart eğri elde edilmiştir (Ek 1).

Absorbansı ölçülen otlardan elde edilen ekstraktlarda bulunan toplam karotenoid miktarı elde edilen standart eğri yardımıyla hesaplanmış ve sonuçlar $\mu\text{g/g}$ olarak β -karoten cinsinden ifade edilmiştir.

3.4.3.8. Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi

Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesinde Folin & Ciocalteu [112] yönteminde öngörülen prosedür uygulanmıştır. Bu amaçla farklı çözücüler kullanılarak elde edilen ekstraktlardan 100 μL ekstrakt alınarak suyla 1 mL'ye tamamlanmıştır. zerine 1 mL on kat seyreltilmiş folin reaktifi, 3 dakika sonra 1 mL %2'lik sodyum karbonat eklenmiştir. Oda sıcaklığında 2 saat bekletilen örneklerin absorbansı çift ışın yollu UV-VIS spektrofotometrede (Shimadzu UV-1700, Tokyo, Japon) 700 nm'de belirlenmiştir.

Standart eğrinin hazırlanmasında: 100, 250, 500 ve 750 mg/L konsantrasyonlarında gallik asit çözeltileri hazırlanmış, bunlara örneklere uygulanan işlemler uygulanarak 700 nm'de karşılık gelen absorbans değerleri ölçülmüş ve standart eğri elde edilmiştir (Ek 2).

Absorbansı ölçülen otlardan elde edilen ekstraktlarda bulunan toplam fenolik madde miktarı, daha önce farklı konsantrasyonlarda hazırlanan gallik asit çözeltilerinin absorbans değerlerinden elde edilen standart eğri yardımıyla hesaplanmış ve sonuçlar gallik asit eşdeğeri olarak verilmiştir.

3.5. Antioksidan Kapasite Testleri

Antioksidan kapasite belirlenmesine yönelik yapılan testlerde bölüm 3.4.2.'de elde edilmiş yöntemleri verilen su, metanol, etanol ve etil asetat ekstraktları kullanılmıştır.

3.5.1. DPPH testi

DPPH radikal süpürme gücü Brand-Williams ve ark.'nın [113] uyguladığı yönteme göre yapılmıştır DPPH çözeltisi, metanolde hazırlanmış ve çözeltinin absorbansı 520 nm'de $0,700 \pm 0,020$ olacak şekilde seyreltilmiştir. Su ekstraktı hariç olmak üzere diğer ekstraktların çözücüsü rotary evaporatörde vakum altında uzaklaştırılarak yeniden metanolde çözülmüştür. Su ekstraktı ise çözücüsü uğurulmadan metanol ile belirli hacime kadar tamamlanarak kullanılmıştır. Bu şekilde elde edilen

ekstraktlardan 100 µL tüplere konulmuş ve üzerlerine 2,4 mL DPPH çözeltisi eklenmiştir (25 mg/L metanolde hazırlanmış). 30 dakika karanlıkta bekletilen örneklerin absorbansı çift ışın yollu UV-Vis spektrofotometrede 520 nm'de metanole karşı okunmuştur. Standart antioksidan olarak trolox kullanılmış ve örneklerin antiradikal aktivitesi trolox cinsinden ifade edilmiştir.

Bu amaçla Trolox'un 100 mg/100 ml stok çözeltisi metanol içinde hazırlanmıştır. Daha sonra bu stoktan alınan 100, 200, 300, 400 ve 500 µL çözeltiler metanole 10 mL'ye tamamlanmıştır. Bu çözeltilerden alınan 100'er µL üzerine 2,5 mL DPPH çözeltisi konulmuş ve aynen örneklerde olduğu gibi 30 dakika sonunda çift ışın yollu UV-Vis spektrofotometrede ölçüm alınmıştır. Elde edilen absorbans değerlerine karşı deney karışımlarındaki Trolox miktarı grafiğe geçirilerek standart çalışma eğrisi elde edilmiştir (Ek 3). Daha sonra gerekli seyreltme faktörleri ile çarpılarak, antioksidan kapasite, gram yağda µg Trolox eşdeğeri olarak hesaplanmıştır.

3.5.2. ABTS testi

ABTS radikal süpürme gücü Re ve ark.'nın [114] yöntemine göre yapılmıştır. ABTS radikali, ABTS 'nin 7,8 mL 2,46 mM potassium peroxodisulfate içerisinde 7 mM olacak şekilde çözülüp 16 saat bekletmesiyle elde edilmiştir. Renklenen çözelti 750 nm'de 0.700 ± 0.010 absorbans verecek şekilde metanole seyreltilmiştir. Tüplere 100 µL örnek ekstraktlarından konmuş ve üzerine 2,4 mL seyreltilmiş ABTS çözeltisi eklenmiştir. 6 dakika sonra 750 nm'de metanole karşı absorbans okunmuş ve DPPH yönteminde olduğu gibi sonuçlar trolox cinsinden ifade edilmiştir. Trolox standart eğrisi Ek 4'de verilmiştir. Uygulanan işlemler DPPH testindeki gibi yapılmıştır.

3.6. Antimikrobiyel Aktivitelerin Belirlenmesi

Antimikrobiyel aktivitelerin belirlenmesi Pessini ve ark.'nın [115] yöntemine göre yapılmıştır. Bu amaçla otlardan % 70'lik metanol-su çözücüsü kullanılarak ekstraktlar elde edilmiştir. Metanol rotary evaporatörde uzaklaştırıldıktan sonra geriye kalan kısım dondurularak kurutulmuş ve analizde kullanılıncaya kadar -18 °C'de muhafaza edilmiştir.

Otların antimikrobiyel etkileri Minimum Inhibitory Concentration (MIC) (Minimum inhibitör konsantrasyon) deneyleri ile belirlenmiştir. MIC belirlemelerinde Broth – dilüsyon metodu kullanılmıştır. Broth dilüsyon metodunda Mueller Hinton Broth (Merck, Darmstadt, Almanya) kullanılmıştır. Hazırlanan besiyeri 2900 µL'lik hacimlerinde tüplere dağıtılmıştır. Tüpler 121 °C'de 15 dakika otoklavda tutularak steril edilmiştir. Ot ekstraktlarının stok solüsyonları DMSO (dimetil sülfoksit) kullanılarak

hazırlanmıştır. Aseptik koşullar altında steril tüplere 160 mg bitki ekstraktları tartılmıştır. 10 mL DMSO ilave edilerek her bir bitkinin stok solüsyonu (160 mg/10 mL) hazırlanarak buradan tüplerde son konsantrasyon 1000 µg/mL'den 3,9 µg/mL 'ye olacak şekilde iki kat seri dilüsyonlar steril Mueller Hinton (MH) Broth kullanılarak hazırlanmıştır.

Bitki ekstraktı hazırlama işlemi Çizelge 3.1'de verilen miktarlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.1. Antimikrobiyel aktivite belirlemelerinde kullanılan ekstrakt konsantrasyonları

{ 1 mL ot ekstraktı (160 mg bitki ekstraktı+ 10 mL su) + 3 mL MH broth}(µL)	MH Broth (µL)	Tüpteki son konsantrasyon (µg/mL)
1000	-	1000
500	500	500
250	750	250
125	875	125
62,5	937,5	62,5
31,25	968,5	31,25
15,62	984,4	15,62
7,81	992,2	7,81
3,9	996,1	3,9

2900 µL MH bulduran tüplere bir gece öncesinden aktiveleştirilen mikroorganizma kültürlerinden 100 µL ekim yapılmıştır. Son konsantrasyon 1000 µg/mL'den başlayarak 3,9 µg/mL 'ye kadar hazırlanan bitki ekstraktlarından gerekli miktarda tüplere ilave edildikten sonra tüpler 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda bakteriyel büyüme indikatörü olarak p-iodonitrotetrazolium, 0,2 mg/mL'lik konsantrasyondan 40 µL solüsyonu her bir tüpe ilave edilmiş ve 37 °C'de 30 dakika inkübasyonun ardından tüplerde gerçekleşen renk değişimleri izlenmiştir. Renksiz olan tetrazolium tuzları organizmanın biyolojik aktivitesi sonucunda parçalanmış ve kırmızı renkli ürün açığa çıkmıştır. Böylece mikroorganizma gelişmesinin olduğu tüpler kırmızı, gelişmenin olmadığı tüpler renksiz (bitkinin kendi renginde) görülmüştür.

Deneyde pozitif kontrol olarak ampisilin (100 µg/mL'den 1,56 µg/mL'ye) kullanılmıştır. Ampisilin konsantrasyonları aşağıdaki şekilde belirlenmiştir;

1. 5600 µg ampisilin tartılmış üzerine 14 mL FTS (%0,8 NaCl) ilave edilmiştir. 100 µL mikroorganizma bulunduran 3 mL MH broth'a 1 mL ampisilin solüsyonundan ilave edilerek son konsantrasyonun 100 µg/mL ampisilin olması sağlanmıştır.
2. 5600 µg/14 mL' lik konsantrasyondan 7 mL alınmış ve 7 mL steril FTS ile 14 mL' ye tamamlanmış ve 1 mL ekim yapılmıştır. Böylece son konsantrasyonun 50 µg/mL ampisilin olması sağlanmıştır.
3. Bir önceki aşamada hazırlanan ampisilin solüsyonundan 7 mL alınarak ve 7 mL steril FTS ile 14 mL' ye tamamlanmış ve 1 mL ekim yapılmıştır. Böylece son konsantrasyonun 25 µg/mL ampisilin olması sağlanmıştır.
4. Aynı işlem tekrar edilerek son konsantrasyonun 12,5 µg/mL ampisilin olması sağlanmıştır.
5. Aynı işlem tekrar edilerek son konsantrasyonun 6,25 µg/mL ampisilin olması sağlanmıştır.
6. Aynı işlem tekrar edilir son konsantrasyonun 3,12 µg/mL ampisilin olması sağlanmıştır.
7. Aynı işlem tekrar edilir son konsantrasyonun 1,56 µg/ml ampisilin olması sağlanmıştır.

Negatif kontrol olarak bitki ekstraktı bulundurmeyen (sadece mikroorganizma bulunduran) tüpler kullanılmıştır.

3.7. İstatistiksel Analiz

Araştırma sonuçları one-way ANOVA (tek yönlü varyans analizi) ile incelenmiştir ve otlar arasında incelenen parametrelerin ortalamalarının ve farklı çözücü ekstraktlarının antioksidan kapasite değerleri ortalamalarının birbirinden farklı olup olmadıkları Duncan çoklu karşılaştırma testine göre belirlenmiştir. Sonuçlar ($P < 0,05$) önem seviyesinde değerlendirilmiştir. Farklı grupların istatistiksel olarak önem düzeyleri a,b,c... şeklinde indislerle gösterilmiştir. Tüm istatistiksel analizlerin gerçekleştirilmesinde SPSS paket programı (sürüm 9.1) kullanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Bileşim Analizleri

4.1.1. Nem, kül, besinsel lif ve yağ miktarları

Bileşimleri belirlenen yabancı otların nem, kül, besinsel lif ve yağ miktarları Çizelge 4.1’de verilmiştir. Nem içeriği belirlenen yabancı otlardan Mendi % 91,27 ile en yüksek nem içeriğine sahip iken % 71,79 değeri ile Yabancı Nanedeki nem içeriği en düşük bulunmuştur. Yabancı otların nem içerikleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Çizelge 4.1’de verilen kül ve besinsel lif oranları incelenen otların nem içerikleri kullanılarak hesaplanan kuru madde değerleri üzerinden verilmiştir. Kül içeriği bakımından Sirmo % 18,11 değeri ile en yüksek ve Mendi ise % 11,22 ile en düşük kül oranına sahiptir. Yabancı otlar arasında kül içeriği bakımından Mendi ile Siyabo arasındaki farklılık hariç olmak üzere istatistiksel olarak önemli düzeyde farklıdır ($P<0,05$). Besinsel lif analizi sonuçlarına göre incelenen yabancı otların besinsel lif içerikleri %11,89 (Heliz) ile % 17,02 (Yabancı nane) arasında değişmektedir. Heliz ve Yabancı Nane otları hariç diğer otların besinsel lif içerikleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli düzeyde değildir ($P>0,05$). Organik çözücü kullanılarak Soxhlet ekstraksiyon düzeneğinde gerçekleştirilen yağ tayini sonuçlarına göre incelenen yabancı otların yağ içerikleri %0,09 (Heliz) ile % 26 (Sirmo) arasında değişmektedir ve yağ içerikleri bakımından farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0,05$).

Çizelge 4.1. Yabancı otların bazı bileşimsel özellikleri*

	Nem (%)	Kül (%)	Besinsel Lif (%)	Yağ (%)
Sirmo	87,94 ± 0,11b	18,11 ± 0,04d	13,41 ± 0,40b	0,26 ± 0,01e
Mendi	91,27 ± 0,08d	11,22 ± 0,06a	13,40 ± 0,09b	0,12 ± 0,00b
Siyabo	87,81 ± 0,30b	11,57 ± 0,06ab	13,44 ± 0,33b	0,16 ± 0,01c
Yabancı nane	71,79 ± 0,10a	11,76 ± 0,32b	17,02 ± 0,52c	0,22 ± 0,01d
Heliz	90,85 ± 0,01c	12,43 ± 0,10c	11,89 ± 0,16a	0,09 ± 0,01a

*Aynı sütunda farklı harfleri içeren değerler istatistiksel olarak farklıdır ($P>0,05$).

4.1.2. Yağ asidi bileşimi

Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen lipitlerin gaz kromatografisi ile incelenmesi sonucu belirlenen yağ asidi dağılımına ait veriler Çizelge 4.2’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre ayırımı ve tanımlaması yapılabilen yağ asidi sayısı 20 olarak saptanmıştır. Tanımlanan yağ asitleri 4 C’ludan başlayarak 21 C’lu yağ asitleri arasında olmak üzere palmitik (C16), oleik (C18:1), linoleik (C18:2) ve linolenik (C18:3) asitleri

major yağ asidi olarak içermektedir. Palmitik asit içeriği % 17,64 (Yabani Nane) ile % 26,13 (Sirmo) arasında değişirken yabancı otların palmitik asit içerikleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0,05$). İstatistiksel olarak önemli seviyede farklılık göstermeyen Sirmo ve Heliz örneklerinin oleik asit içeriği %6 seviyelerinde olmak üzere diğerlerinden daha yüksektir ($P<0,05$). Benzer şekilde linoleik asit bakımından aralarında önemli bir farklılık bulunmayan Mendi (% 44,96) ve Heliz (% 45,60) otları bu yağ asidini en yüksek oranda içeren yabancı otlar olarak bulunmuştur. Yabancı otların linolenik asit içerikleri arasında önemli düzeyde farklılık saptanırken ($P<0,05$), Yabani Nane'nin linolenik asit içeriği en yüksek oran (% 53,78). Bu değer aynı zamanda belirlenen yağ asitleri içerisinde yabancı otlarda en yüksek oranda bulunan değere karşılık gelmektedir. Tanımlaması yapılan yağ asitlerine ait istatistiksel değerlendirmeler Çizelge 4.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. Yabancı otların yağ asidi bileşimleri*

	Sirmo	Mendi	Siyabo	Yabani nane	Heliz
C4	0,14 ± 0,07a	0,06 ± 0,01a	-	0,58 ± 0,26b	-
C6	0,46 ± 0,01c	0,12 ± 0b	0,03 ± 0a	0,11 ± 0,03b	0,09 ± 0b
C8	-	-	0,03 ± 0a	-	0,17 ± 0,01b
C10	0,08 ± 0,01a	0,07 ± 0,03a	0,12 ± 0,01b	-	0,05 ± 0a
C12	0,24 ± 0,03c	0,15 ± 0,01ab	0,41 ± 0d	0,12 ± 0,01a	0,16 ± 0,01b
C13	1,07 ± 0,01b	1,68 ± 0,01d	1,57 ± 0,15d	1,27 ± 0,02c	0,71 ± 0,04a
C14	0,46 ± 0,03a	0,65 ± 0,02b	1,27 ± 0,06c	0,63 ± 0,07b	0,54 ± 0ab
C14:1	-	0,38 ± 0,01	0,67 ± 0,02	0,26 ± 0,01	0,13 ± 0
C15	0,66 ± 0,04a	0,60 ± 0,01c	0,24 ± 0,01d	0,25 ± 0,01b	0,99 ± 0a
C15:1	-	0,43 ± 0,02	0,40 ± 0,03	0,42 ± 0,14	-
C16	26,13 ± 0,21e	22,01 ± 0,06c	20,71 ± 0,1b	17,64 ± 0,28a	25,07 ± 0,14d
C16:1	1,08 ± 0,17b	1,23 ± 0,09b	1,08 ± 0,02b	2,62 ± 0,29d	0,39 ± 0,09a
C17	1,83 ± 0,09d	1,41 ± 0,06c	0,46 ± 0a	0,97 ± 0,13b	1,77 ± 0,13d
C17:1	1,65 ± 0,03c	2,89 ± 0,02d	0,32 ± 0,05a	0,29 ± 0,04a	1,23 ± 0,05b
C18	4,19 ± 0,18d	2,03 ± 0,05b	1,47 ± 0,04a	2,56 ± 0,01c	1,85 ± 0,02b
C18:1	6,07 ± 0,15c	3,06 ± 0,07a	3,19 ± 0a	4,22 ± 0,16b	6,15 ± 0,24c
C18:2	38,25 ± 0,17c	44,96 ± 0,32d	26,53 ± 0,35b	12,73 ± 0,28a	45,60 ± 0,09d
C18:3	17,73 ± 0,15c	15,76 ± 0,03b	40,30 ± 0,47d	53,78 ± 0,69e	14,19 ± 0,35a
C20:0	-	1,22 ± 0,09b	0,74 ± 0,17a	0,87 ± 0,18ab	0,47 ± 0,21a
C21:0	-	1,31 ± 0,4c	0,45 ± 0,08a	0,69 ± 0,07b	0,53 ± 0,27ab

* Aynı satırda farklı harfleri içeren değerler istatistiksel olarak farklıdır ($P>0,05$).

4.1.3. Aroma maddeleri

Yabani otlarda bulunan uçucu bileşikler SPME/GC-MS yöntemi ile belirlenmiştir. Sirmo otunun aroma bileşikleri Çizelge 4.3'te her bir bileşiğin çıkış zamanı (retention time) sırasına göre verilmiştir. Çizelgeden görüleceği gibi Sirmo otunda kendine has aromanın oluşumunda 66 adet bileşiğin etkin olduğu belirlenmiştir. Belirlenen bileşiklerden miktarı %1'den fazla olan bileşiklerin ota özgü aromanın algılanmasında etkisinin fazla olacağı kabullenilerek yapılacak değerlendirmede, en yüksek oranda bulunan bileşikler çıkış süresi sırasına göre oranları esas alındığında şu şekildedir: Ethyl ether (% 28,1), Acetaldehyde (% 1,40), 2-Butenal (% 5,08), Hexanal (% 2,69), 2-Butenal, 2-methyl- (%1,23), 2-Hexenal, (E)- (% 15,70), Disulfide, methyl propyl (% 2,41), Cyclohexasiloxane, dodecamethyl- (% 1,39), Disulfide, dipropyl (% 1,20), Benzene, 2-propenyl- (% 1,36), Limonene oxide, trans- (% 1,02), Diallyl disulphide (% 1,49), Methallyl cyanide (% 4,62), alpha.-Methylstyrene (% 5,17) ve Trisulfide, methyl 2-propenyl (% 1,50).

Mendi otu aroma bileşikleri için elde edilen sonuçlar Çizelge 4.4'te verilmiştir. Çizelgeden görüleceği gibi Mendi otunda 114 adet bileşik belirlenmiştir. Oransal olarak %1'in üzerinde bulunan ve aromanın oluşumunda etkisinin fazla olduğu düşünülen bileşikler çıkış sürelerine göre şu şekilde sıralanabilir: Ethyl ether (% 6,14), Ethanethiol (% 1,1), alpha-Pinene (% 6,02), 3-Carene (% 1,34), beta.-Pinene (% 4,30), Limonene (% 9,11), Sabinene (% 1,17), 2-Hexenal, (E)- (% 2,60), 1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (E)- (% 3,43), 1,3,7-Octatriene, 3,7-dimethyl- (% 17,57), Benzene, 1-methyl-2-(1-methylethyl)- (% 1,15), Cyclopropyl phenylmethanol (14,52), Benzene, 1-ethenyl-3-methyl- (% 2,13), alpha-Methylstyrene (% 2,59), 1,6,10-Dodecatriene, 7,11-dimethyl-3-methylene-, (Z)- (% 1,43) ve Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-,(1.alpha.,4a.alpha.,8a.alpha.)- (% 5,26).

Siyabo otu aroma bileşikleri için elde edilen sonuçlar Çizelge 4.5'te verilmiştir. Çizelgeden görüleceği gibi Siyabo otunda 105 adet bileşik belirlenmiştir. Bunlardan oransal olarak %1'in üzerinde bulunan ve aromanın oluşumunda etkisinin fazla olduğu düşünülen bileşikler çıkış sürelerine göre şu şekilde sıralanabilir: Ethyl ether (% 3,38), alpha-Pinene (% 6,21), 3-Carene (% 1,46), 1,3-Cyclohexadiene, 1,5,5,6-tetramethyl- (% 5,19), Limonene (% 45,40), beta-Phellandrene (% 3,02), 1,3,7-Octatriene, 3,7-dimethyl- (% 2,26), Benzene, 1-methyl-2-(1-methylethyl)- (% 2,10), 2,4,6-Octatriene, 2,6-

dimethyl-, (E,Z)- (% 7,96), 2,4,6-Octatriene, 2,6-dimethyl- (% 1,63), Cyclohexane, 1,2,4-tris(methylene)- (% 5,43), Limonene oxide, trans- (% 1,22) ve Safranal (% 2,38).

Yabani Nane otu aroma bileşikleri için elde edilen sonuçlar Çizelge 4.6'da verilmiştir. Çizelgeden görüleceği gibi Yabani Nane otunda 104 adet bileşik belirlenmiştir. Bunlardan oransal olarak %1'in üzerinde bulunan ve aromanın oluşumunda etkisinin fazla olduğu düşünülen bileşikler çıkış sürelerine göre şu şekilde sıralanabilir: Ethyl ether (% 10,07), Ethyl Acetate (% 1,25), Dimethyl ether (% 3,20), 3-Heptanone (% 2,69), beta.-Myrcene (% 3,67), Limonene (% 1,26), Eucalyptol (% 4,18), Benzene, 1-methyl-2-(1-methylethyl)- (% 8,94), Cyclopropyl phenylmethanol (% 9,21), Benzene, 2-propenyl- (% 1,63), Indene (% 1,36), Camphor (% 2,54), Benzene, 1-methoxy-4-methyl-2-(1-methylethyl)- (% 4,85), Caryophyllene (% 4,08), 3-Cyclohexene-1-methanol, .alpha.,.alpha.4-trimethyl- (% 4,13), beta.-Bisabolene (% 8,38), Geranyl acetate (% 2,69), 2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, (E)- (% 1,23) ve Thymol (% 8,92).

Heliz otu aroma bileşikleri için elde edilen sonuçlar Çizelge 4.7'da verilmiştir. Çizelgeden görüleceği gibi Heliz otunda 69 adet bileşik belirlenmiştir. Bunlardan oransal olarak %1'in üzerinde bulunan ve aromanın oluşumunda etkisinin fazla olduğu düşünülen bileşikler çıkış sürelerine göre şu şekilde sıralanabilir: alpha.-Pinene (% 7,09), Camphene (% 1,18), beta.-Pinene (% 2,02), Butane, 2,2-dimethyl- (% 5,12), Benzene, 1-methyl-2-(1-methylethyl)- (%2,62), Benzene, 1-ethenyl-3-methyl- (% 55,99) ve Indene (% 17,20).

Çizelge 4.3. Sirmo otunun aroma bileşimi

Bileşik	RI	(%)	STD	Bileşik	RI	(%)	STD
2-Propanamine	793	0,78 ± 0,22		2-Hexenal, (E)-	1225	15,70 ± 2,06	
Ethyl ether	809	28,21 ± 0,33		Disulfide, methyl propyl	1236	2,41 ± 1,32	
Acetaldehyde	821	1,40 ± 0,21		1-Pentanol	1256	0,69 ± 0,54	
Carbon disulfide	830	0,24 ± 0,02		Cyclohexasiloxane, dodecamethyl-	1311	1,39 ± 1,73	
Dimethyl sulfide	835	0,10 ± 0,01		2-Penten-1-ol, (Z)-	1323	0,37 ± 0,00	
Propanal	851	0,84 ± 0,07		1-Decene	1332	0,17 ± 0,01	
Acetic acid, methyl ester	868	0,13 ± 0,01		5-Hepten-2-one, 6-methyl-	1343	0,22 ± 0,01	
Ethyl Acetate	903	0,67 ± 0,01		Formic acid, hexyl ester	1356	0,57 ± 0,11	
1-Propene, 3-ethoxy-	924	0,10 ± 0,00		Disulfide, dipropyl	1388	1,20 ± 0,92	
Pentanal	926	0,22 ± 0,00		2-Hexen-1-ol, (E)-	1410	0,29 ± 0,03	
Methyl propyl ether	935	0,09 ± 0,01		1-Heptyne	1414	0,10 ± 0,01	
Isopropyl Alcohol	940	0,41 ± 0,13		1,2-Dithiolane	1425	0,42 ± 0,37	
Furan, 2-ethyl-	954	0,88 ± 0,06		1-Heptanol	1439	0,21 ± 0,13	
1-Propanol, 2,2-dimethyl-	961	0,08 ± 0,00		Benzene, 2-propenyl-	1468	1,36 ± 1,76	
2,4-Dimethylfuran	968	0,10 ± 0,01		Pentasiloxane, dodecamethyl-	1470	0,72 ± 0,49	
Pentanal	978	0,44 ± 0,18		Limonene oxide, trans-	1475	1,02 ± 0,18	
Chloroform	1017	0,38 ± 0,03		Diallyl disulphide	1484	1,49 ± 1,90	
alpha.-Pinene	1022	0,11 ± 0,01		Methallyl cyanide	1493	4,62 ± 6,35	
2-Butenal	1041	5,08 ± 0,13		alpha.-Methylstyrene	1502	5,17 ± 4,64	
3-Carene	1052	0,06 ± 0,01		Propyl octanoate	1523	0,11 ± 0,02	
Disulfide, dimethyl	1076	0,32 ± 0,01		Indene	1528	0,10 ± 0,02	
Hexanal	1080	2,69 ± 0,31		Benzaldehyde	1543	0,26 ± 0,01	
2-Butenal, 2-methyl-	1097	1,23 ± 0,02		1-Propanethiol	1552	0,31 ± 0,22	
beta.-Pinene	1114	0,16 ± 0,17		1-Octanol	1562	0,17 ± 0,05	
Ethylbenzene	1124	0,11 ± 0,07		Benzene, 1-ethenyl-3-methyl-	1576	0,60 ± 0,08	
o-Xylene	1138	0,77 ± 0,86		3(2H)-Pyridazinone	1599	0,40 ± 0,16	
Cyclopentasiloxane, decamethyl-	1142	0,17 ± 0,02		Trisulfide, methyl 2-propenyl	1614	1,50 ± 0,08	
beta.-Myrcene	1153	0,36 ± 0,03		Benzoic acid, 2,5-bis(trimethylsiloxy)-trimethylsilyl ester	1627	0,28 ± 0,07	
2-Pentenal, 2-methyl-	1163	0,99 ± 0,00		Decanoic acid, ethyl ester	1644	0,44 ± 0,03	
2-Penten-1-ol, (Z)-	1167	0,69 ± 0,32		Cyclohexanone, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-, trans-	1654	0,11 ± 0,01	
D-Limonene	1194	3,94 ± 5,35		2-Heptanol, 5-ethyl-	1662	0,22 ± 0,19	
Sabinene	1207	4,54 ± 5,13		Isobutyl isothiocyanate	1757	0,23 ± 0,08	
Heptanal	1215	0,52 ± 0,49		Azulene	1773	0,51 ± 0,23	

Çizelge 4.4. Mendi otunun aroma bileşimi

Bileşik	RI	(%)	Bileşik	RI	(%)
Carbon dioxide	788	0,07 ± 0,01	3-Hexen-1-ol	1388	0,24 ± 0,08
Ethyl ether	807	6,14 ± 0,33	2-Nonanone	1394	0,06 ± 0,04
Ethanethiol	835	1,01 ± 0,01	Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)-	1399	0,97 ± 0,18
Propanal, 2-methyl-	861	0,06 ± 0,01	2,4,6-Octatriene, 2,6-dimethyl-	1403	0,38 ± 0,13
2-Propenal	877	0,03 ± 0,00	2-Hexen-1-ol, (E)-	1408	0,09 ± 0,04
Acetic acid, (acetyloxy)-	903	0,06 ± 0,01	2,4-Hexadienal, (E,E)-	1412	0,02 ± 0,01
Butanal, 2-methyl-	921	0,18 ± 0,04	2-Heptanol, 5-ethyl-	1416	0,02 ± 0,01
Pentanal	924	0,06 ± 0,01	Cyclopropyl phenylmethanol	1441	14,52 ± 2,67
Dimethyl ether	940	0,29 ± 0,01	Benzene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-	1446	0,04 ± 0,01
1,3-Butadiyne	952	0,03 ± 0,01	1,3,8-p-Menthatriene	1453	0,44 ± 0,04
Cyclopentanol	978	0,03 ± 0,01	2,6-Dimethyl-1,3,5,7-octatetraene, E,E-	1455	0,20 ± 0,04
Butanoic acid, 2-methyl-, methyl ester, (+/-)-	1006	0,03 ± 0,01	Benzene, 1-ethenyl-3-methyl-	1464	2,13 ± 0,11
alpha.-Pinene	1022	6,92 ± 2,38	Pentasiloxane, dodecamethyl-	1470	0,25 ± 0,08
1,3,5-Cycloheptatriene	1038	0,43 ± 0,04	2,4-Heptadienal, (E,E)-	1473	0,40 ± 0,08
Butanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester	1050	0,11 ± 0,06	Tanımlanamadı	1477	0,02 ± 0,01
Camphene	1064	0,08 ± 0,04	alpha.-Farnesene	1493	0,11 ± 0,04
Pentanal, 3-methyl-	1080	0,43 ± 0,30	alpha.-Methylstyrene	1505	2,59 ± 0,04
2-Butenal, 2-methyl-	1097	0,13 ± 0,05	Copaene	1509	0,26 ± 0,04
beta.-Pinene	1103	0,49 ± 0,21	Indene	1528	0,34 ± 0,01
Bicyclo[2.2.1]hept-2-ene, 1,7,7-trimethyl-	1107	0,12 ± 0,02	Benzaldehyde	1543	0,45 ± 0,11
3-Carene	1114	1,34 ± 0,94	2-Nonenal, (E)-	1547	0,68 ± 0,31
2,4-Hexadiyne	1122	0,04 ± 0,00	alpha.-Cubebene	1557	0,27 ± 0,06
1-Octanol	1128	0,03 ± 0,01	1-Octanol	1559	0,05 ± 0,01
2-Pentenal, (E)-	1132	0,18 ± 0,05	Benzene, 1-ethenyl-3-methyl-	1573	0,88 ± 0,07
Benzene, 1,3-dimethyl-	1138	0,03 ± 0,01	1,3-Cyclohexadiene-1-carboxaldehyde, 2,6,6-trimethyl-	1585	0,04 ± 0,01
beta.-Pinene	1155	4,30 ± 1,15	1,6,10-Dodecatriene, 7,11-dimethyl-3-methylene-, (Z)-	1599	1,43 ± 0,26
beta.-Phellandrene	1159	0,52 ± 0,03	Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-, [1S-(1.alpha.,2.beta.,4.beta.)]-	1607	0,16 ± 0,01
Tanımlanamadı	1165	0,04 ± 0,02	Benzene, 2-methoxy-4-methyl-1-(1-methylethyl)-	1614	0,07 ± 0,00
Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)-	1176	0,05 ± 0,03	beta.-Cubebene	1617	0,21 ± 0,01
1,3,7-Octatriene, 3,7-dimethyl-	1180	0,06 ± 0,01	Caryophyllene	1624	0,61 ± 0,13
Heptanal	1184	0,11 ± 0,06	Benzoic acid, 2,5-bis(trimethylsiloxy)-, trimethylsilyl ester	1627	0,02 ± 0,01
Limonene	1194	9,11 ± 0,27	Germacrene-D	1639	0,16 ± 0,03
1,3,5-Cycloheptatriene	1205	0,06 ± 0,02	Decanoic acid, ethyl ester	1644	0,15 ± 0,01
Sabinene	1207	1,17 ± 0,16	alpha.-Cubebene	1664	0,46 ± 0,41
1-Cyclohexene-1-methanol, 4-(1-methylethenyl)-, acetate	1215	0,11 ± 0,01	1,6,10-Dodecatrien-3-ol, 3,7,11-trimethyl-, [S-(Z)]-	1672	0,04 ± 0,01
2-Hexenal, (E)-	1223	2,60 ± 1,25	1-Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 2,6,6-trimethyl-	1674	0,07 ± 0,06

Çizelge 4.4. Mendi otunun aroma bileşimi (Devamı)

Bileşik	RI	(%)	Bileşik	RI	(%)
1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (E)-	1229	3,43 ± 0,56	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-	1682	0,07 ± 0,01
1,3,7-Octatriene, 3,7-dimethyl-	1248	17,57 ± 3,04	Azulene, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethylidene)-, (1S-cis)-	1689	0,11 ± 0,06
3-Octanone	1256	0,05 ± 0,04	Tanımlanamadı	1699	0,48 ± 0,06
Styrene	1260	0,16 ± 0,06	Tanımlanamadı	1705	0,03 ± 0,00
3-Carene	1265	0,17 ± 0,01	Copaene	1712	0,33 ± 0,01
Tanımlanamadı	1271	0,05 ± 0,01	1-Undecyne	1718	0,08 ± 0,06
Benzene, 1-methyl-2-(1-methylethyl)-	1273	1,15 ± 0,21	.alpha.-Farnesene	1731	0,24 ± 0,02
Bicyclo[4.1.0]hept-2-ene, 3,7,7-trimethyl-	1285	0,32 ± 0,01	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,4a.alpha.,8a.alpha.)-	1739	5,26 ± 1,27
Decanal	1292	0,12 ± 0,08	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,4a.alpha.,8a.alpha.)-	1747	0,28 ± 0,04
1-Decen-3-yne	1300	0,02 ± 0,01	.alpha.-Farnesene	1755	0,16 ± 0,02
3-Buten-2-one, 4-(2,5,6,6-tetramethyl-2-cyclohexen-1-yl)-	1304	0,06 ± 0,01	Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(1-methylethylidene)-	1765	0,38 ± 0,11
Cyclohexasiloxane, dodecamethyl-	1311	0,12 ± 0,02	Azulene	1773	0,23 ± 0,05
3-Penten-2-ol	1323	0,23 ± 0,14	alpha.-Cubebene	1781	0,54 ± 0,00
Formic acid, phenylmethyl ester	1328	0,02 ± 0,01	alpha.-Amorphene	1789	0,54 ± 0,02
1-Decene	1332	0,05 ± 0,01	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene-2-methanol, 6,6-dimethyl-	1813	0,23 ± 0,09
5-Hepten-2-one, 6-methyl-	1343	0,08 ± 0,04	Copaene	1821	0,17 ± 0,00
1-Hexanol	1356	0,26 ± 0,12	Silane, trimethyl(phenylethynyl)-	1863	0,14 ± 0,05
3-Oxatricyclo[4.1.1.0(2,4)]octane, 2,7,7-trimethyl-	1360	0,04 ± 0,01	Tanımlanamadı	1896	0,14 ± 0,06
1,3,8-p-Menthatriene	1369	0,04 ± 0,01	Tetradecanal	1928	0,19 ± 0,08
2,4,6-Octatriene, 2,6-dimethyl-	1375	0,81 ± 0,17	3-Buten-2-one, 4-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-, (E)-	1968	0,08 ± 0,04
2,4,6-Octatriene, 2,6-dimethyl-	1379	0,16 ± 0,07	1H-Benzocyclohepten-7-ol, 2,3,4,4a,5,6,7,8-octahydro-1,1,4a,7-tetramethyl-, cis-	2082	0,43 ± 0,18

Çizelge 4.5. Siyabo otunun aroma bileşimi

Bileşik	RI	(%)	Bileşik	RI	(%)
Ethyl ether	805	3,38 ± 1,36	2-Nonenal, (E)-	1550	0,13 ± 0,02
Ethyl ether	819	0,07 ± 0,07	3-Cyclopentene-1-acetaldehyde, 2,2,3-trimethyl-	1564	0,33 ± 0,08
Ethanethiol	833	0,28 ± 0,08	alpha.-Methylstyrene	1578	0,40 ± 0,03
Butanal, 2-methyl-	919	0,03 ± 0,01	Safranal	1588	2,38 ± 0,34
Ethanol	940	0,09 ± 0,01	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6-dimethyl-6-(4-methyl-3-pentenyl)-	1602	0,96 ± 0,01
alpha-Pinene	1020	6,21 ± 0,09	Beta. Elemene	1607	0,09 ± 0,00
Toluene	1038	0,22 ± 0,02	2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate, (Z)-	1609	0,08 ± 0,01
3-Carene	1050	1,46 ± 0,10	Benzenemethanol, 4-(1,1-dimethylethyl)-	1614	0,01 ± 0,00
Camphene	1064	0,06 ± 0,01	1,3-Cyclohexadiene-1-carboxaldehyde, 2,6,6-trimethyl-	1622	0,03 ± 0,00
1,3-Cyclohexadiene, 1,2,6,6-tetramethyl-	1073	0,01 ± 0,00	Caryophyllene	1624	0,34 ± 0,01
Hexanal	1080	0,02 ± 0,01	Tanımlanamadı	1632	0,03 ± 0,01
Undecane	1087	0,08 ± 0,04	Aromadendrene	1637	0,02 ± 0,01
beta.-Pinene	1105	0,22 ± 0,01	Decanoic acid, ethyl ester	1644	0,10 ± 0,00
1,3-Cyclohexadiene, 1,5,5,6-tetramethyl-	1110	5,19 ± 0,21	Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(1-methylethylidene)-	1657	0,24 ± 0,01
Octane, 1-chloro-	1134	0,02 ± 0,01	Benzeneacetaldehyde	1662	0,14 ± 0,04
o-Xylene	1140	0,02 ± 0,00	Farnesol	1672	0,02 ± 0,01
Limonene	1207	45,40 ± 2,43	Tanımlanamadı	1674	0,03 ± 0,00
beta-Phellandrene	1213	3,02 ± 0,32	4-Hexen-1-ol, 5-methyl-2-(1-methylethenyl)-, (R)-	1682	0,23 ± 0,06
Tanımlanamadı	1219	0,23 ± 0,06	Cyclohexanol, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-	1692	0,03 ± 0,00
2-Hexenal, (E)-	1225	0,22 ± 0,01	Alloaromadendrene	1699	0,07 ± 0,01
1,3,7-Octatriene, 3,7-dimethyl-	1252	2,26 ± 0,01	alpha.-Amorphene	1712	0,04 ± 0,01
1,3,7-Octatriene, 3,7-dimethyl-	1256	0,08 ± 0,02	trans-Pinocarveol	1718	0,10 ± 0,00
Styrene	1263	0,10 ± 0,01	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6-dimethyl-6-(4-methyl-3-pentenyl)-	1731	0,08 ± 0,01
alpha.-Terpinene	1267	0,05 ± 0,00	p-Mentha-1,5-dien-8-ol	1739	0,14 ± 0,04
Benzene, 1-methyl-2-(1-methylethyl)-	1277	2,10 ± 0,21	beta. bisabolene	1744	0,29 ± 0,04
Benzene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-	1281	0,06 ± 0,01	Copaene	1749	0,06 ± 0,02
Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)-	1289	0,34 ± 0,04	beta.-Selinene	1752	0,32 ± 0,01
Tridecane	1300	0,09 ± 0,01	Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(1-methylethylidene)-	1765	0,47 ± 0,05
2,4,6-Octatriene, 2,6-dimethyl-	1308	0,16 ± 0,01	Cyclohexanepropanol-	1770	0,02 ± 0,01
Cyclohexasiloxane, dodecamethyl-	1311	0,12 ± 0,06	Azulene	1776	0,15 ± 0,01
1-Hexen-3-yne, 2,5,5-trimethyl-	1321	0,07 ± 0,01	alpha.-Cubebene	1781	0,13 ± 0,04
Tanımlanamadı	1325	0,08 ± 0,01	Copaene	1791	0,10 ± 0,04

Çizelge 4.5. Siyabo otunun aroma bileşimi (devamı)

Bileşik	RI	(%)	Bileşik	RI	(%)
Tanımlanamadı	1343	0,01 ± 0,00	Azulene, 1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1R-(1.alpha.,3a.beta.,4.alpha.,7.beta.)]-	1799	0,08 ± 0,01
Formic acid, hexyl ester	1356	0,04 ± 0,00	Bicyclo[3.1.0]hexan-3-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-	1805	0,03 ± 0,01
3-Tetradecyne	1362	0,42 ± 0,01	Ledol	1813	0,04 ± 0,01
1,3,8-p-Menthatriene	1371	0,05 ± 0,01	Artemiseole	1824	0,06 ± 0,03
2,4,6-Octatriene, 2,6-dimethyl-, (E,Z)-	1377	7,96 ± 0,16	trans-Carveol	1849	0,19 ± 0,03
3-Hexen-1-ol	1388	0,01 ± 0,01	Phenol, 3,4-dimethyl-	1857	0,13 ± 0,02
1,3,5-Cycloheptatriene, 7-ethyl-	1394	0,01 ± 0,00	Calamenene	1863	0,05 ± 0,02
2,4,6-Octatriene, 2,6-dimethyl-	1401	1,63 ± 0,22	Tanımlanamadı	1868	0,03 ± 0,01
2-Hexen-1-ol, (E)-	1408	0,05 ± 0,01	Tanımlanamadı	1879	0,02 ± 0,00
7-Octen-2-ol, 2-methyl-6-methylene-	1416	0,01 ± 0,00	12-Crown-4	1882	0,02 ± 0,00
Cyclohexane, 1,2,4-tris(methylene)-	1441	5,43 ± 0,15	Benzene, (1-methoxyethyl)-	1896	0,04 ± 0,01
Benzene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-	1448	0,08 ± 0,06	Tanımlanamadı	1902	0,02 ± 0,00
1,3,8-p-Menthatriene	1453	0,75 ± 0,16	Tanımlanamadı	1904	0,02 ± 0,01
alpha.-Methylstyrene	1466	0,87 ± 0,01	Oxirane, tetradecyl-	1928	0,08 ± 0,00
Limonene oxide, trans-	1475	1,22 ± 0,15	Toluene	1933	0,15 ± 0,03
Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(1-methylethylidene)-	1495	0,11 ± 0,01	Tanımlanamadı	1948	0,02 ± 0,01
Benzene, 1-ethenyl-3-methyl-	1505	0,72 ± 0,08	Linalyl isobutyrate	1959	0,11 ± 0,00
Ylangene	1512	0,05 ± 0,02	Propanoic acid, 2,2-dimethyl-, 2-phenylethyl ester	1997	0,05 ± 0,00
Indene	1528	0,14 ± 0,02	Tanımlanamadı	2015	0,02 ± 0,00
Benzaldehyde	1543	0,13 ± 0,04	Tanımlanamadı	2030	0,06 ± 0,03
			Tanımlanamadı	2036	0,06 ± 0,00

Çizelge 4.6. Yabani Nane otunun aroma bileşimi

Bileşik	RI	(%)	Bileşik	RI	(%)
Carbon dioxide	793	0,08 ± 0,01	1-Octen-3-ol	1451	0,24 ± 0,00
Ethyl ether	809	10,07 ± 0,38	alpha.-tert-Butylstyrene	1457	0,06 ± 0,01
Glycidol	823	0,08 ± 0,01	Benzene, 2-propenyl-	1466	1,63 ± 0,01
Ethanethiol	837	0,15 ± 0,02	Pentasiloxane, dodecamethyl-	1470	0,01 ± 0,00
Propanal, 2-methyl-	861	0,17 ± 0,01	trans Sabinene hydrate	1475	0,38 ± 0,01
Acetic acid, methyl ester	868	0,04 ± 0,00	Heptanoic acid, 3-hexenyl ester, (Z)-	1480	0,04 ± 0,01
1,3-Propanediol, 2,2-dimethyl-	877	0,02 ± 0,01	Tanımlanamadı	1486	0,02 ± 0,00
Furan, 2,3-dihydro-	898	0,03 ± 0,00	Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(1-methylethylidene)-	1495	0,19 ± 0,01
Ethyl Acetate	903	1,25 ± 0,07	Benzene, (1-methylenebutyl)-	1505	0,69 ± 0,09
Butanal, 2-methyl-	924	0,25 ± 0,03	Copaene	1514	0,09 ± 0,06
Pentanal	926	0,42 ± 0,01	Indene	1531	0,40 ± 0,21
Dimethyl ether	940	3,20 ± 1,04	Camphor	1545	2,54 ± 0,06
Hexane, 2,2-dimethyl-	961	0,02 ± 0,00	.alpha.-Cubebene	1559	0,06 ± 0,01
Acetic acid ethenyl ester	973	0,04 ± 0,01	Cyclohexanol, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-	1562	0,09 ± 0,02
3-Carene	1008	0,04 ± 0,01	Benzene, 1-ethenyl-3-methyl-	1576	0,62 ± 0,11
Trichloromethane	1017	0,11 ± 0,01	Tanımlanamadı	1583	0,01 ± 0,00
Toluene	1041	0,54 ± 0,01	Indene	1599	1,36 ± 0,28
Butanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester	1052	0,03 ± 0,01	Cyclohexanemethanol, 4-ethenyl-.alpha.,.alpha.,4-trimethyl-3-(1-methylethenyl)-, [1R-(1.alpha.,3.alpha.,4.beta.)]-	1609	0,05 ± 0,00
Camphene	1066	0,76 ± 0,05	Benzene, 1-methoxy-4-methyl-2-(1-methylethyl)-	1613	4,85 ± 0,01
Hexanal	1083	0,08 ± 0,01	Caryophyllene	1627	4,08 ± 0,54
Butane, 2,2-dimethyl-	1090	0,01 ± 0,00	Cyclohexanone, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-	1634	0,07 ± 0,01
3-Hexene, (Z)-	1099	0,07 ± 0,00	Decanoic acid, ethyl ester	1647	0,14 ± 0,01
beta.-Pinene	1107	0,51 ± 0,67	3,4-Dimethylcyclohexanol	1654	0,03 ± 0,00
Sabinene	1120	0,51 ± 0,69	Benzene, nonyl-	1659	0,15 ± 0,04
p-Xylene	1136	0,04 ± 0,01	Tanımlanamadı	1664	0,06 ± 0,02
3-Heptanone	1159	2,69 ± 3,78	1-Naphthalenol, 1,2,3,4,4a,7,8,8a-octahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-, [1R-(1.alpha.,4.beta.,4a.beta.,8a.beta.)]-	1669	0,02 ± 0,01
beta.-Myrcene	1161	3,67 ± 4,75	1,6,10-Dodecatriene, 7,11-dimethyl-3-methylene-, (E)-	1672	0,04 ± 0,01
alpha.-Terpinene	1189	0,03 ± 0,00	Pulegone	1677	0,54 ± 0,05
Decane	1196	0,99 ± 1,35	3-Cyclohexene-1-methanol, .alpha.,.alpha.,4-trimethyl-, (S)-	1687	0,12 ± 0,01
Limonene	1202	1,26 ± 1,76	Naphthalene, 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1S-cis)-	1694	0,03 ± 0,00
1-Butanol, 3-methyl-	1211	0,39 ± 0,28	2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (Z)-	1699	0,48 ± 0,06

Çizelge 4.6. Yabani Nane otunun aroma bileşimi (devamı)

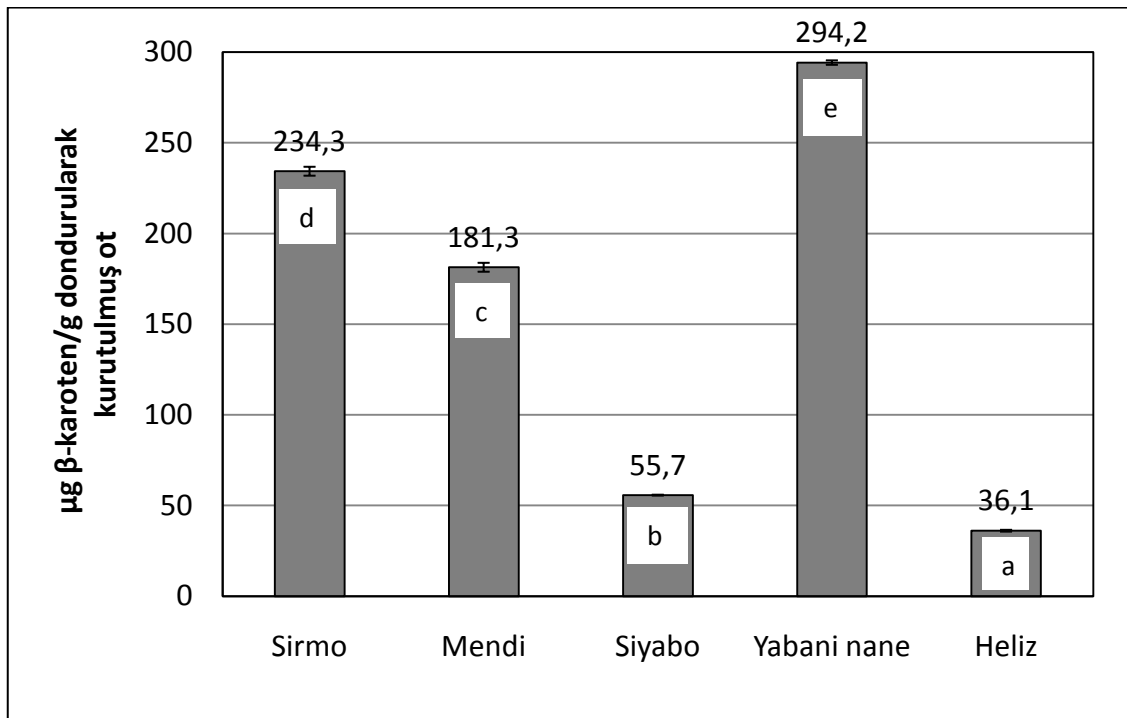
Bileşik	RI	(%)	Bileşik	RI	(%)
Benzene, 1-methyl-2-(1-methylethyl)-	1278	8,94 ± 1,99	Geranyl acetate	1765	2,69 ± 1,20
beta.-Phellandrene	1215	0,42 ± 0,40	1,6,10-Dodecatriene, 7,11-dimethyl-3-methylene-, (E)-	1707	0,06 ± 0,01
Eucalyptol	1218	4,18 ± 0,25	3-Cyclohexene-1-methanol, .alpha.,.alpha.4-trimethyl-	1712	4,13 ± 0,86
2-Hexenal, (E)-	1225	0,50 ± 0,05	Borneol	1723	0,46 ± 0,02
3-Heptanone, 5-methyl-	1260	0,66 ± 0,06	Nerolidol Isomer	1736	0,02 ± 0,01
Styrene	1264	0,22 ± 0,01	beta.-Bisabolene	1747	8,38 ± 1,07
Benzene, 4-ethyl-1,2-dimethyl-	1287	0,10 ± 0,01	Azulene	1776	0,07 ± 0,01
2-Butanone, 3-hydroxy-	1295	0,21 ± 0,08	.delta.-Cadinene	1781	0,09 ± 0,00
Tanımlanamadı	1304	0,03 ± 0,01	Caryophyllene	1789	0,30 ± 0,04
Cyclohexasiloxane, dodecamethyl-	1313	0,05 ± 0,03	Nerol	1810	0,33 ± 0,15
2-Penten-1-ol, (Z)-	1321	0,02 ± 0,01	Linalyl isobutyrate	1819	0,05 ± 0,01
5-Hepten-2-one, 6-methyl-	1343	0,04 ± 0,00	2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, propanoate, (E)-	1827	0,02 ± 0,00
1-Hexanol	1356	0,08 ± 0,01	Benzoic acid, 2-hydroxy-, ethyl ester	1841	0,04 ± 0,01
3-Nonanone	1364	0,02 ± 0,01	2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, (E)-	1854	1,23 ± 0,97
1,3-Cyclopentadiene, 1,2,3,4,5-pentamethyl-	1377	0,19 ± 0,01	Benzenemethanol, .alpha.,.alpha.,4-trimethyl-	1863	0,05 ± 0,01
3-Hexen-1-ol, (Z)-	1388	0,16 ± 0,00	Benzyl Alcohol	1893	0,07 ± 0,03
3-Octanol	1394	0,23 ± 0,00	2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, propanoate, (E)-	1907	0,05 ± 0,02
Nonanal	1401	0,26 ± 0,06	Phenylethyl Alcohol	1933	0,15 ± 0,03
2-Hexen-1-ol, (E)-	1408	0,07 ± 0,00	Triethyl borate	1959	0,05 ± 0,01
2,4-Hexadienal, (E,E)-	1414	0,03 ± 0,00	Thymol	2192	8,92 ± 3,60
Cyclopropyl phenylmethanol	1443	9,21 ± 0,28	Phenol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-	2227	0,85 ± 0,18

Çizelge 4.7. Heliz otunun aroma bileşimi

Bileşik	RI	(%)	Bileşik	RI	(%)
Carbon dioxide	793	0,14 ± 0,08	Benzene, 1,2,3-trimethyl-	1392	0,87 ± 0,05
Ethane, 1,2-diethoxy-	809	0,97 ± 0,06	Phenylethyne	1401	0,20 ± 0,10
Acetaldehyde	821	0,07 ± 0,01	Benzene, 1-ethenyl-3-methyl-	1450	26,62 ± 0,18
Dimethyl sulfide	837	0,08 ± 0,00	2,4-Heptadienal, (E,E)-	1475	0,03 ± 0,00
Butanal	861	0,02 ± 0,00	Limonene oxide, trans-	1480	0,03 ± 0,01
Vinyl Ether	903	0,01 ± 0,00	2 EthylL Hexanol	1491	0,03 ± 0,02
Butanal, 2-methyl-	924	0,04 ± 0,00	Benzene, 1-ethenyl-3-methyl-	1507	12,19 ± 0,39
Pentanal	926	0,02 ± 0,00	Propyl octanoate	1526	0,05 ± 0,02
Ethanol	940	0,33 ± 0,11	Indene	1531	2,93 ± 0,06
alpha.-Phellandrene	1008	0,01 ± 0,00	Tanımlanamadı	1540	0,03 ± 0,01
alpha.-Pinene	1024	7,09 ± 0,69	Benzaldehyde	1543	0,29 ± 0,06
2-Butenal	1041	0,10 ± 0,00	4,6-Decadiyne	1550	0,09 ± 0,07
Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)-	1052	0,01 ± 0,00	Benzene, 1-ethenyl-3-methyl-	1578	17,14 ± 0,74
Camphene	1069	1,18 ± 0,09	7-Octen-2-ol, 2-methyl-6-methylene-	1583	0,01 ± 0,00
Hexanal	1083	0,03 ± 0,00	Indene	1599	16,27 ± 0,25
Undecane	1087	0,06 ± 0,01	2-Tridecanone	1609	0,03 ± 0,01
4-Penten-1-ol	1094	0,01 ± 0,00	Caryophyllene	1627	0,08 ± 0,03
beta.-Pinene	1105	0,23 ± 0,06	Decanoic acid, ethyl ester	1644	0,29 ± 0,06
Bicyclo[2.2.1]hept-2-ene, 1,7,7-trimethyl-	1110	0,03 ± 0,01	Benzeneacetaldehyde	1662	0,07 ± 0,00
Sabinene	1116	0,33 ± 0,08	Benzoic acid, ethyl ester	1687	0,01 ± 0,00
Hydrazine, (phenylmethyl)-	1136	0,02 ± 0,01	Ethanone, 1-(2-methylphenyl)-	1694	0,04 ± 0,00
o-Xylene	1140	0,29 ± 0,35	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6-dimethyl-6-(4-methyl-3-pentenyl)-	1707	0,04 ± 0,01
beta.-Pinene	1155	2,02 ± 1,85	5-Hexen-2-ol, 5-methyl-	1720	0,03 ± 0,01
alpha.-Phellandrene	1161	0,41 ± 0,52	Decanoic acid, propyl ester	1731	0,03 ± 0,01
Butane, 2,2-dimethyl-	1194	5,12 ± 7,22	Ethanone, 1-(3-methylphenyl)-	1744	0,20 ± 0,06
2-Hexenal	1225	0,36 ± 0,45	Benzeneacetaldehyde, .alpha.-methyl-	1747	0,20 ± 0,00
Thiophene, 3,4-dimethyl-	1258	0,04 ± 0,02	alpha.-Farnesene	1755	0,03 ± 0,01
Benzene, 1-methyl-2-(1-methylethyl)-	1275	2,62 ± 3,64	Propane, 2,2'-oxybis[1-chloro-	1765	0,02 ± 0,01
Cyclohexene, 3-methyl-6-(1-methylethenyl)-, (3R-trans)-	1281	0,14 ± 0,16	Azulene	1773	0,11 ± 0,01
Cyclohexasiloxane, dodecamethyl-	1313	0,08 ± 0,05	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane	1789	0,02 ± 0,01
1-Heptanol	1332	0,01 ± 0,00	Tanımlanamadı	1802	0,02 ± 0,01
E,Z-3-Ethylidenecyclohexene	1343	0,04 ± 0,04	Hexadecanoic acid, ethyl ester	1852	0,03 ± 0,01
1,3-Cyclopentadiene, 5-(1-methylethylidene)-	1351	0,07 ± 0,01	Tanımlanamadı	1928	0,03 ± 0,01
1-Hexanol	1356	0,01 ± 0,00	Tanımlanamadı	1959	0,04 ± 0,00
Benzenemethanol, 2-methyl-	1377	0,10 ± 0,06			

4.1.4. Toplam karotenoid miktarı

Toplam karotenoid miktarı dondurularak kurutulmuş yabancı ot örneklerinden aseton kullanılarak ekstrakte edilmiş ve 450 nm’de absorbansları okunarak, saf β -karoten kullanılarak elde edilen kalibrasyon eğrisi yardımıyla $\mu\text{g } \beta\text{-karoten/g}$ dondurulmuş yabancı ot cinsinden sonuçlar ifade edilmiştir. İncelenen yabancı otların toplam karotenoid içerikleri Şekil 4.1’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre Yabancı Nane’nin toplam karotenoid içeriği 294,2 $\mu\text{g } \beta\text{-karoten/g}$ dondurulmuş ot değeri ile en yüksek bulunurken, bunu takiben Sirmo (234,3 $\mu\text{g } \beta\text{-karoten/g}$ dondurulmuş ot), Mendi (181,3 $\mu\text{g } \beta\text{-karoten/g}$ dondurulmuş ot), Siyabo (55,7 $\mu\text{g } \beta\text{-karoten/g}$ dondurulmuş ot) ve Heliz’in en düşük toplam karotenoid içeriğine (36,1 $\mu\text{g } \beta\text{-karoten/g}$ dondurulmuş ot) sahip olduğu belirlenmiştir. Otlar arasında toplam karotenoid içeriği açısından istatistiksel olarak önemli derecede farklı değerler elde edilmiştir ($P < 0,05$).



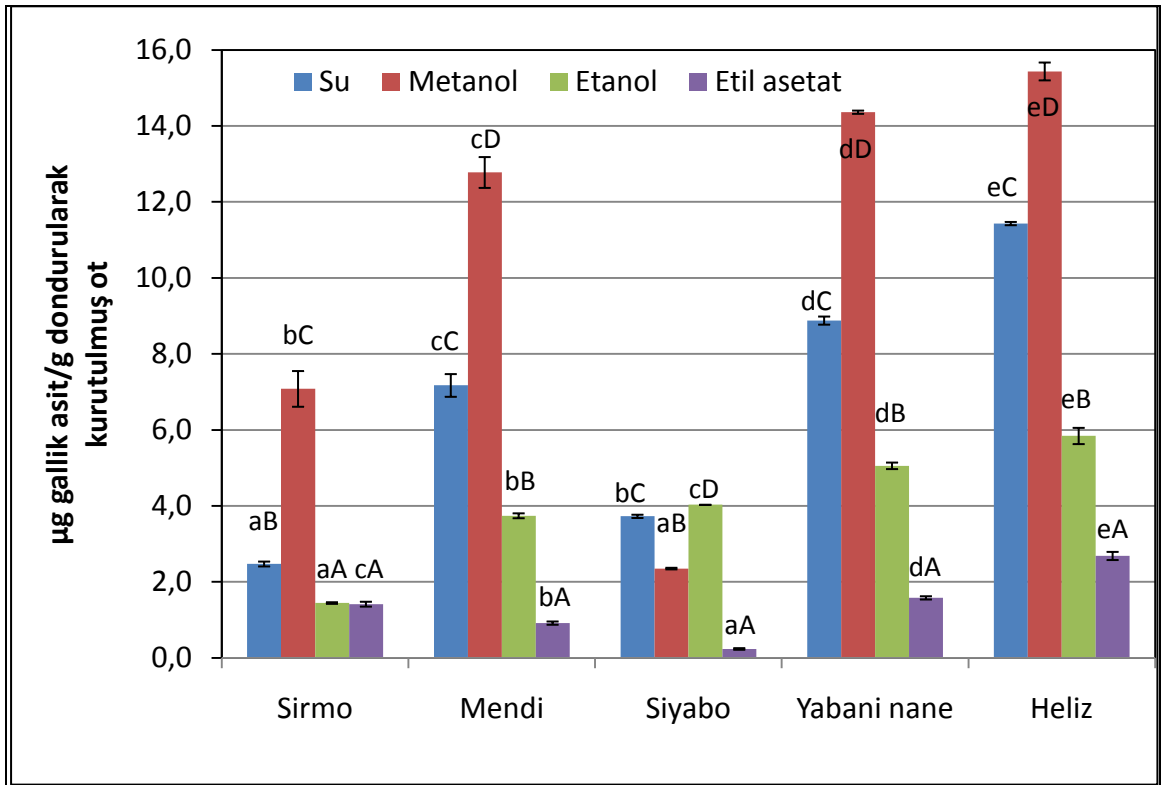
Şekil 4.1. Yabancı otların toplam karotenoid miktarları. (Kolonlar üzerinde gösterilen farklı harfler arasında ($P > 0,05$) düzeyinde farklılık bulunmaktadır.)

4.1.5. Toplam fenolik madde miktarı

Yabancı otlardan toplam fenolik maddelerin ekstraksiyonunda farklı polariteye sahip su, metanol, etanol ve etil asetat çözücülerini kullanılmıştır. Fenolik madde içerikleri bakımından otlar arasında aynı ekstrakt için (küçük harfler) ve aynı ot için farklı çözücü ekstraktları (büyük harfler) istatistiksel olarak kıyaslanmıştır. Siyabo otu

ekstraktı hariç olmak üzere diğer tüm yabancı ot metanol ekstraktlarının diğer çözücülere kıyasla en yüksek fenolik madde içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. Metanol ekstraktını takiben en yüksek fenolik madde içerikleri sırasıyla su, etanol ve etil asetat çözücülerinde saptanmıştır.

Elde edilen tüm çözücü ekstraktları dikkate alındığında Heliz otunun fenolik maddeleri diğer yabancı otlara kıyasla daha fazla içerdiği saptanmıştır. Heliz otunun su, metanol, etanol ve etil asetat ekstraktlarının toplam fenolik madde içerikleri gallik asit cinsinden aynı sırayla 11,4, 15,4, 5,8 ve 2,7 µg gallik asit/g dondurularak kurutulmuş ot olarak belirlenmiştir ($P < 0,05$). Diğer yabancı otların fenolik madde içeriği bakımından sıralaması Yabancı Nane, Mendi, Siyabo ve Sirmo şeklinde belirlenmiştir. Siyabo otunun etil asetat ekstraktının toplam fenolik madde içeriği tüm çözücü ekstraktları içerisinde en düşük değeri almıştır (0,2 µg gallik asit/g dondurularak kurutulmuş ot).



Şekil 4.2. Yabancı otların toplam fenolik madde miktarları. (Küçük harfler yabancı otlar arasında aynı ekstrakt için $P > 0,05$ düzeyinde farklılığı, büyük harfler ise aynı yabancı ot için ekstraktlar arasındaki farklılığı $P > 0,05$ düzeyinde göstermektedir.)

4.2. Antioksidan Kapasite

İncelenen yabancı otların antioksidan kapasitelerini ifade etmek amacıyla yaygın bir şekilde kullanılan DPPH ve ABTS metodları kullanılmış ve farklı çözücü

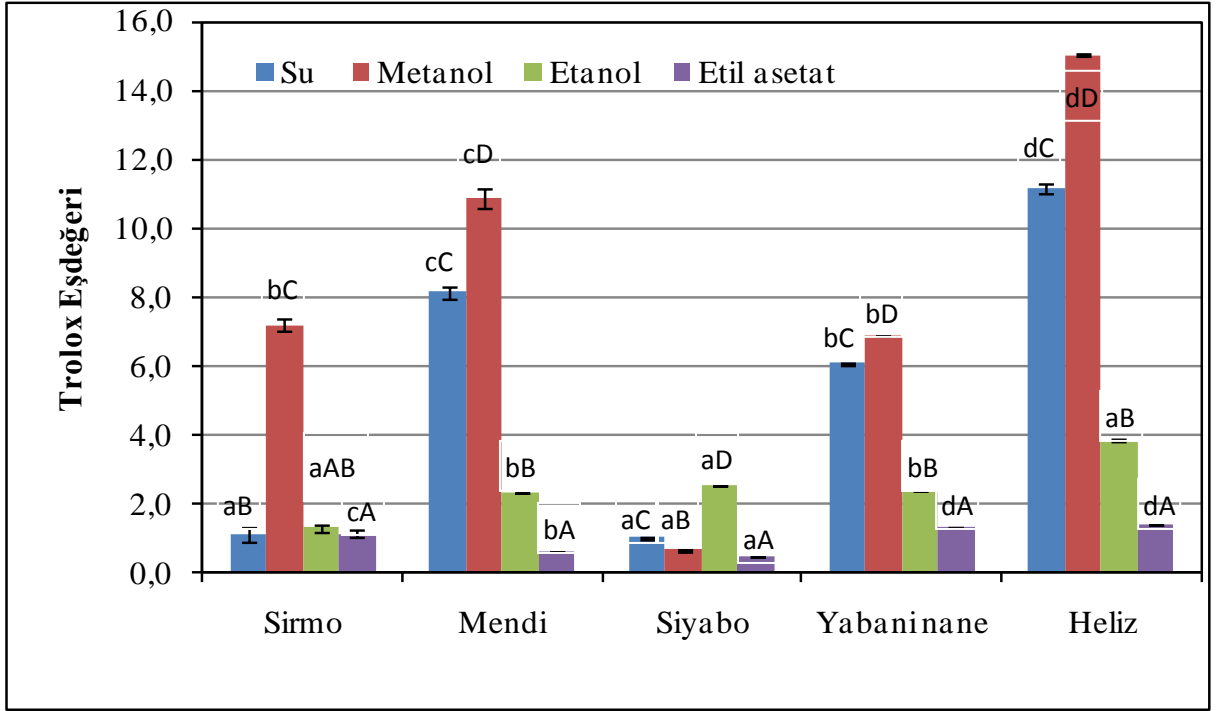
ekstraktlarının (su, metanol, etanol ve etil asetat) kullanımıyla elde edilen sonuçlar ayrı alt başlıklar halinde aşağıda verilmiştir.

4.2.1. DPPH testi

Yabani otların antioksidan kapasitelerinin DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) reaktifi ile belirlenmesinde farklı çözücü ekstraktlarından elde edilen antioksidan kapasiteler trolox eşdeğeri olarak hesaplanmış ($\mu\text{g Trolox/g}$ dondurularak kurutulmuş ot) ve sonuçlar Şekil 4.3'te verilmiştir. Aynı çözücü için farklı yabani otların DPPH radikal süpürme güçleri arasındaki istatistiksel farklılık küçük harflerle, aynı yabani otun farklı çözücülerdeki DPPH radikal süpürme güçleri arasındaki istatistiksel farklılık ise büyük harflerle gösterilmiştir.

Yabani ot türlerinin tamamında kullanılan farklı çözücü ekstraktları arasında en yüksek antioksidan aktiviteye metanol ekstraktının sahip olduğu belirlenmiştir. Bu çözücüye takiben, yüksekten düşüğe doğru su, etanol ve etil asetat ekstraktları antioksidan kapasiteye sahiptir. Yabani otlar arasında Heliz otunun farklı çözücü ekstraktlarının antioksidan kapasiteleri en yüksek değerlere sahiptir. Su, metanol, etanol ve etil asetat çözücülerinde Heliz için belirlenen antioksidan kapasite değerleri trolox eşdeğeri olarak aynı çözücü sıralamasıyla 11,2, 15,0, 3,8 ve 1,4 $\mu\text{g Trolox/g}$ dondurularak kurutulmuş ot şeklinde saptanmıştır. Değerler arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli düzeyde farklıdır ($P<0,05$).

DPPH indirgeme güçlerinin yüksekliği bakımından yabani otlar tüm çözücüler bazında Heliz'den sonra Mendi, Yabani Nane, Sirmo ve Siyabo şeklinde sıralanmıştır. Siyabo ve Sirmo otlarına ait farklı çözücüler arasındaki sıralama bazı çözücülerde bozulmuştur. En düşük değerler Siyabo otunun su (1,0), metanol (0,7) ve etil asetat (0,4) ekstraktlarında ve Sirmo otunun etanol (1,3) ekstraktında $\mu\text{g Trolox/g}$ dondurularak kurutulmuş ot olarak belirlenmiştir.



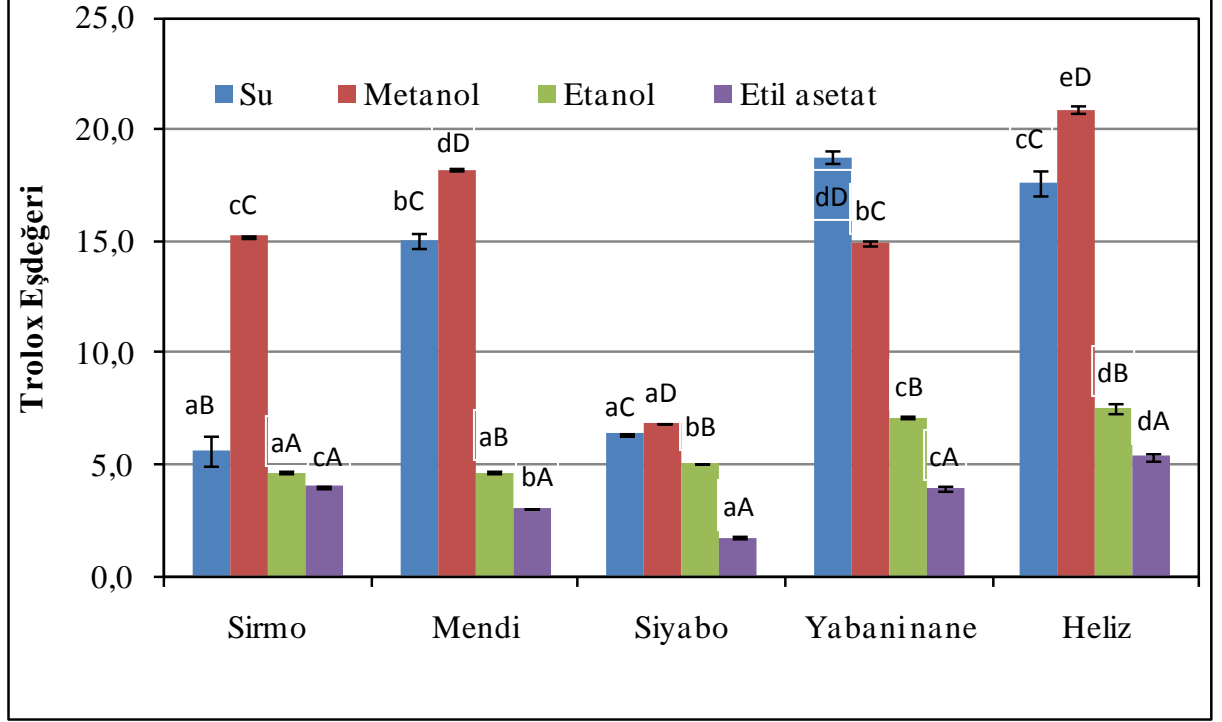
Şekil 4.3. Farklı çözücü ekstraktlarının trolox eşdeğeri DPPH radikal süpürme güçleri. Küçük harfler yabancı otlar arasında aynı ekstrakt için $P > 0,05$ düzeyinde farklılığı, büyük harfler ise aynı yabancı ot için ekstraktlar arasındaki farklılığı $P > 0,05$ düzeyinde göstermektedir.

4.2.2. ABTS testi

Yabancı otların antioksidan kapasitelerinin ABTS [2,2-azinobis (3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid)] reaktifi ile belirlenmesinde farklı çözücü ekstraktlarından elde edilen antioksidan kapasiteler trolox eşdeğeri ($\mu\text{g Trolox/g}$ dondurularak kurutulmuş ot) olarak hesaplanmış ve sonuçlar Şekil 4.4'te verilmiştir. Aynı çözücü için farklı yabancı otların ABTS radikal süpürme güçleri arasındaki istatistiksel farklılık küçük harflerle, aynı yabancı otun farklı çözücülerdeki ABTS radikal süpürme güçleri arasındaki istatistiksel farklılık ise büyük harflerle gösterilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre Heliz otunun metanol ekstraktı denenen çözücüler arasında en yüksek radikal süpürme ($20,9 \mu\text{g Trolox/g}$ dondurularak kurutulmuş ot) gücüne sahip bulunmuştur. Benzer şekilde antioksidan kapasite yüksekliği dikkate alınarak Heliz otundan sonra sırasıyla sonra Mendi ($18,2 \mu\text{g Trolox/g}$ dondurularak kurutulmuş ot), Sirmo ($15,2 \mu\text{g Trolox/g}$ dondurularak kurutulmuş ot) ve Siyabo'da ($6,8 \mu\text{g Trolox/g}$ dondurularak kurutulmuş ot) metanol ekstraktları kullanılan çözücüler arasında en yüksek değerleri almıştır. Yabani Nane'de en yüksek radikal süpürme gücü su ekstraktında ($18,8 \mu\text{g Trolox/g}$ dondurularak kurutulmuş ot) elde edilmiştir.

ABTS radikal süpürme gücü bakımından otlar arasında su ekstraktı hariç olmak üzere en yüksek etkiye Heliz otunun sahip olduğu gözlenmiştir. Otlar arasında en yüksek ikinci antioksidan etki Yabani Nane’de görülürken, diğerleri farklı ekstraktlarda değişken etki göstermiştir.



Şekil 4.4. Farklı çözücü ekstraktlarının trolox eşdeğeri ABTS radikal süpürme güçleri. Küçük harfler yabancı otlar arasında aynı ekstrakt için $P > 0,05$ düzeyinde farklılığı, büyük harfler ise aynı yabancı ot için ekstraktlar arasındaki farklılığı $P > 0,05$ düzeyinde göstermektedir.

4.3. Antimikrobiyel Aktivite

Yabancı otların antimikrobiyel etkilerini saptamak üzere bölüm 3.6’da tanımlandığı gibi her bir yabancı ottan elde edilen metanol ekstraktlarının bölüm 3.1’de tanımlanan mikroorganizmaların gelişimlerine etkileri saptanmıştır.

4.3.1. Sirmo otu ekstraktının antimikrobiyel etkisi

Sirmo otundan elde edilen farklı konsantrasyonlardaki metanol ekstraktının Gram pozitif, Gram negatif bakteriler ile maya gelişimine etkisi Çizelge 4.8’de verilmiştir. Sirmo otu ekstraktının Gram pozitif bakterilere karşı antibakteriyel aktivitesi saptanırken, *Enterobacter* hariç olmak kaydıyla denenen konsantrasyonlarda genellikle Gram negatif bakterilere karşı bir antimikrobiyel etkinin olmadığı gözlenmiştir.

Çizelge 4.8. Farklı konsantrasyonlarda Sirmo otu metanol (% 70'lik) ekstraktının mikroorganizmaların gelişimine etkileri

Mikroorganizma/ot ekstraktı konsantrasyonu (µg/mL)		1000	500	250	125	62.5	31.25	15.62
Gram Pozitif Bakteriler	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	+	-	-	-
	<i>Bacillus cereus</i>	+	+	-	-	-	-	-
	<i>Enterococcus faecalis</i>	+	+	+	-	-	-	-
	<i>Streptococcus</i>	+	+	+	-	-	-	-
	<i>MRSA</i>	+	+	+	-	-	-	-
Gram Negatif Bakteriler	<i>Enterobacter</i>	+	-	-	-	-	-	-
	<i>Salmonella</i>	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Shigella flexneri</i>	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Klebsiella</i>	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-
Maya	<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-

(+): Etkisi var , (-): Etkisi yok

Gram pozitif bakterilere karşı metanol ekstraktının 250 µg/mL konsantrasyonun bakteriyel gelişimi inhibe ettiği belirlenmiştir. Denenen konsantrasyonlarda Gram pozitif bakterilerde olduğu şekilde maya olarak test edilen *Candida albicans*'a karşı bir etkinlik saptanmamıştır.

4.3.2. Mendi otu ekstraktının antimikrobiyel etkisi

Mendi otundan elde edilen farklı konsantrasyonlardaki metanol ekstraktının Gram pozitif, Gram negatif bakteriler ile maya gelişimine etkisi Çizelge 4.9'da verilmiştir. Buna göre Mendi metanol ekstraktı kullanılan konsantrasyon aralığında denenen Gram pozitif bakterilere karşı antimikrobiyel etkiye sahipken, Gram negatif bakteriler ile maya gelişimine karşı antimikrobiyel etkide bulunmamıştır. Gram pozitif bakterilerden *Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus faecalis* gelişimini inhibe etmek için 250 µg/mL konsantrasyonun yeterli olduğu saptanırken, *Bacillus cereus*,

Streptococcus ve *MRSA* gelişimlerini inhibe etmek için gereken alt sınırın 500 µg/mL olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.9. Farklı konsantrasyonlarda Mendi otu metanol (% 70'lik) ekstraktının mikroorganizmaların gelişimine etkileri

Mikroorganizma/ot ekstraktı konsantrasyonu (µg/mL)		1000	500	250	125	62.5	31.25	15.62
Gram Pozitif Bakteriler	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	-	-	-	-
	<i>Bacillus cereus</i>	+	+	-	-	-	-	-
	<i>Enterococcus faecalis</i>	+	+	+	-	-	-	-
	<i>Streptococcus</i>	+	+	-	-	-	-	-
	<i>MRSA</i>	+	+	-	-	-	-	-
Mikroorganizma/ot ekstraktı konsantrasyonu (µg/mL)		1000	500	250	125	62.5	31.25	15.62
Gram Negatif Bakteriler	<i>Enterobacter</i>	+	-	-	-	-	-	-
	<i>Salmonella</i>	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Shigella flexneri</i>	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Klebsiella</i>	-	-	-	+	-	-	-
	<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-
Maya	<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-

(+): Etkisi var , (-): Etkisi yok

4.3.3. Siyabo otu ekstraktının antimikrobiyel etkisi

Siyabo otundan elde edilen farklı konsantrasyonlardaki metanol ekstraktının Gram pozitif, Gram negatif bakteriler ile maya gelişimine etkisi Çizelge 4.10'da verilmiştir. Kullanılan Siyabo ekstraktının denenen konsantrasyonlarda Gram pozitif bakterilere karşı antimikrobiyel etkinliği bulunurken, *Enterobacter* hariç olmak üzere Gram negatif bakterilere karşı bu etki bulunmamıştır. *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* ve *Enterococcus faecalis* bakterilerinin gelişimini inhibe edebilmek için 250 µg/mL ekstrakt konsantrasyonu yeterli olurken, *Streptococcus* ve *MRSA* bakterilerinin gelişimlerinin engellenmesi ancak 500 µg/mL ekstrakt konsantrasyonunda mümkün olabilmektedir. Gram negatif bakterilerden *Enterobacter*'in gelişiminin inhibisyonu ise 500 µg/mL ekstrakt konsantrasyonunda mümkün olmuştur. Bu ekstraktın maya gelişimini denenen konsantrasyonlarda inhibe etmeye yeterli olmadığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.10. Farklı konsantrasyonlarda Siyabo otu metanol (% 70'lik) ekstraktının mikroorganizmaların gelişimine etkileri

Mikroorganizma/ot ekstraktı konsantrasyonu (µg/mL)	1000	500	250	125	62.5	31.25	15.62	
Gram Pozitif Bakteriler	<i>Stahylococcus aureus</i>	+	+	+	+	-	-	-
	<i>Bacillus cereus</i>	+	+	+	-	-	-	-
	<i>Enterococcus feacalis</i>	+	+	+	-	-	-	-
	<i>Streptococcus</i>	+	+	-	-	-	-	-
	MRSA	+	+	-	-	-	-	-
Gram Negatif Bakteriler	<i>Enterobacter</i>	+	+	-	-	-	-	-
	<i>Salmonella</i>	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Shigella flexneri</i>	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Klebsiella</i>	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-
Maya	<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-

(+): Etkisi var , (-): Etkisi yok

4.3.4. Yabani nane otu ekstraktının antimikrobiyel etkisi

Yabani nane otundan elde edilen farklı konsantrasyonlardaki metanol ekstraktının Gram pozitif, Gram negatif bakteriler ile maya gelişimine etkisi Çizelge 4.11'de verilmiştir. Bu ekstrakt konsantrasyonlarının *Enterococcus feacalis* hariç olmak üzere test edilen mikroorganizmaların gelişimini engellemeye yetmediği gözlenmiştir. Söz konusu Gram pozitif bakterinin gelişimini engelleyebilen ekstrakt konsantrasyonu 250 µg/mL olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.11. Farklı konsantrasyonlarda Yabani nane otu metanol (% 70'lik) ekstraktının mikroorganizmaların gelişimine etkileri

Mikroorganizma/ot ekstraktı konsantrasyonu (µg/mL)	1000	500	250	125	62.5	31.25	15.62
<i>Stahylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus feacalis</i>	+	+	+	-	-	-	-
<i>Streptococcus</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>MRSA</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Enterobacter</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Shigella flexneri</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-
Maya <i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-

(+): Etkisi var , (-): Etkisi yok

4.3.5. Heliz otu ekstraktının antimikrobiyel etkisi

Heliz otundan elde edilen farklı konsantrasyonlardaki metanol ekstraktının Gram pozitif, Gram negatif bakteriler ile maya gelişimine etkisi Çizelge 4.12'de verilmiştir. Heliz otu metanol ekstraktının denenen konsantrasyon sınırları içerisinde Gram negatif bakteriler ile test edilen mayaya karşı antimikrobiyel etkide bulunmadığı belirlenmiştir. Buna karşın, Gram pozitif bakterilerden *Stahylococcus aureus*'a karşı 125 µg/mL, *Enterococcus feacalis* ve *MRSA*'a karşı 250 µg/mL, *Bacillus cereus* ve *Streptococcus*'a karşı ise 1000 µg/mL ekstrakt konsantrasyonlarının etkin olduğu belirlenmiştir. Gram negatif bakterilerden *Enterobacter*'e karşı 1000 µg/mL ekstrakt konsantrasyonu etkin olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.12. Farklı konsantrasyonlarda Heliz otu metanol (% 70'lik) ekstraktının mikroorganizmaların gelişimine etkileri

Mikroorganizma/ot ekstraktı konsantrasyonu (µg/mL)		1000	500	250	125	62,5	31,25	15,62
Gram Pozitif Bakteriler	<i>Stahylococcus aureus</i>	+	+	+	+	-	-	-
	<i>Bacillus cereus</i>	+	-	-	-	-	-	-
	<i>Enterococcus feacalis</i>	+	+	+	-	-	-	-
	<i>Streptococcus</i>	+	+	-	-	-	-	-
	<i>MRSA</i>	+	+	+	-	-	-	-
Gram Negatif Bakteriler	<i>Enterobacter</i>	+	-	-	-	-	-	-
	<i>Salmonella</i>	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Shigella flexneri</i>	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Klebsiella</i>	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-
Maya	<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-

(+): Etkisi var , (-): Etkisi yok

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Nem düzeyleri belirlenen yabancı otlara ait sonuçlar yabancı otun hasat edilmesi ile laboratuvar koşullarında incelenmesine kadar geçen sürede sıcaklık koşullarına bağlı olarak oluşabilecek kuruma olayının etkisiyle değişkenlik gösterebilecektir. Bununla beraber, incelenen yabancı otların bu süreçte aynı aşamalardan geçtiği kabullenilerek elde edilen nem sonuçlarına göre Otlu peynir yapımında kullanılan otların nem içeriklerinin yüksek değerlerde olduğu, bir başka deyişle düşük kuru madde içeriklerine sahip olduğunu söylemek mümkündür. Anlaşılabilir bir kıyaslama yapılması açısından literatürde var olan bilgilere [116] göre kıvırcık, kuşkonmaz, marul, nane ve semizotu gibi yeşil yapraklı bitkilerin nem içerikleri sırasıyla % 93,1, 91,7, 95,1, 83,4 ve 91,5 oranlarında nem içeriğine sahipken, incelenen yabancı otlarda bu değer % 71,79 ile % 91,27 arasında değişmektedir.

İncelenen yabancı otların kül değerleri Çizelge 4.1’de kuru madde içeriği dikkate alınarak verildiğinden sözkonusu değerler bir çok gıda maddesine kıyasla daha yüksek görülmektedir. Nem içeriği bakımından yapılan değerlendirmede kıyaslamada kullanılan yeşil yapraklı kıvırcık, kuşkonmaz, marul ve semizotu bitkilerine ait kül içerikleri kuru maddeleri dikkate alındığında aynı sırayla % 14,5, % 7,2, % 20,4 ve % 10,6 olarak bildirilmiştir [116]. Bu bakımdan incelenen yabancı otlara ait kül değerleri yaygın olarak tüketilen bitkisel gıdaların değerleriyle benzer sınırlar içerisinde. Bu kül oranları ise yabancı otların mineral maddeler bakımından zengin olduğunun göstergesidir. Bu nedenle peynir yapımında kullanılan yabancı otların peynirin mineral içeriğini ve dolayısıyla besinsel değerlerini arttırdığını söylemek mümkündür. Meyve ve sebzelerin sağlık açısından faydaları küçümsenemeyecek derecede önemli olan kül, besinsel lif kaynaklarını bol miktarda içerdikleri bilinmektedir. Esansiyel gıda öğeleriyle birlikte kül içeriğinde yer alan iz elementler vücutta sentezlenemediklerinden sağlıklı gelişme ve fizyolojik fonksiyonların yerine getirilmesinde bunların işlevlerinin önemli olduğu vurgulanmıştır [117].

Peynir yapımında kullanılan yabancı otların belirlenen kül değerleriyle kıyaslama yapılmasına olanak sağlayacak aynı yabancı otlara ait literatürde bilgi bulunmamakta ve söz konusu çalışma bu anlamda bir ilk olma özelliği taşımaktadır. Ancak göreceli bir kıyaslama yapılabilmesinde literatürde yer alan bazı değerler kullanılarak değerlendirme yapılması olanaklıdır. Bu bakımdan, yapılan bir çalışmada İran ve Hindistan’da yabancı olarak yetişen bazı otların besinsel öğelerinin belirlenmesi kapsamında kül, yağ ve

besinsel lif içerikleri belirlenmiştir [118]. Bu çalışmada incelenen yabancı otların kül içeriklerini % 6,7 ile % 22,6 arasında belirlemişlerdir. Tez çalışması kapsamında kül içerikleri belirlenen yabancı otlara ait kül değerlerinin bildirilen aralıkta olduğu gözlenmiştir.

Yapılan bir çalışmada bazı meyve ve sebzelerde besinsel lif miktarları belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, sırasıyla elma, kivi, kuşkonmaz, ıspan ve ıspanakta bulunan çözünmez lif miktarları % 9,8, % 11,9, % 18,0, % 26,7 ve % 28,5 olarak belirlenmiştir [119]. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar bu değerlerle kıyaslandığında incelenen yabancı otların iyi bir besinsel lif kaynağı potansiyeline sahip olduğu ve peynire katılmasıyla az oranda da olsa besinsel lif bakımından peynirin bileşimini zenginleştirebileceği sonucuna varılmıştır.

Diyet yoluyla alınan besinsel lifler kabızlık, şeker hastalığı, kardiyovasküler hastalıklar, divertikulis ve obesite gibi rahatsızlık riskini azaltmada önemli rol oynamaktadır [117]. Bitkisel orjinli gıdalar besinsel lifler bakımından en zengin kaynak olarak bilinmektedir. Yabancı otlarda bulunan yağ miktarı yeşil bitkilerde olduğu şekilde oldukça düşük miktarlardadır ve sözkonusu otların tüketilmeleri ile içeriğindeki yağın besin kaynağı olarak kabul edilmesi düşünülemez. Literatürde var olan bilgilere göre yeşil yapraklı marul, lahana, semizotu vb bitkilerin yağ içerikleri de çalışmamızda elde edilen değerler civarındadır. Ancak bitkilerin aromatik olma özelliğini oluşturan uçucu özellikteki yağ asitlerinin bu otların kullanımındaki önemleri giriş kısmında açıklandığı gibi daha hayati öneme sahiptir. Literatürden de anlaşılacağı gibi uçucu yağ asitlerinin miktarının belirlenmesinde soxhelet ekstraksiyon düzeneğinden farklı olarak uçucu fraksiyonun buhar haline getirilerek destilasyon ile geri kazanımı sözkonusudur. Bu şekilde elde edilen uçucu fraksiyonun bileşimi uygun bir kromatografi tekniği ile belirlenmektedir.

Elde edilen lipid fraksiyonunun bileşiminin belirlenmesinde kapiler kolon-FID dedeksiyonu sonucu tanımlanması yapılan 20 yağ asidinin dışında lipid fraksiyonu içerisinde iz miktarlarda yer alan birçok orta ve kısa zincir uzunluğundaki yağ asitlerinin olduğu Şekil 5.1'de görülmektedir. İncelenen yabancı otlardan sokshelet ekstraksiyonu ile ekstrakte edilen lipid fraksiyonu içerisinde diğerlerine kıyasla uzun zincirli yağ asitlerinin yer aldığı belirlenmiştir (Çizelge 4.2). Bunlar arasında tek, iki ve üçlü çift bağ içeren 18 karbonlu yağ asitleri daha fazla bulunmaktadır.

esnasında duyusal olarak aroması en bariz ve keskin algılanan otun Yabani Nane olduğu düşünülmüştür. Ancak bu durumu somutlaştıracak bilimsel kriterlere uygun bir duyusal analiz yapılmadığından, söz konusu algılama burada tartışılmamıştır.

Literatürde bu güne kadar Otlu peynir yapımında kullanılan yabani otların aroma bileşikleri üzerine yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu anlamda bu tez çalışması bir ilk olma özelliği taşımaktadır. Farklı ülke ve bölgelerde yapılan çalışmalarda birçok baharat, yabani ot vb maddelerin aromatik bileşiklerinin belirlenmesinde esansiyel yağ ekstraksiyonu (Clevenger düzeneği ile), solvent ekstraksiyonu ve bunlara kıyasla uygulamada kolaylık ve diğer bazı avantajları olan SPME yöntemleri kullanılmıştır. Bunlardan birisinde *Hypericum triquetrifolium* Turra bitkisinin çiçek ve yapraklarının esansiyel yağı clevenger düzeneği ile ekstrakte edilmiş ve GC-MS tekniği ile belirlenmiştir [120]. Belirlenen temel bileşikler ise şöyledir: *n*-nonane (%8, %15), β -pinene (%8, %4), α -pinene (%13, %10), myrcene (%16, %5), β -caryophyllene (%5, %11), germacrene-D (%10, %13), sabinene (%13, %3) ve caryophyllene oxide (%5, %12). Bu Bileşiklerden *n*-nonane hariç olmak üzere diğerlerinin incelenen yabani otların bileşiminde temel Bileşik olarak farklı oranlarda bulunduğu gözlenmiştir.

Sirmo otu ile aynı familyadan olan bitkiler üzerinde yapılan çalışmalardan bir tanesinde Soğan (Welsh onion) (*Allium fistulosum*), bir başka tür soğan (*Allium cepa*) ve sarımsak (*Allium scorodoprasm*) bitkilerinin buhar destilasyonu ile elde edilen ekstraktlarının uçucu aromatik bileşikleri belirlenmiştir [121]. Bileşiklerin GC ile DB-Wax kapilar kolonu kullanılarak yapılan analizinde Sirmo otunda bulunan Hexanal ve Dipropyl disulphide gibi bileşiklerin varlığı saptanmıştır. Bu ve benzeri bir çok çalışmada Clavenger düzeneği veya su buharı destilasyonu ile uygulanan ısı işlem örneğinin yapısında var olan bir çok bileşiğin tahrip olmasına neden olduğundan sözkonusu çalışmadan farklı olarak birçok aromatik bileşiğin saptanması mümkün olabilmektedir. Yine aynı familyadan yeşil soğan (*Allium cepa* L.) kullanılarak gerçekleştirilen bir başka çalışmada dondurularak kurutulan örneklerin uçucu aromatik bileşikleri GC-MS tekniği ve çalışmamızda kullanılan aynı kolon kullanılarak belirlenmiştir [122] ve toplam 71 adet aroma bileşiği tanımlanmıştır. Tanımlanan bileşiklerin sayısı ve birçok bileşiğinin çalışmamızda elde edilen sonuçlarla uyumlu olduğu gözlenmiştir. Bunlar arasında bu familyaya karakteristik aromayı veren kükürt içeren bileşiklerin (Disulfide, methyl propyl; Disulfide, dipropyl; Trisulfide, methyl 2-propenyl; Carbon disulfide, Dimethyl sulfide) benzerliği dikkat çekicidir. Ayrıca

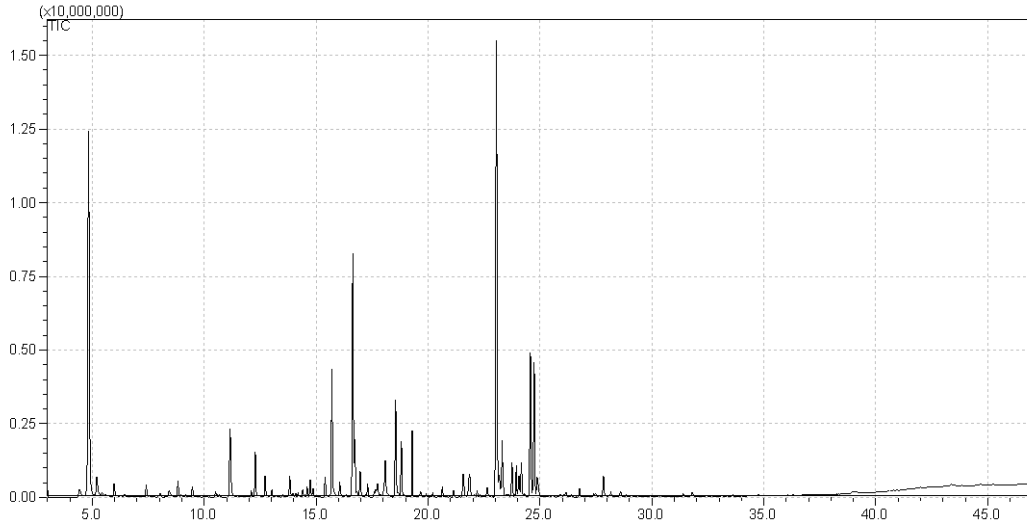
karbonilli bileşiklerin de (propanal, benzaldehide, hexanal, (*E*)-2-methyl-2-butenal, 2-pental, 2-methyl- ve acetaldehyde) her iki çalışmada belirlenen ortak bileşikler olduğu belirlenmiştir. Ayrıca çalışmamızda bulunan alkan ve alkenler, alkoller ve heterosiklik bileşiklerden birçoğunun benzerliği gözlenmiştir.

Mendi otunun aroma bileşikleri monoterpen sınıfına ait bileşiklerden beta-Phellandrene, Sabinene, oksijen içeren monoterpenlerden Germacrene-D Bileşiklerinin bu otun dahil olduğu familyada (Apiaceae) karakteristik aroma bileşikleri olarak literatürde yer almıştır [123]. Çalışmamızda Siyabo otunda en karakteristik aroma bileşiği olarak Limonene (%45,40) saptanmıştır. *Silene* türüne ait 10 farklı bitkinin aroma profili dinamik head space adsorpsiyonu GC-MS teknikleriyle belirlenmiş ve bu türlerde bulunan başlıca aroma bileşikleri yağ asidi türevleri, benzenoidler ve monoterpenler şeklinde belirlenmiştir. Düşük miktarlarda diğer aroma gruplarının varlığıda bildirilmiştir [124]. Bu çalışmada farklı aroma gruplarına ait bileşiklerden çalışmamızda da saptadığımız bileşikler şu şekildedir: Hexanal, 3-Hexen-1-ol, Octane, Benzeneacetaldehyde, (Benzene, (1-Methoxyethyl)-), Toluene, alpha-Pinene, Camphene, beta-Pinene, Limonene, alpha-Terpinene, Copaene ve Caryophyllene.

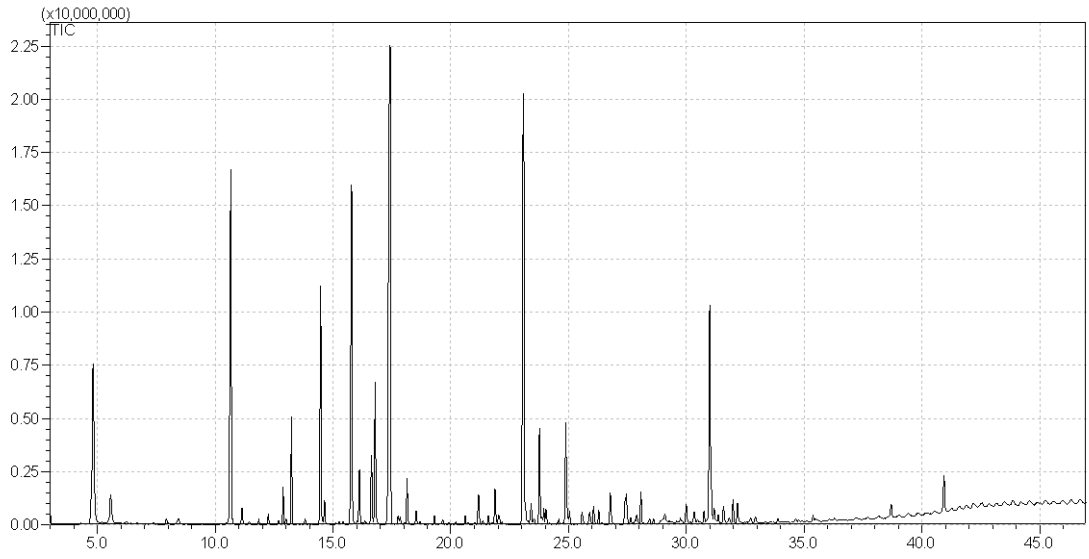
Önceki bölümlerde de değinildiği gibi incelenen otlardan Yabani nanenin herhangi bir duyuşsal analiz yapılmadan en aromatik ve en keskin kokuya sahip olduğu saptanmıştır. Bu durum aroma bileşiklerin fazlalığıyla da (105 adet) teyit edilmiştir. Aynı türden bir ot üzerinde yapılan çalışmada [125], Clevenger düzeneği ile ekstrakte edilen aromatik bileşikler GC-MS tekniği ile incelenmiş ve carvone temel bileşik olarak saptanırken bunu limonene, 1,8-cineole ve *trans*-carveol bileşikleri izlemiştir. Clevenger düzeneği ile uygulanan sıcaklık esnasında birçok aroma bileşiğinin tahrip olması nedeniyle çalışmamızda saptanandan daha az sayıda bileşik saptanmıştır. Bunlardan beta-Pinene, beta-Myrcene, Limonene, Borneol ve Caryophyllene tez çalışmasında bulunanlarla benzerlik göstermiştir.

Apiaceae familyasından Heliz (*Ferula orientalis* L.) otunda 70 adet aroma bileşiği saptanmıştır. Tanımlanan bileşikler içerisinde benzen içeren aromatik bileşiklerin fazlalığı Çizelge 4.7’de (sağ sütun) görülebilmektedir. Yapılan bir çalışmada [126], aynı türden *Ferula glauca* L. bitkisinin aromatik bileşikleri clevenger düzeneği ile ekstrakte edilerek GC-MS tekniğiyle incelenerek bizim çalışmamızda elde edilenlerden daha fazla sayıda bileşik tanımlaması yapılmıştır. Söz konusu çalışmada saptanan bileşiklerden bizim çalışmamızla ortak olan aroma bileşikleri şu şekildedir:

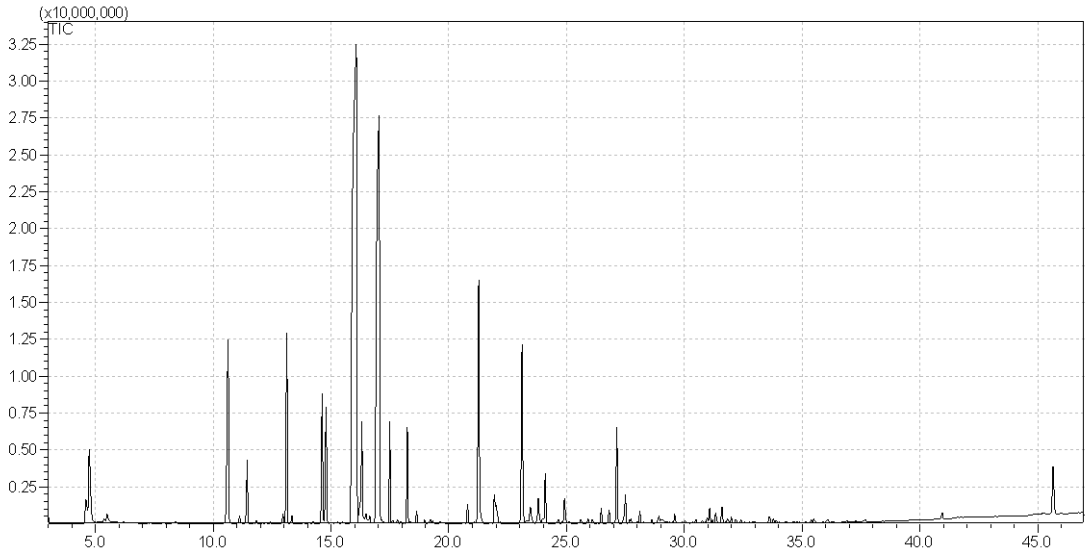
1-Hexanol, 1-Heptanol, alpha-Pinene, Camphene, Sabinene, alpha-Phellandrene, Benzeneacetaldehyde, Caryophyllene ve alpha-Farnesene.



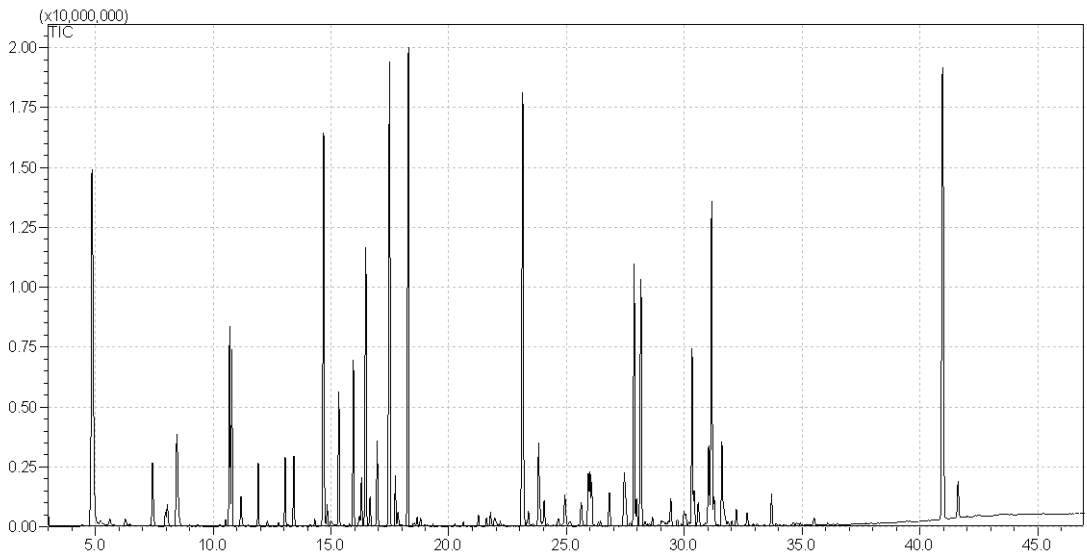
Şekil 5.2. Sirmo otunun aroma bileşiklerine ait kromatogram



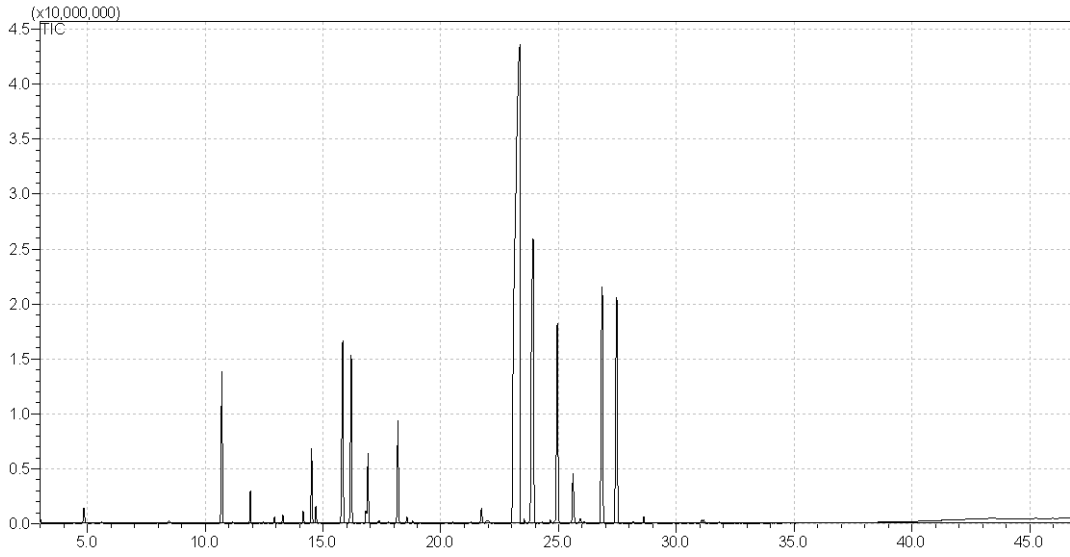
Şekil 5.3. Mendi otunun aroma bileşiklerine ait kromatogram



Şekil 5.4. Siyabo otunun aroma bileşiklerine ait kromatogram



Şekil 5.5. Yabani Nane otunun aroma bileşiklerine ait kromatogram



Şekil 5.6. Heliz otunun aroma bileşiklerine ait kromatogram

İncelenen yabancı otların toplam karotenoid değerleri 292,2 ile 36,1 μg β -karoten/g dondurulmuş ot arasında değişmektedir. Literatürde benzeri yabancı ot değerlerinin toplam karotenoid içeriklerine ait bilgi bulunmamaktadır. Ancak, sık tüketimi olan bazı sebzeler için literatürde var olan değerler (mg/100 g) şu şekildedir: Semizotu (554), salatalık (48), Bamyacı (277), Kırmızı Biber (719), Lahana (226), Karnabahar (37), Domates (3090) ve patlıcan (323). Aynı araştırmada yaygın olarak kullanılan baharatlara ilişkin rakamlar ise şu şekilde bildirilmiştir: Pul Biber (11300), Buyotu (çemen) (780), Zerdeçal (510), Zencefil (720) ve Kışniş (1010) [127]. Bu değerler göz önüne alındığında incelenen otların toplam karotenoid içeriklerinin düşük olduğu söylenebilir. Ancak literatür bilgilerinden alınan söz konusu bitki ve baharatların bir çoğunun gıda olarak tüketilmelerinde farklı amaç ve kullanım şekilleri bulunmaktadır. Bunlar arasında katıldığı gıda maddesine renk vermek en başta gelen özellik olarak belirtilebilir. Ancak yabancı otların peynire katılmasının amaçları arasında böyle bir yaklaşım bulunmamaktadır. İçerikte var olan karotenoidlerin otların antioksidan kapasitelerine belirli ölçüde katkı sağladığı düşünülmektedir.

Toplam fenolik madde miktarı farklı çözücüler kullanılarak elde edilen ekstraktlar kullanılarak Folin & Ciocalteu yönteminde bildirilen esaslara göre yapılmıştır. Oldukça yaygın olarak kullanılan bu yöntem her ne kadar ortamdaki tüm indirgen maddelerden etkilense de, özellikle bitkisel materyallerde indirgen bileşiklerin önemli bir çoğunluğu fenol türevi maddeler olduğu için ekstraktlardaki toplam fenolik

madde içeriğini tahmin etmek için kullanışlı bir yöntemdir. Bitkilerde bulunan fenolik maddelerin çeşitliliği düşünüldüğünde toplam fenolik madde içeriğinin verilmesi tek tek fenolik yapıların analizinden hem daha kolay hem de bütünü görmek bakımından daha sağlıklıdır denilebilir [128]. Elde edilen sonuçlara göre yabani otların en yüksek fenolik madde içeriğine metanol ekstraktının sahip olduğu gözlenmiştir. Ancak literatürde benzer şekilde farklı çözücülerle yapılan ekstraksiyonlardan elde edilen ekstraktlarda toplam fenolik madde miktarı çözücüye bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir. Örneğin, yapılan bir çalışmada toplam fenolik madde tayininde kullanılan metanol, etil asetat, hegzan ve kloroform gibi çözücüler arasında en yüksek fenolik madde ekstraksiyonunun etil asetat ile sağlandığı bildirilmiştir [129]. Bu durum incelenen yabani otlar arasında Heliz otunun metanol ekstraktının gallik asit cinsinden en yüksek toplam fenolik maddeye (15,4 µg gallik asit/g dondurularak kurutulmuş ot) sahip olduğu belirlenmiştir.

Yabani otlarda saptanan toplam fenolik madde miktarının literatürde var olan değişik gıdaların fenolik madde içerikleriyle kıyaslanarak daha anlamlı hale gelmesini sağlamak amacıyla fenolik madde içeriği saptanan bazı ürünlerine ait rakamsal bilgiler (µg gallik asit/g kuru ağırlık) şu şekilde verilebilir: Çilek (14,8-23,7), kuş üzümü (20,3), ahududu (23,3), elma (11,9-12,1), soğan (2,5), domates (2,0), şalgam (1,6), süpürge otu (36,0), papatya (12,7), kekik (17,1), kimyon (5,7), yulaf (0,3) ve söğüt yaprağı (37,6). Bu değerler dikkate alındığında incelenen yabani otların fenolik maddelerce zengin olduğu söylenebilir. Bu bakımdan tıbbi amaçlarla kullanılan bitkilerde fenolik madde miktarının yüksek olduğu bildirilmektedir. Bu etkin maddelerin tek başlarına kullanımı ile bitki yapısında kullanımından sağlanan antioksidan etkinin de farklı olacağı ve bu etkide bitki bileşiminde var olan diğer şekerler veya askorbik asit gibi bileşiklerin sinerjistik etkileşimi ile meydana geldiği öne sürülmüştür [130]. Ekstraksiyonda kullanılan çözücülerin her birinin polarite gibi farklı kimyasal özelliklere sahip olması nedeniyle, ekstraksiyonla çözünen bileşiklerin çeşidi ve miktarları farklı olacağından, söz konusu ekstraktlar kullanılarak gerçekleştirilen analizlerden farklı sonuçlar alınmıştır.

Antioksidan aktivite testleri stabil sentetik radikaller olan DPPH ve ABTS kullanılarak yapılmıştır. Her iki radikal de, ortamda antioksidan bir molekül bulunduğunda elektron almakta ve radikal olmayan türevlerine dönüşmektedir. Çözeltileri renkli olan ve 520 (DPPH) ve 734 (ABTS) nm dalgaboyu bölgesinde maksimum absorbans yapan bu radikallerin antioksidanlar varlığında dönüştükleri türler

bu dalga boylarında absorbands yapmazlar. Dolayısıyla ortamdaki antioksidanların bolluğuyla toplam radikal konsantrasyonu veya absorbands arasında negatif bir ilişki vardır. Her iki testte de, Trolox standart antioksidan olarak kullanılmıştır. E vitaminin suda çözünür formu olan Trolox'un [131] farklı konsantrasyonlarda hazırlanıp radikallerle karıştırılması sonucu gerçekleşen absorbands değişimine karşı, reaksiyon karışımında bulunan Trolox'un konsantrasyonu grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrisi hazırlanmıştır. Bu eğrinin denkleminde, absorbands yerine örnekler için bulunan değerler yerine yazılarak antioksidan aktivite Trolox cinsinden hesaplanmıştır.

Antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde miktarı analizlerinde 4 farklı ekstraksiyon çözücüsü kullanılmıştır. Böyle bir uygulamaya gidilmesinin temel sebebi, bitkilerin kompleks yapısı içerisinde farklı polariteye ve çözünürlüğe sahip antioksidan bileşiklerin aynı anda bulunmasıdır. Örneğin C vitamini için su çok iyi bir çözücüken, etil asetat bu madde için zayıf bir çözücüdür. Beta karoten için de tam tersi söylenebilir. Azalan polariteye göre su, metanol, etanol ve etil asetat çoğunlukla farklı sonuçlar vermiştir. Genel olarak metanol ekstraktı hemen hemen tüm bitkilerde en yüksek antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde miktarı sonuçlarını vermiştir. Bu durum büyük ihtimalle metanolün fenolik maddeler için iyi bir çözücü olmasından kaynaklanmaktadır [132]. Fenolik maddeler genelde hidroksil grupları taşıdıkları için kısmi polar özellik göstermekte ancak yapılarındaki alifatik gruplardan dolayı da bir miktar non-polar özellikler göstermektedirler. Bunun yanında fenolik maddeler oldukça fazla çeşitlilik gösterirler ve polarite skalasının çok geniş bir yelpazesinde farklı fenolik maddeleri bulmak mümkündür. Metanolün suyla farklı oranlardaki karışımlarının fenolik maddeler için genelde iyi bir çözücü olduğu düşünülmektedir. Ayrıca fenolik maddeler bitki dokularında genellikle şekerlerle esterleşmiş halde bulunurlar ve bu durum glikozid formlarının su ve metanol gibi nispeten polar çözücülerdeki çözünürlüğünü artırmaktadır. Etanol ve etil asetatta ölçülen düşük antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde miktarı değerleri muhtemelen fenolik bileşiklerin bu çözücülerdeki çözünürlüğünün sınırlı olmasından kaynaklanmaktadır. İstisnai bir durum olarak siyabo bitkisinin etanol ekstraktı hem en yüksek toplam fenolik madde miktarı hem de DPPH testinde en yüksek sonuçları vermiştir.

Toplam fenolik madde miktarı bakımından heliz bitkisi etil asetat ekstraktı hariç tüm ekstraktlarda diğer örneklerden daha yüksek sonuçlar vermiştir (metanol ekstraktı için 15,4 µg gallik asit/g dondurularak kurutulmuş ot). Bunu sırasıyla Yabani Nane, Mendi, Sirmo ve Siyabo takip etmiştir. Ancak Siyabo'nun su ve etanol ekstraktları

Sirmo'dan daha yüksek sonuçlar vermiştir. DPPH ve ABTS radikal süpürme aktivitesi bakımından da toplam fenolik madde miktarına benzer sonuçlar gözlemlenmiştir. DPPH testinde heliz bitkisi metanol ekstraktı 15,0 µg trolox/ g dondurularak kurutulmuş ot düzeyiyle en yüksek antiradikal aktiviteyi göstermiştir. Bunu Mendi, Yabani Nane, Sirmo ve Siyabo izlemiştir. Yabani Nane toplam fenolik madde miktarı bakımından Mendi'den daha yüksek değerler vermesine rağmen DPPH radikal süpürme gücü bakımından Mendi daha yüksek sonuçlar vermiştir. Bu durum toplam fenolik madde analizinde ölçülemeyen bazı antioksidan bileşikler bakımından Mendi'nin Yabani Nane'ye oranla daha zengin olmasından kaynaklanmış olabilir. DPPH testinde Sirmo hariç diğer tüm bitkilerde su ekstraktları metanol ekstraktlarından sonra en yüksek sonuçları vermiştir. Bunu etanol ve etil asetat ekstraktları izlemiştir. Ancak Siyabo bitkisinde daha önce de değinildiği gibi etanol ekstraktı metanol de dahil olmak üzere diğer tüm ekstraktlardan daha yüksek değerler vermiştir.

ABTS testinde Yabani Nane için su ekstraktı diğer tüm bitkilerde metanol ekstraktı en yüksek sonuçları vermiştir. Bunu su (Yabani Nane için metanol) etanol ve etil asetat izlemiştir. Metanol ekstraktlarında yüksekten düşüğe doğru Heliz, Mendi, Yabani Nane, Sirmo ve Siyabo farklı düzeylerde radikal süpürme aktivitesi göstermiştir.

Mikroorganizma gelişiminin olmadığı en düşük ekstrakt konsantrasyonları (MIC) baz alınarak yapılan bir değerlendirmede 100 µg/mL'den daha düşük ekstrakt konsantrasyonunda mikrobiyel gelişme engelleniyorsa o ekstraktın antimikrobiyel aktivitesinin iyi olduğu, 100 - 500 µg/mL arasında antimikrobiyel aktivitenin orta seviyede, 500-1000 µg/mL arasında antimikrobiyel aktivitenin zayıf ve 1000 µg/mL'den daha yüksek konsantrasyonlarda ise ekstraktın antimikrobiyel aktivitesinin gözlenemediği kabul edilmiştir [115]. Bu değerlendirme baz alınarak Çizelge 5.1'de verilen mikrobiyel gelişmenin meydana gelmediği en düşük ekstrakt konsantrasyonları (MIC) üzerinden hareketle, Gram pozitif bakterilerin MIC değerleri yabani ot ekstraktlarının Gram pozitif bakterilere karşı genellikle iyi sayılabilecek ölçüde etkiye sahip olduğunu göstermiştir.

Beş bitkinin antimikrobiyel aktivitesi 11 mikroorganizmaya karşı broth dilüsyon tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bulgular dikkate alındığında bitkilerin antimikrobiyel özelliklerinin Gram pozitif bakteriler için az da olsa bir çeşitlilik gösterdiği, Gram negatif bakteriler ve maya için birbirine yakın olduğu görülmüştür (Çizelge 5.1). Minimum inhibisyon konsantrasyonlarına göre incelenen beş bitki arasından Heliz otu metanol ekstraktının antimikrobiyel aktivitesinin Gram pozitif

bakteriler üzerine en güçlü etkiye sahip olduğu, bunu Siyabo metanol ekstraktının takip ettiği belirlenmiştir. Mendi ve Sirmo ekstraktlarının antimikrobiyel aktivitesinin birbirine yakın olduğu, en düşük aktivitenin Yabani Nane ekstraktına ait olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada kullanılan Gram negatif bakteriler arasından *Enterobacter* gelişimini 500 µg/mL'lik konsantrasyonla Sirmo ekstraktının inhibe ettiği, bunun dışında diğer yabani ot ekstraktlarının denenen konsantrasyonlarının Gram negatif bakteriler ve maya üzerinde aktivitesinin bulunmadığı tesbit edilmiştir.

Bu çalışmada 5 yabani ot ekstraktına karşı test edilen bakteriler arasında en hassas bakterinin *S. aureus* olduğu, *Enterobacter*'i hariç olmak üzere diğer Gram negatif bakterilerin ise dirençli oldukları görülmüştür. *S. aureus*'un hassaslığının hücre duvar yapısı ve dış membranından kaynaklandığı düşünülmektedir [71]. Bu çalışmada Gram pozitif bakterilerin Gram negatiflere kıyasla yabani ot ekstraktlarına karşı genellikle daha hassas olduğunu göstermiştir. Elde edilen bu sonuç, literatürde var olan farklı bitki çalışmalarından elde edilen bulgularla [54, 71, 133, 134] uyumlu bulunmuştur. Bu durum Gram negatif ve Gram pozitif bakterilerin hücre zarları arasındaki önemli farklılıklardan dolayı meydana geldiği bilinmektedir. Gram negatif bakteriler, Gram pozitif bakterilerde bulunmayan dış membrana ve periplazmik boşluğa sahiptirler. Gram negatif bakterilerin antibiyotik maddelere dirençleri, çeşitli antibiyotik moleküllerin penetrasyonuna engel olan lipopolisakkarit (LPS) moleküllerince zengin dış membranlarının hidrofilik yüzey ile periplazmik boşlukta bulunan dışarıdan alınan molekülleri parçalama yeteneğine sahip enzimler ile ilgili olduğu bildirilmektedir [135, 136].

Çizelge 5.1. Yabani otların metanol (%70'lik) ekstraktlarının farklı mikroorganizmaların gelişimini inhibe edebilen en düşük konsantrasyonları (MIC)

	Sirmo	Mendi	Siyabo	Yabani Nane	Heliz	Pozitif Kontrol (Gentamicin)	Pozitif Kontrol (Ampisilin)	Negatif Kontrol	
Gram Pozitif Bakteriler	<i>Staphylococcus aureus</i>	250	250	250	>1000	125	12.5	>100	+
	<i>Bacillus cereus</i>	500	500	250	>1000	500	12.5	>100	+
	<i>Enterococcus faecalis</i>	250	250	250	250	250	>100	>100	+
	<i>Streptococcus</i>	500	500	500	>1000	250	25	>100	+
	<i>MRSA</i>	500	500	500	>1000	250	100	>100	+
Gram Negatif Bakteriler	<i>Enterobacter</i>	1000	1000	500	>1000	1000	6.25	>100	+
	<i>Salmonella</i>	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	50	>100	+
	<i>Shigella flexneri</i>	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	12.5	>100	+
	<i>Klebsiella</i>	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	12.5	>100	+
	<i>Escherichia coli</i>	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	12.5	>100	+
Maya	<i>Candida albicans</i>	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	Test edilmedi	Test edilmedi	+

Gram pozitif bakteriler böyle bir dış membrana ve hücre duvar yapısına sahip değildir. Antimikrobiyel moleküller Gram pozitif bakterilerin hücre duvarını ve stoplazmik membranı kolaylıkla yıkarak stoplazmanın zarar görmesine ve dolayısıyla koagülasyona neden olmaktadır [137]. Bu çalışmada Gram pozitif bakteriler beş bitki ekstraktına karşı gram negatif bakterilere göre daha hassas olmalarına rağmen test edilen bitkilerin farklı bakterilere karşı farklı etkinliklerinin nedenleri sadece yukarıda anlatılan bilgiler değildir, çünkü beş bitki ekstraktının *S. aureus*'a karşı inhibisyon aktivitesinin *B. cereus*'a karşı inhibisyon aktivitesinden daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu durum bize bitkiler içinde bulunan aktif bileşik(lerin) farklı mekanizma ile çalıştığını düşündürebilir.

Otlu peynir yapımında kullanılan yabani otlardan bazılarının peynir yapımında starter kültür olarak kullanılan mezofilik laktik asit bakterilerinin gelişimleri üzerine olumsuz etkide bulunmadıkları bildirilmiştir [82]. Peynir gibi değişik gıdalarda

kullanılan baharat esaslı bitkilerde bulunan antibakteriyel bileşiklere karşı laktik asit bakterilerinin genellikle dayanıklı olduğu belirlenmiştir [84].

Son yıllarda baharat kullanımını antimikrobiyel etkileri açısından da önem kazanmaktadır. Gıda, ilaç, parfüm ve kozmetik ürünlerinde istenmeyen mikroorganizma gelişmesini önlemek için çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Baharat olarak kullanılan bitkiler (ekstraktları, uçucu yağları ve bileşikleri) çoğunlukla besiyeri ortamında değişik bakteri, küf ve maya türlerine karşı denenmektedir [138].

Bu tez çalışmasından elde edilen bulgulara göre Otlı peynir yapımında başlıca kullanılan beş yabani otun bileşimsel olarak farklı özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir.

6. KAYNAKLAR

- [1] A. Akgül, *Baharat Bilimi ve Teknolojisi*. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Ankara. 1993.
- [2] H. Baydar, “Tıbbi, Aromatik ve Keyf Bitkileri Bilimi ve Teknolojisi”, Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi SDÜ Yayın no: 51, Isparta, 2005, p.216.
- [3] T. Baytop, *Farmasötik Botanik Ders Kitabı*, İ.Ü. Yayınları No: 3637, İstanbul. 1991.
- [4] B. Halliwell, *Antioxidants and human disease: a general introduction*. **Nutr. Rev.** 55 (1997). 544–552.
- [5] D.E. Pszczola, *Antioxidants: From preserving food quality to quality of life*. **Food Technol.** 55 (2001) 51–59.
- [6] J. Kanner, S. Harel, R. Granit, *Betalains—A new class of dietary cationized antioxidants*. **J. Agric. Food Chem.** 49 (2001) 5178–5185.
- [7] R.F. Almeida-Doria, A.B. Regitano-Darce, (2000). Antioxidant level of rosemary and oregano ethanol extracts in soybean oil under thermal oxidation. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, 20(2), Campinas May/August, <http://www.scielo.br>
- [8] S. Tang, D. Sheehan, D.J. Buckley, P.A. Morrissey, J.P. Kerry, *Antioxidant level of added tea catechins on lipid oxidation of raw minced red meat, poultry and fish muscle*. **Int. J. Food Sci. Technol.** 36 (2001) 685–692.
- [9] B. Shan, Y.Z. Cai, J.D. Brooks, H. Corke, *The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts*. **Int. J. Food Microbiol.** 117 (2007) 112–119.
- [10] B. Shan, Y.Z. Cai, M. Sun, H. Corke, *Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents*. **J. Agric. Food Chem.** 53 (2005) 7749–7759.
- [11] H.J.D. Dorman, P. Surai, S.G. Deans, *In vitro antioxidant activity of a number of plant essential oils and phytoconstituents*. **J. Essent. Oil Res.** 12 (2000) 241-248.
- [12] T. Masuda , S. Yonemori, Y. Oyama, Y. Takeda, T. Tanaka, T. Andoh, A. Shinohara, M. Nakata, *Evaluation of the antioxidant activity of environmental plants: Activity of the leaf extracts from seashore plants* **J. Agric. Food Chem.** 47 (1999) 1749-1754.
- [13] K.G. Lee, T. Shibamoto, *Antioxidant properties of aroma compounds isolated from soybeans and mung beans*. **J. Agric. Food Chem.** 48:9 (2000) 4290-4293.
- [14] M.C. Yin, W.S. Cheng *Antioxidant activity of several Allium members*. **J. Agric. Food Chem.** 46:10 (1998) 4097-4101.
- [15] R. Firouzi, M. Azadbakht, A. Nabinedjad *Anti-listerial activity of essential oils of some plants*. **J. Appl. Anim. Res.** 14:1 (1998) 75-80.
- [16] P.J. Delaquis, G. Mazza *Antimicrobial properties of isothiocyanates in food preservation*, **Food Technol.** 49:11 (1995) 73-78.
- [17] Z.E. Sikorski, *Chemical and functional properties of food components*. CRC Pres. Second Edition, 2002, p.243-245.

- [18] E.M. Becker, L.R. Nissen, L.H. Kibsted, *Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects*, **Eur. Food Res. Technol.** 219 (2004) 561-571
- [19] B. Halliwell, and J.M.C. Gutteridge, *Free Radicals in Biology and Medicine*, New York: Oxford University Press, 1985, p. 20-64.
- [20] D.B. Min, and J.M. Boff, "Lipid Oxidation of Edible Oils" in C.C. Akoh, and D.B. Min (Ed.) *Food Lipids, Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*, Marcel Dekker, Inc. New York, Basel, 2002, p.335.
- [21] H. Shi, N. Noguchi and E. Niki, "Introducing natural antioxidants" in J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon (Ed.) *Antioxidants in Food*, CRC Pres, Cambridge, England, 2001, (E-kitap)
- [22] M. Valko, C.J. Rhodes, J. Moncol, M. Izakovic and M. Mazur, *Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer*, **Chem-Biol. Interact.** 160 (2006) 1-40.
- [23] M.K. Eberhardt, *Reactive oxygen metabolites*, CRC Pres, 2001, p.261.
- [24] B. Halliwell, J.M. Gutteridge, *Free Radicals in Biology and Medicine*, Clarendon Press, Oxford, (2nd ed.) 1989, p. 543.
- [25] T.W. Goodwin, *Biochemistry of the Carotenoids, Vol.1: Plants*, 2nd ed., Chapman and Hall, New York, 1980, p.1-95.
- [26] D.S. Goodman, *Metabolism of Beta-carotene and Vitamin A*. **Proc. Biochem. Pharmacol.** 3 (1967) 487-97.
- [27] A.J. Young, and G.M. Lowe, *Antioxidant and Prooxidant Properties of Carotenoids*, **Arch. Biochem. Bioph.** 385 (2001) 20–27.
- [28] K.M. Haila, B.R. Nielsen, M.I. Heinonen, L.H. Skibsted, *Carotenoid reaction with free radicals in acetone and toluene at different oxygen partial pressures*, **Z. Lebensm. Unters. Forsch. A**, 204 (1997) 81-87.
- [29] C.S. Foote, and R.W Denny, *Chemistry of singlet oxygen. VII. Quenching by β -carotene*, **J. Am. Chem. Soc.**, 90 (1968) 6233-6235.
- [30] M. Kayahan, "Lipidler" In Saldamlı, I. (Ed.) *Gıda Kimyası*. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, 1998, p. 107-191.
- [31] R. Randhir, K. Shetty, *Developmental stimulation of total phenolics and related antioxidant activity in light- and darkgerminated corn by natural elicitors*. **Process Biochem.** 40 (2005) 1721–1732.
- [32] J. Loliger, "The use of antioxidants in food". In *Free Radicals and Food Additives*; O.I. Aruoma, B. Halliwell, Eds.; Taylor and Francis: London, 1991, p.129-150.
- [33] M. Serafini, G. Maiani, A. Ferro-Luzzi, *Alcohol-free red wine enhances plasma antioxidant capacity in humans*. **J. Nutr.** 128:6 (1998) 1003-1007.
- [34] G. Cao, S.L. Booth, J.A. Sadowski, R.L. Prior, *Increases in human plasma antioxidant capacity after consumption of controlled diets high in fruit and vegetables*. **Am. J. Clin. Nutr.** 68, (1998) 1081-1087.
- [35] M.G.L. Hertog, E.J.M. Feskens, P.C.H. Hollman, M.B. Katan, D. Kromhout, *Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen elderly study*. **Lancet**, 342 (1993) 1007-1011.

- [36] N. Ramarathnam, H. Ochi, M. Takeuchi, "Antioxidant defense system in vegetable extracts." In *Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects, and Applications*; F. Shahidi, Ed.; AOCS Press: Champaign, IL, 1997, p.76-87.
- [37] H.-W. Heldt, *Plant biochemistry and molecular biology*; Oxford University Press: Oxford, 1997.
- [38] C.-A. Rice-Evans, N.J. Miller, P.G. Bolwell, P.M. Bramley, J.B. Pridham, *The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids*. **Free Radical Res.** 22 (1995) 375-383.
- [39] A.S. Meyer, O.-S. Yi, D.A. Pearson, A.I. Waterhouse, E.N. Frankel, *Inhibition of human low-density lipoprotein oxidation in relation to composition of phenolic antioxidants in grapes*. **J. Agric. Food Chem.** 45 (1997) 1638-1643.
- [40] H. Wang, G. Cao, R.L. Prior, *Total antioxidant capacity of fruits*. **J. Agric. Food Chem.** 44 (1996) 701-705.
- [41] A.P. Kulkarni, S.M. Aradhya and S. Divakar, *Isolation and identification of a radical scavenging antioxidant punicalagin from pith and carpellary membrane of pomegranate fruit*. **Food Chem.** 87 (2004) 551-557.
- [42] W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, and C. Berset, *Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity*. **Lebensm. Wiss. Technol.** 28 (1997) 25-30.
- [43] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang and C. Rice-Evans, *Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay*, **Free Rad. Biol. Med.**, 26 (1999) 1231-1237.
- [44] M. Oyaizu, *Studies on products of browning reactions antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine*. **Jap. J Nutr.**, 44 (1986) 307-315.
- [45] H.E. Miller, *A simplified method for the evaluation of antioxidants*. **J. Am. Oil Chem. Soc.** 48 (1971) 91-97.
- [46] J.C. Espin, C. Soler-Rivas, and H.J. Wichers, *Characterization of the Total Free Radical Scavenger Capacity of Vegetable Oils and Oil Fractions Using 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl Radical*, **J. Agric. Food Chem.**, 48 (2000) 648-656.
- [47] J.H. Meng, S.H. Zhao, M.P. Doyle, S.W. Joseph, *Antibiotic resistance of Escherichia coli O157: H7 and O157: NM isolated from animals, food, and humans*. **J. Food Protect.** 61 (1998) 1511-1514.
- [48] V. Perreten, N. Giampa, U. Schuler-Schmid, M. Teuber, *Antibiotic resistance genes in coagulase-negative staphylococci isolated from food*. **Sys. Appl. Microb.** 21 (1998) 113-120.
- [49] F.R. Stermitz, J. Tawara-Matsuda, P. Lorenz, P. Mueller, L. Zenewicz, K. Lewis, *5'-methoxyhydnicarpin-D and pheophorbide A: berberis species components that potentiate berberine growth inhibition of resistant Staphylococcus aureus*. **J. Nat. Products** 63 (2000) 1146-1149.
- [50] E.J. Smid, L.G.M. Gorris, "Natural antimicrobials for food preservation". In: M.S. Rahman, (Ed.), *Handbook of Food Preservation*. Marcel Dekker, New York, 1999 p. 285-308.
- [51] L.R. Beuchat, D.A. Golden, *Antimicrobials occurring naturally in foods*. **Food Technol.** 43 (1989) 134-142.

- [52] M. Lis-Balchin, S.G. Deans, *Bioactivity of selected plant essential oils against Listeria monocytogenes*. **J. Appl. Microb.** 82 (1997) 759–762.
- [53] L.R. Beuchat, “Antimicrobial properties of spices and their essential oils.” In: Y.M. Dillon, R.G. Board, (Eds.), *Natural Antimicrobial Systems and Food Preservation*. CAB International, Oxon, 1994 p.167–179.
- [54] A. Smith-Palmer, J. Stewart, L. Fyfe, *Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food – borne pathogens*. **Lett. Appl. Microbiol.** 26 (1998) 118-122.
- [55] Y. Hara-Kudo, A. Kobayashi, Y. Sugita-Konishi, K. Kondo, *Antibacterial activity of plants used in cooking for aroma and taste*. **J. Food Protect.** 67 (2004) 2820–2824.
- [56] G.J.E. Nychas, C.C. Tassou, P. Skandamis, “Antimicrobials from herbs and spices”. In: Roller, S.M. (Ed.), *Natural Antimicrobials for the Minimal Processing of Foods*. CRC Press, Woodhead Publishers, New York, 2003, p. 176–200.
- [57] J.M. Mylotte, C. McDermott, J.A. Spooner, *Prospective study of 114 consecutive episodes of Staphylococcus aureus bacteria*. **Rev. Infect. Dis.** 9 (1987) 891–907.
- [58] S. Burt, *Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods—A review*. **Int. J. Food Microb.** 94 (2004) 223–253.
- [59] P.J. Delaquis, K. Stanich, S. Girard, G. Mazza, *Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils*. **Int. J. Food Microb.** 74, (2002) 101–109.
- [60] M. Nevas, A.-R. Korhonen, M. Lindstrom, P. Turkki, H. Korkeala, *Antibacterial efficiency of Finnish spice essential oils against pathogenic and spoilage bacteria*. **J. Food Protect.** 67 (2004) 199–202.
- [61] L.A. Shelef, *Antimicrobial effects of spices*. **J. Food. Safety** 6 (1983) 29-44.
- [62] G.J.E. Nychas, “Natural antimicrobials from plants”. In: Gould, G. W. (Ed.), *New Methods of Food Preservation*. London, Blackie: Academic Professional. 1995, p.58.
- [63] M. Özcan, *Inhibitory of spice extracts on the growth of Aspergillus parasiticus NRRL 2999 strain*. **Z. Lebens-Unter.-Forsch. A**, 207 (1998) 253–255.
- [64] H.L. Madsen, G. Bertelsen, *Spices as antioxidants*. **Trends Food Sci. Tech.** 6 (1995) 271-277.
- [65] D.W. Reische, D.A. Lillard, R.R. Eintenmiller, “Antioxidants in food lipids”. In C.C. Ahoh and D. B. Min (Eds.), *Chemistry, nutrition and biotechnology*. New York: Marcel Dekker. 1998, p.423-448.
- [66] R.S. Farag, Z.Y. Daw, F.M. Hewedi, G.S.A. El-Baroty, *Antimicrobial activity of some egyptian spice essential oils*. **J. Food Protect.** 52 (1989) 665-667.
- [67] R. Bruni, A. Medici, E. Andreotti, C. Fantin, M. Muzzoli, M. Dehesa, *Chemical composition and biological activities of Ishpingo essential oil, A traditional Ecuadorian spice of Ocotea quixos (Lam) Kosterm. (Lauraceae) flower calices*. **Food Chem.** 85:3 (2003) 415-421.

- [68] Y.Z. Cai, Q. Luo, M. Sun, H. Corke, *Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer*. **Life Sci.** 74 (2004) 2157–2184.
- [69] C.Q. Wu, F. Chen, X. Wang, H.J. Kim, G.Q. He, V. Haley-Zitlin, G. Huang, *Antioxidant constituents in fever few (*Tanacetum parthenium*) extract and their chromatographic quantification*. **Food Chem.** 96 (2006) 220–227.
- [70] N. Paster, M. Menasherov, U. Ravid, B. Juven, *Antifungal activity of oregano and thyme essential oils applied as fumigants against fungi attacking stored grain*. **J. Food Protect.** 58 (1995) 81-85.
- [71] L.L. Zaika, *Spices and herbs—their antimicrobial activity and its determination*. **J. Food Safety** 9 (1988) 97-118.
- [72] A. Kurt, *Van otlı peynirleri üzerine araştırmalar*. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ziraat Araştırmalar Enstitüsü Bülteni No: 33 (1968) s.29.
- [73] H. Coşkun, *Otlı Peynir*, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No:31, Bolu, 2005, s.1-25.
- [74] H. Coskun, B. Öztürk, *Vitamin C contents of some herbs used in Van herby cheese (Van otlı peyniri)*. **Nahrung**, 44 (2000) 379–380.
- [75] H. Özçelik, *Van ve yöresinde süt mamüllerinin hazırlanmasında yararlanılan bitkilerin kullanılışları üzerinde bir araştırma*. **Türk Tarım ve Ormancılık Dergisi**, 13 (1989) 356-360.
- [76] N. Akyüz, H. Özçelik, *Eski bir Anadolu gıdası otlı peynir*, **Bilim ve Teknik**, 25 (1992) 48-49.
- [77] A. Öztürk, S. Öztürk, ř. Kartal, *Van otlı peynirlerine katılan bitkilerin özellikleri ve kullanılışları*. **Ot Sistematik Botanik Dergisi**, 7 (2000) 167-179.
- [78] N. Akyüz, H. Coşkun, S. Andiç, İ. Altun, *Some general charecteristics of pickled herbs used in making Van Herby Cheese*. **YYÜ Ziraat Fakültesi Dergisi**, 6 (1996) 35-41.
- [79] A.Akgül, M. Kıvanç, *Inhibitory effectes of six Turkish thyme-like spices on some common food-borne bacteria*. **Die Nahrung**, 32 (1989) 201-203.
- [80] T. Baytop, *Türkiye’de bitkiler ile tedavi*. **İstanbul Üniversitesi Yayınları** 3255, İstanbul 1984
- [81] H. Coşkun, “*Van otlı peynirlerinde, peynire katılan otların peynirin duysal, fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik niteliklerine, olgunlaşmasına etkileri üzerinde bir araştırma*” Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van,1990
- [82] H. Coşkun, *Otlı peynir yapımında kullanılan bazı otların mezofilik starter kültürlerin aktivitesi üzerine etkisi*. Gıda Mühendisliği Kongre ve Sergisi Kongre Kitabı (16-18 Eylül) Gaziantep 1998 s.39-46.
- [83] I. Bakırcı, *The effects of herbs on the activities of thermophylic dairy cultures*. **Nahrung**, 43 (1999) 333-335.
- [84] L.A. Shelef, O.A. Naglik, D.W. Bogen, *Sensitivity of some common food-borne bacteria to the species sage, rosemary, and aaspice*. **J. Food Sci.** 45 (1977) 1042-1045.

- [85] H. Coşkun, B. Tunçtürk, *Vitamin-C contents of some herbs used in Van Herby cheese (Van Otlı Peyniri)*. **Nahrung**, 44 (2000) 379-380.
- [86] Z. Tarakçı, *Siyabonun (Ferula sp) otlı peynirin olgunlaşması üzerine etkisi*. **YYÜ Tarım Bilimleri Dergisi**, 15 (2005) 53-56.
- [87] S. Ağaoğlu, Z. Mengel, F. Tutuş, Beyaz ve otlı peynirde bazı metal (Cu, Zn ve Mn) kalıntı düzeylerinin tespiti üzerinde araştırmalar. 2000'li yıllarda Gıda Bilimi ve Teknolojisi Kongresi (18-20 Ekim 1999), İzmir, s.50.
- [88] A. Aksoy, E. Sağun, İ. Türel, N. Okut, *Van otlı peynirlerinin nitrat ve nitrit düzeyleri*. **Selçuk Üniversitesi Veteriner Bilimler Dergisi**, 13 (1997) 107-111.
- [89] H. Coşkun, İ. Bakırcı, Ş. Işık, *A study on the determination of herb-addition rate in Van herby cheese*. **YYÜ Ziraat Fakültesi Dergisi**, 6 (1996) 97-103.
- [90] A. Yetişmeyen, M. Yıldırım, Z. Yıldırım, *Ankara piyasasında tüketime sunulan otlı peynirlerin kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşsal niteliklerinin belirlenmesi*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi yayınları, 1273 (1992) 1-17.
- [91] A. Sönmezsoy, "Kozluk-Batman bölgesinde üretilen ve satışı sunulan otlı peynirlerin fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşsal özellikleri üzerinde bir araştırma" Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van, 1994
- [92] Y. Sancak, "Van ve çevresinde olgunlaştırılmış olarak tüketime sunulan otlı peynirlerin mikrobiyolojik, fiziksel ve kimyasal kalitesi üzerine araştırmalar" Doktora Tezi, Ankara üniversitesi, Ankara, 1989
- [93] Y.C. Sancak, B. Boynukara, H. Yardımcı, *Van otlı peynirlerinde Brucellaların varlığı ve dayanma süresi üzerine bir araştırma*. **Veterinarium**, 4 (1993) 1-3.
- [94] O. Sağdıç, B. Şimşek, E. Küçüköner, *Microbiological and physicochemical characteristics of Van herby cheese, a traditional Turkish dairy product*. **Milchwissenschaft**, 58 (2003) 382-385.
- [95] S.E. Çelik, M. Özyürek, M. Altun, B. Bektaşoğlu, K. Güçlü, I. Berker, F. Özgökçe, R. Apak, *Antioxidant capacities of herbal plants used in the manufacture of Van herby cheese: "Otlı Peynir"*. **Int. J. Food Proper**. 11 (2008) 747-761,
- [96] M. Merai, V.R. Boghra, R.S. Sharma, *Extraction of antioxidenic principles from Tulsi leaves and their effects on oxidative stability of ghee*. **J. Food Sci. Technol.** 40 (2003) 52-57.
- [97] G. Skrede, V. Bryhn Larsen, K. Aaby, A. Skivik Jorgensen, S.E. Birkeland, *Antioxidative properties of commercial fruit preparations and stability of bilberry and black currant extracts in milk products*. **J. Food Sci.** 69 (2004) 351-356.
- [98] N. Noguchi, E. Niki, "Chemistry of active oxygen species and antioxidants". In *Antioxidant Status, Diet, Nutrition and Health*, 20th Ed (M.P. Papas, ed.) CRC Press, Boca Raton, FL, 1999, p. 650.
- [99] B. Archana, N. Dasgupta, B. De, *In vitro study of antioxidant activity of Syzygium cumini fruit*. **Food Chem.** 90 (2005) 727-733.

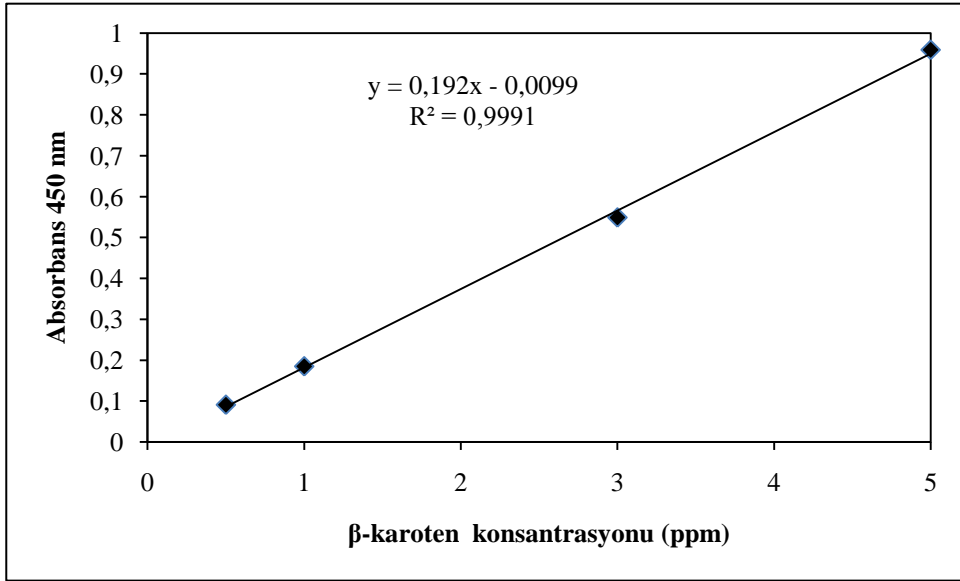
- [100] K. Karmanoli, "Secondary metabolites as allelochemicals in plant defence against microorganisms of the phyllosphere". In: M. Reigosa, N. Pedrol, (Eds.), *Allelopathy from Molecules to Ecosystems*. Science Publishers Inc., NH, USA, 2002, p. 277–288.
- [101] D. Galato, K. Ckless, M.F. Susin, C. Giacomelli, R.M. Ribeiro Do Valle, A. Spinelli, *Antioxidant capacity of phenolic and related compounds: correlation among electrochemical, visible spectroscopy methods and structureantioxidant activity*. **Redox. Rep.** 6 (2001) 243–250.
- [102] A.T. Borchers, C.L. Keen, M.E. Gerstwin, *Mushrooms, tumors, and immunity: an update*. **Exp. Biol. Med.** 229 (2004) 393–406.
- [103] J.A. Morris, A. Khettry, E.W. Seitz, *Antimicrobial activity of aroma chemicals and essential oils*. **J. Am. Oil Chem. Soc.** 56 (1979) 595–603.
- [104] A. Cakir, S. Kordali, H. Zengin, S. Izumi, T. Hirata, *Composition and antifungal activity of essential oils isolated from *Hypericum hyssopifolium* and *Hypericum heterophyllum**. **Flavour Frag J.** 19 (2004) 62–68.
- [105] J.E.F. Reynolds, "Martindale the Extra Pharmacopoeia", 31st ed. *Royal Pharmaceutical Society of Great Britain*, London. 1996.
- [106] N. Bezic, M. Skocibusic, V. Dinkic, A. Radonic, *Composition and antimicrobial activity of *Achillea clavennae* L. essential oil*. **Phytother. Res.** 17 (2003) 1037–1040.
- [107] B. de Ancos, E.M. Gonzalez, M.P. Cano, *Ellagic acid, vitamin C, and total phenolic contents and radical scavenging capacity affected by freezing and frozen storage in raspberry fruit*. **J. Agric. Food Chem.** 48 (2000) 4565–4570.
- [108] TS-2131 ISO 928, Baharat ve Çeşni veren Bitkiler-Toplam Kül Miktarı Tayini, TSE, Ankara (2001).
- [109] AOAC. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**, (1990) 15 th Edition, (Ed) S. Williams, Arlington, Virginia.
- [110] N. Şahin, C. Akoh, A. Karaali, *Lipase-Catalyzed Acidolysis of Tripalmitin with Hazelnut Oil Fatty Acids and Stearic Acid To Produce Human Milk Fat Substitutes*, **J. Agric. Food Chem.** 53 (2005) 5779–5783.
- [111] C.M. Andre, M. Ghislain, P. Bertin, M. Oufir, M. Del Rosario Herrera, L. Hoffmann, J.-F. Hausman, Y. Larondelle, D. Evers, *Andean Potato Cultivars (*Solanum tuberosum* L.) as a Source of Antioxidant and Mineral Micronutrients*. **J. Agric. Food Chem.** 55 (2007) 366–378.
- [112] Y.S. Velioglu, G. Mazza, L. Gao, B.D. Oomah, *Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products*. **J. Agric. Food Chem.** 46 (1998) 4113–4117.
- [113] W. Brand-Williams, M.E. Cuvelier C. Berset, *Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity*. **LWT - Food Sci. Tech.** 28 (1995) 25–30.
- [114] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, C. Rice-Evans, *Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay*. **Free Radic. Biol. Med.** 26 (1999) 1231–1237.

- [115] G.L. Pessini, B.P.D. Filho, C.V. Nakamura, D.A.G. Cortez, *Antibacterial activity of extracts and neolignans from Piper regnellii (Miq.) C. DC. var. pallescens (C. DC.) Yunck. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 98 (2003) 1115-1120.
- [116] A. Baysal, S. Keçecioglu, U. Güneyli, S. Yücecan, G. Pekcan, P. Arslan, S. Birer, F. Sağlam, M. Yurttagül, R. Çehreli, *Besinlerin bileşimi*, Türkiye Diyetisyenler Derneği Yayını, 2. Baskı, Ankara 1988 p17-24.
- [117] G.A. Spiller, "Dietary fiber in prevention and treatment of disease." In G.A. Spiller (Eds). *CRC handbook of dietary fiber in human nutrition*, CRC Press LLC, Washington 2001, p 363-431.
- [118] A. Aberaoumand, S.S. Deokule, *Studies on nutritional values of some wild edible plants from Iran and India. Pakistan J. Nutr.* 8 (2009) 26-31.
- [119] M. Bunzel, A. Seiler, H. Steinhart, *Characterization of Dietary Fiber Lignins from Fruits and Vegetables Using the DFRC Method. J. Agric. Food Chem.* 53 (2005) 9553-9559.
- [120] A. Bertoli, F. Menichini, M. Mazzetti, G. Spinelli, I. Morelli, *Volatile constituents of the leaves and flowers of Hypericum triquetrifolium Turra. Flavour Frag. J.* 18 (2003) 91-94.
- [121] H.-W. Jang, M.-H. Ka, K.-G. Lee, *Antioxidant activity and characterization of volatile extracts of Capsicum annum L. and Allium spp. Flavour Frag. J.* 23 (2008) 178-184.
- [122] M. Takahashi, T. Shibamoto, *Chemical Compositions and Antioxidant/Anti-inflammatory Activities of Steam Distillate from Freeze-Dried Onion (Allium cepa L.) Sprout. J. Agric. Food Chem.* 56 (2008) 10462–10467.
- [123] R. Bos, A. Koulman, H.J. Woerdenbag, W.J. Quax, N. Pras, *Volatile components from Anthriscus sylvestris (L.) Hoffm. J.Chromatog. A*, 966 (2002) 233–238
- [124] A. Jürgens, *Flowerscent composition in diurnal Silene species (Caryophyllaceae): phylogenetic constraints or adaption to flower visitors? Biochem. Syst. Ecology*32 (2004) 841–859.
- [125] R.S. Chauhan, M.K. Kaul, A.K. Shahi, Arun Kumar, G. Ram, A. Tawa, *Chemical composition of essential oils in Mentha spicata L. accession [IIM(J)26] from North-West Himalayan region, India. Ind. Crop. Prod.* 29 (2009) 654–656.
- [126] F. Maggi, D. Lucarini, B. Tirillini, G. Sagratini, F. Papa, S. Vittori, *Chemical analysis of the essential oil of Ferula glauca L. (Apiaceae) growing in Marche (central Italy). Biochem. Syst. Ecol.* 37 (2009) 432–441.
- [127] B. Kandlakunta, A. Rajendran, L. Thingnganing, *Carotene content of some common (cereals, pulses, vegetables, spices and condiments) and unconventional sources of plant origin. Food Chem.* 106 (2008) 85-89.
- [128] E.A. Ainsworth, K.M. Gillespie, *Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. Nat. Protoc.* 2 (2007) 875-877.

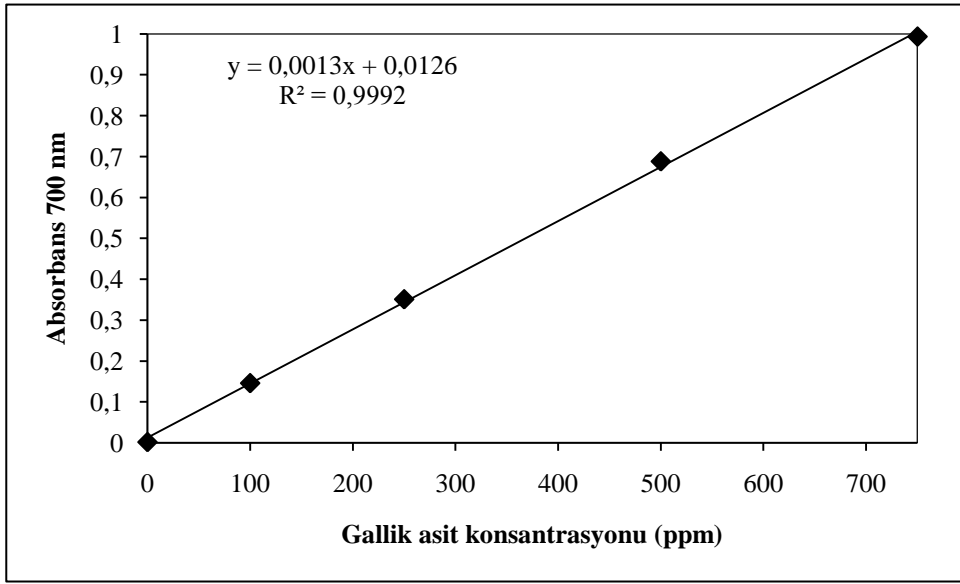
- [129] V.K. Bajpai, S.M. Al-Reza, U.K. Choi, J.H. Lee, S.C. Kang, *Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of leaf essential oil and extracts of Metasequoia glyptostroboides Miki ex Hu.* **Food Chem. Toxicol.** 47 (2009) 1876-1883.
- [130] M.P. Kahkonen, A.I. Hopia, H.J. Vuorela, J.-P. Rauha, K. Pihlaja, T.S. Kujala, M. Heinonen, *Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds.* **J. Agric. Food Chem.** 47 (1999) 3954-3962.
- [131] M. Lúcio, C. Nunes, D. Gaspar, H. Ferreira, J.L.F.C. Lima, S. Reis, *Antioxidant activity of vitamin E and Trolox: Understanding of the factors that govern lipid peroxidation studies In vitro.* **Food Biophysics** 4 (2009) 312-320.
- [132] P. Siddhuraju, K. Becker, *Antioxidant Properties of Various Solvent Extracts of Total Phenolic Constituents from Three Different Agroclimatic Origins of Drumstick Tree (Moringa oleifera Lam.) Leaves.* **J. Agric. Food Chem.** 51 (2003) 2144-2155.
- [133] E. Ceylan, D.Y.C. Fung, *Antimicrobial activity of spices.* **J. Rapid Method Auto. Microbiol.** 12 (2004) 1-55.
- [134] P. Lopez, C. Sanchez, R. Batlle, C. Nerin, *Solid and vapor phase antimicrobial activities and six essential oils; susceptibility of selected food borne bacterial and fungal strains.* **J. Agric. Food Chem.** 53 (2005) 6939-6946.
- [135] A.D. Russell, *Mechanisms of bacterial- resistance to non-antibiotics food-additives and food and pharmaceutical preservatives.* **J. Appl. Bacteriol.** 71 (1991) 191-201.
- [136] H. Nikaido, *Prevention of drug access to bacterial targets permeability barriers and active efflux.* **Science** 264 (1994) 382-388.
- [137] D. Kalembe, A. Kunica, *Antibacterial and antifungal properties of essential oils.* **Curr. Med. Chem.** 10, (2003) 813-829.
- [138] J.S. Pruthi, *Spices and Condiments*, Academic Press, New York. 1980.

7. EKLER

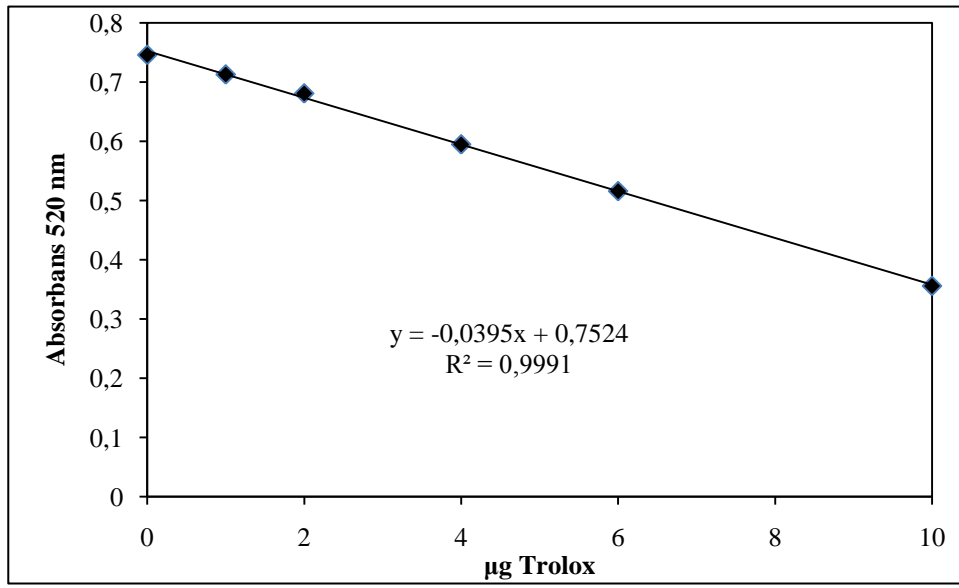
EK 1. β -karoten standart eğrisi



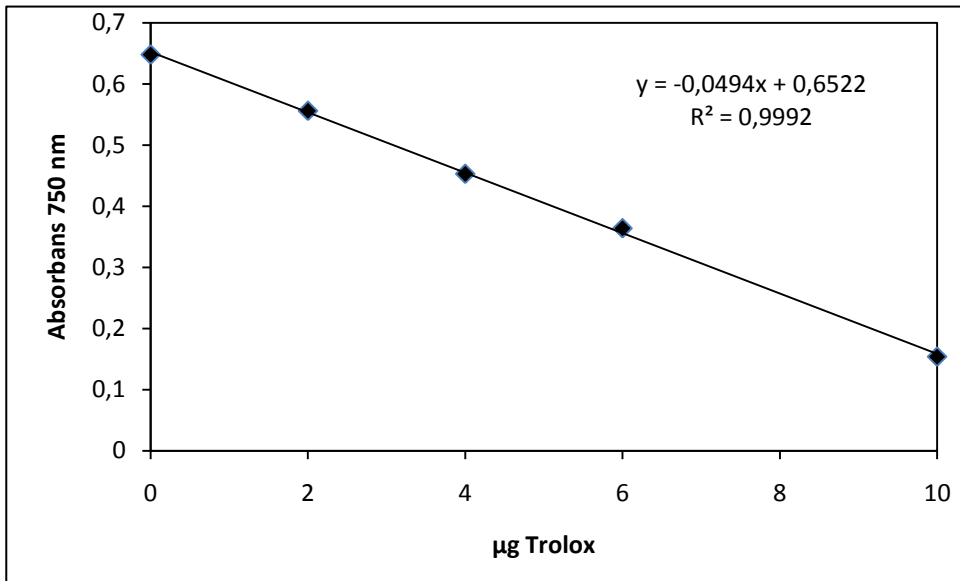
EK 2. Gallik asit standart eğrisi



EK 3. Trolox standart eğrisi (DPPH testi)



EK 4. Trolox standart eğrisi (ABTS testi)



ÖZGEÇMİŞ

Şahin Dağdelen,

1975 yılında Malatya'da doğdu. İlköğrenimini Şehit Asteğmen Feyzullah Taşkınsoy İlkokulu'nda, orta öğrenimini Malatya Atatürk Ortaokulu'nda, lise öğrenimini Malatya Lisesi'nde ve 1995 yılında başladığı lisans öğrenimini İnönü Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde 1998 yılında tamamladı. 1999 yılı Şubat ayında aynı bölümde Yüksek Lisans eğitimine başladı. 2001 yılı Mart ayında eğitimine ara verdi. 2009 yılı Şubat ayında yüksek lisans eğitimine yeniden başladı. Halen 2'nci Ordu B Tipi Gıda Kontrol Müfreze Komutanlığı / MALATYA'da Gıda Mühendisi olarak çalışmakta olup, evli ve bir çocuk babasıdır.