



T.C.
NİĞDE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

ÜLKEMİZDE YAYGIN OLARAK KULLANILAN BAZI BAHARATLARIN
ANTMİKROBİYAL AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

EMİR KARANKI

Haziran 2013

T.C.
NİĞDE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

ÜLKEMİZDE YAYGIN OLARAK KULLANILAN BAZI BAHARATLARIN
ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

EMİR KARANKI

Yüksek Lisans Tezi

Danışman
Yrd. Doç. Dr. Tuba ARTAN ONAT

Haziran 2013

Emir KARANKI tarafından **Yrd. Doç. Dr. Tuba ARTAN ONAT** danışmanlığında hazırlanan “**Ülkemizde Yaygın Olarak Kullanılan Bazı Baharatların Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji** Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan :Yrd. Doç. Dr. Tuba ARTAN ONAT, Niğde Üniversitesi



Üye :Yrd. Doç. Dr. Aydın KILIÇ, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi



Üye :Doç. Dr. Tülay EZER, Niğde Üniversitesi



ONAY:

Bu tez, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenmiş olan yukarıdaki jüri üyeleri tarafından/...../20.... tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu’nun/...../20.... tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

...../...../20...

Doç. Dr. Osman SİVRİKAYA

MÜDÜR

TEZ BİLDİRİMİ

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

Emir KARANKI

ÖZET

ÜLKEMİZDE YAYGIN OLARAK KULLANILAN BAZI BAHARATLARIN ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

KARANKI, Emir

Niğde Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Ana Bilim Dalı

Danışman

:Yrd. Doç. Dr. Tuba ARTAN ONAT

Haziran 2013, 73 sayfa

Bu çalışmada ülkemizde yaygın olarak kullanılan 5 baharat türünün 5 farklı mikroorganizma üzerinde antimikrobiyal etkisi *in vitro* olarak incelenmiştir. Ekstraksiyon için maserasyon ve sonikasyon yöntemleri uygulanmış; etanol, metanol, aseton ve distile su çözücü olarak kullanılmıştır. Maserasyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlar 40 °C’de 2, 3, 4, 5, 6, 12 ve 24 saatte, sonikasyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlar ise 40 kHz frekansta 5, 10, 15, 30, 60 ve 90 dakikada hazırlanmıştır. Çalışmada en yüksek antimikrobiyal etki genel olarak etanol ekstraktlarında görülürken distile su ile hazırlanmış ekstraktlar antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. Çalışmada kullanılan baharatlara karşı en hassas mikroorganizma *Proteus mirabilis* 235 suşu iken, *Candida albicans* ATCC 26231 en dirençli suş olarak belirlenmiştir. Ayrıca en yüksek antimikrobiyal aktivite gösteren ekstraktların Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) çalışılmıştır. Genel olarak MİK değerleri en yüksek 3,12 µl/ml, en düşük ise 50 µl/ml olarak belirlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Baharat, antimikrobiyal aktivite, ekstraksiyon, maserasyon, sonikasyon, disk difüzyon, minimum inhibisyon konsantrasyonu

SUMMARY

THE ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF SOME SPICES COMMONLY USED IN OUR COUNTRY

KARANKI, Emir

Nigde University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor :Asistant Professor Dr. Tuba ARTAN ONAT

June 2013, 73 pages

In this study, the antimicrobial activity of 5 different spices, which widely used in our country, were investigated *in vitro* against 5 different microorganisms. For the plant extraction, maceration and sonication methods were applied; ethanol, methanol, acetone and distilled water were used as solvents. The extracts which applied to antimicrobial activity were performed with the maceration method for 2, 3, 4, 5, 6, 12 and 24 hours at 40 °C and the sonication method for 5, 10, 15, 30, 60 and 90 minutes at 40 kHz. In this study, the ethanol extracts were showed generally highest antimicrobial activity, on the other hand, the extracts which performed with distilled water were not showed antimicrobial activity. In the study, while *Proteus mirabilis* 235 were determined as the most sensetive strain, moreover *Candida albicans* ATCC 26231 were determined as the most resistant strain against the spice extracts. In addition, the Minimum Inhibition Concentration (MIC) was determined for the extracts which showed the highest antimicrobial activity. In general, the highest and the lowest MIC values were determined as 3,12 µl/ml and 50 µl/ml consequently.

Keywords: Spices, antimicrobial activity, extraction, maceration, sonication, disc diffusion, minimum inhibition concentration

ÖN SÖZ

Bu yüksek lisans çalışmasında, ülkemizde yaygın olarak kullanılan kekik, kimyon, nane, karabiber ve kırmızıbiber baharatlarının bazı patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. Ekstraksiyon için maserasyon ve sonikasyon yöntemleri kullanılmış ve bu iki yöntemle uygulanan ekstraktların, mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivitelerindeki farklılıklar karşılaştırılmıştır. Yapılan çalışmayla baharatların antimikrobiyal aktivitelerinin kullanılan ekstraksiyon metoduna göre değişiklik gösterdiği bulunmuştur.

Yüksek lisans tez çalışmamın yürütülmesi esnasında, çalışmalarına yön veren, bilgi ve yardımlarını esirgemeyen, bana her türlü desteği sağlayan danışman hocam, Sayın Yrd. Doç. Dr. Tuba ARTAN ONAT' a en içten teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmalarım sırasında sık sık tecrübelerine başvurduğum Sayın Yrd. Doç. Dr. Aydın KILIÇ' a çok teşekkür ederim. Ayrıca tez çalışmalarım sırasında yardımlarına başvurduğum laboratuvar arkadaşlarım Ömer ÇOPUROĞLU ve Perihan TEKERLEK'e teşekkürü bir borç bilirim.

Bu tezi, sadece çalışmam boyunca değil, tüm öğrenim hayatım boyunca maddi ve manevi yanımda olan, hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen ve bugünlere gelmemi sağlayan babam Erkan KARANKI ve annem Nurcan KARANKI' ya, varlığıyla hayatıma renk katan ve en zor anlarımda dahi beni neşelendiren kardeşim İrem KARANKI' ya teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca desteklerini esirgemeyen dostlarım Ahmet OLGUN, Muhammet KAYMAZ, Hakan YILDIZ ve kız arkadaşım Hazal DEMİR'e çok teşekkür ederim.

Ayrıca bu tez çalışmasını destekleyen Niğde Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (Proje no: FEB 2012/34 ve FEB 2011/11) ve tüm çalışanlarına teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
SUMMARY	v
ÖN SÖZ	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
FOTOĞRAFLAR DİZİNİ	xiv
SİMGE VE KISALTMALAR	xvi
BÖLÜM GİRİŞ	1
BÖLÜM II KAYNAK ÖZETLERİ	3
2.1 Baharatlar Hakkında Genel Bilgi	3
2.1.1 Kekik	4
2.1.2 Kimyon	6
2.1.3 Nane	6
2.1.4 Karabiber	7
2.1.5 Kırmızıbiber	8
2.2 Bitkilerden Antimikrobiyal Aktiviteye Sahip Ekstre Elde Etme Yöntemleri	9
2.2.1 Sokslet ekstraksiyonu (Sürekli sıcak ekstraksiyon)	10
2.2.2 Sonikasyon (Ultrason ekstraksiyonu)	12
2.2.3 Maserasyon (Islatılıp yumuşatma)	13
2.2.4 Süperkritik akışkan ekstraksiyonu	14
2.2.5 Mikrodalga yardımcı ekstraksiyon	15
2.2.6 Basınçlı sıvı ekstraksiyonu	17

2.3 Antimikrobiyal Maddeler ve Antimikrobiyal Aktivite	18
2.3.1 Antimikrobiyal aktiviteye sahip kimyasal maddeler	18
2.3.2 Antimikrobiyal aktivite	20
2.3.3 Antimikrobiyal aktivitenin belirlenme yöntemleri	21
2.3.3.1 Disk difüzyon yöntemi.....	21
2.3.3.2 Minimum inhibisyon konsantrasyonu.....	21
2.3.3.3 Minimum bakterisidal konsantrasyon.....	22
2.4 Deneylerde Kullanılan Mikroorganizmalar	22
2.4.1 <i>Proteus mirabilis</i>	22
2.4.2 <i>Escherichia coli</i>	22
2.4.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	22
2.4.4 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23
2.4.5 <i>Candida albicans</i>	23
BÖLÜM III MATERYAL ve METOT	24
3.1 Materyal	24
3.1.1 Baharat örnekleri.....	24
3.1.2 Mikroorganizmalar.....	24
3.1.3 Kullanılan çözücüler	24
3.1.4 Besiyerleri	24
3.1.5 Ekstraktlar için kullanılan diskler	24
3.2 Metod	25
3.2.1 Ekstraksiyon.....	25
3.2.1.1 Baharatların ekstraksiyon için hazırlanması	25
3.2.1.2 Maserasyon yöntemi	25

3.2.1.3 Sonikasyon yöntemi	25
3.2.2 Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi	26
3.2.2.1 Mac Farland metoduna göre bakterilerin hücre yoğunluğunun belirlenmesi.....	26
3.2.2.2 Disk difüzyon yöntemi ile inhibisyon zonu belirlenmesi	26
3.2.2.3 Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) çalışması	27
3.2.3 Test bakterilerinin antibiyotikler üzerine etkilerinin araştırılması.....	28
BÖLÜM IV BULGULAR	29
4.1 Kekik Bitkisine Ait Ekstraktların Antimikrobiyal Aktivite Değerleri.....	29
4.1.1 Maserasyon yöntemi ile elde edilen kekik ekstraktlarına ait antimikrobiyal aktivite sonuçları.....	29
4.1.2 Maserasyon yöntemi uygulanan kekik ekstraktlarının MİK sonuçları ...	33
4.1.3 Sonikasyon yöntemi ile elde edilen kekik ekstraktlarına ait antimikrobiyal aktivite sonuçları.....	33
4.1.4 Sonikasyon yöntemi uygulanan kekik ekstraktlarının MİK sonuçları ..	34
4.2 Kimyon Bitkisine Ait Ekstraktların Antimikrobiyal Aktivite Değerleri	34
4.2.1 Maserasyon yöntemi ile elde edilen kimyon ekstraktlarına ait antimikrobiyal aktivite sonuçları.....	34
4.2.2 Maserasyon yöntemi uygulanan kimyon ekstraktlarının MİK sonuçları	37
4.2.3 Sonikasyon yöntemi ile elde edilen kimyon ekstraktlarına ait antimikrobiyal aktivite sonuçları.....	38
4.2.4 Sonikasyon yöntemi uygulanan kimyon ekstraktlarının MİK sonuçları	40
4.3 Karabiber Bitkisine Ait Ekstraktların Antimikrobiyal Aktivite Değerleri....	41
4.3.1 Maserasyon yöntemi ile elde edilen karabiber ekstraktlarına ait antimikrobiyal aktivite sonuçları.....	41
4.3.2 Maserasyon yöntemi uygulanan karabiber ekstraktlarının MİK sonuçları	43

4.3.3 Sonikasyon yöntemi ile elde edilen karabiber ekstraktlarına ait antimikrobiyal aktivite sonuçları.....	43
4.3.4 Sonikasyon yöntemi uygulanan karabiber ekstraktlarının MİK sonuçları	45
4.4 Kırmızıbiber Bitkisine Ait Ekstraktların Antimikrobiyal Aktivite Değerleri	46
4.4.1 Maserasyon yöntemi ile elde edilen kırmızıbiber ekstraktlarına ait antimikrobiyal aktivite sonuçları.....	46
4.4.2 Maserasyon yöntemi uygulanan kırmızıbiber ekstraktlarının MİK sonuçları	47
4.4.3 Sonikasyon yöntemi ile elde edilen kırmızıbiber ekstraktlarına ait antimikrobiyal aktivite sonuçları.....	48
4.4.4 Sonikasyon yöntemi uygulanan kırmızıbiber ekstraktlarının MİK sonuçları	50
4.5 Nane Bitkisine Ait Ekstraktların Antimikrobiyal Aktivite Değerleri	51
4.5.1 Maserasyon yöntemi ile elde edilen nane ekstraktlarına ait antimikrobiyal aktivite sonuçları.....	51
4.5.2 Maserasyon yöntemi uygulanan nane ekstraktlarının MİK sonuçları ...	54
4.5.3 Sonikasyon yöntemi ile elde edilen nane ekstraktlarına ait antimikrobiyal aktivite sonuçları.....	54
4.5.4 Sonikasyon yöntemi uygulanan nane ekstraktlarının MİK sonuçları	58
4.6 Antibiyotik Duyarlılığı Çalışması	58
BÖLÜM V TARTIŞMA ve SONUÇ	62
KAYNAKLAR	67
ÖZ GEÇMİŞ	73

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Bitkisel materyallerin ekstraksiyonunda kullanılan yöntemlerin uygulama koşulları	10
Çizelge 2.2. Gıdalarda kullanılan bazı kimyasal koruyucular	19
Çizelge 3.1. Mac Farland Standardı	26
Çizelge 4.1. 40°C’de maserasyon yöntemi ile hazırlanan kekik ekstraktlarının disk difüzyon testi sonuçları	30
Çizelge 4.2. Kekiğin maserasyon yöntemiyle hazırlanmış ekstraktlarının MİK değerleri	33
Çizelge 4.3. 40°C’de maserasyon yöntemi ile hazırlanan kimyon ekstraktlarının disk difüzyon testi sonuçları	35
Çizelge 4.4. Kimyonun maserasyon yöntemiyle hazırlanmış ekstraktlarının MİK değerleri	37
Çizelge 4.5. Sonikasyon yöntemi ile hazırlanan kimyon ekstraktlarının disk difüzyon testi sonuçları	38
Çizelge 4.6. Kimyonun sonikasyon yöntemiyle hazırlanmış ekstraktlarının MİK değerleri	41
Çizelge 4.7. 40°C’de maserasyon yöntemi ile hazırlanan karabiber ekstraktlarının disk difüzyon testi sonuçları	42
Çizelge 4.8. Karabiberin maserasyon yöntemiyle hazırlanmış ekstraktlarının MİK değerleri	43
Çizelge 4.9. Sonikasyon yöntemi ile hazırlanan karabiber ekstraktının disk difüzyon testi sonuçları	44
Çizelge 4.10. Karabiberin sonikasyon yöntemiyle hazırlanmış ekstraktlarının MİK değerleri	45
Çizelge 4.11. 40°C’de maserasyon yöntemi ile hazırlanan kırmızıbiber ekstraktlarının disk difüzyon testi sonuçları	46
Çizelge 4.12. Kırmızıbiberin maserasyon yöntemiyle hazırlanmış ekstraktlarının MİK değerleri	47
Çizelge 4.13. Sonikasyon yöntemi ile hazırlanan kırmızıbiber ekstraktlarının disk difüzyon testi sonuçları	49

Çizelge 4.14. Kırmızıbiberin sonikasyon yöntemiyle hazırlanmış ekstraktlarının MİK değerleri	51
Çizelge 4.15. 40°C’de maserasyon yöntemi ile hazırlanan nane ekstraktlarının disk difüzyon testi sonuçları	52
Çizelge 4.16. Nananın maserasyon yöntemiyle hazırlanmış ekstraktlarının MİK değerleri	54
Çizelge 4.17. Sonikasyon yöntemi ile hazırlanan nane ekstraktının disk difüzyon testi sonuçları.....	55
Çizelge 4.18. Nananın sonikasyon yöntemiyle hazırlanmış ekstraktlarının MİK değerleri	58
Çizelge 4.19. Antibiyotiklerin antibiyogram kontrol deney inhibisyon zon çapları	59
Çizelge 5.1. Antimikrobiyal aktivitesi tespit edilmiş olan baharatlar.....	63

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Geleneksel ve modern ekstraksiyon yöntemleri	10
Şekil 2.2. Soxhlet cihazı	11
Şekil 2.3. Ultrason yardımlı sokslet ekstraksiyonun şematik gösterimi	13
Şekil 2.4. Süperkritik akışkan ekstraksiyon düzeneğinin şematik gösterimi.....	15
Şekil 2.5. Mikrodalga yardımlı ekstraksiyon düzeneğinin şematik gösterimi.....	16
Şekil 2.6. Basınçlı sıvı ekstraksiyon düzeneğinin şematik gösterimi	17
Şekil 3.1. MİK çalışması.....	27

FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

Fotoğraf 2.1. Maserasyon yönteminin çalkalamalı inkübatörde uygulanması	14
Fotoğraf 4.1. Kekik baharatının aseton ile 24 saatte yapılan ekstraktının <i>Proteus mirabilis</i> üzerine etkisi.....	31
Fotoğraf 4.2. Kekik baharatının etanol ile 12 saatte yapılan ekstraktının <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 üzerine etkisi	31
Fotoğraf 4.3. Kekik baharatının metanol ile 12 saatte yapılan ekstraktının <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 üzerine etkisi.....	32
Fotoğraf 4.4. Kekik baharatının etanol ile 24 saatte yapılan ekstraktının <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 üzerine etkisi	32
Fotoğraf 4.5. Kimyon baharatının aseton ile 3 saatte yapılan ekstraktının <i>Proteus mirabilis</i> 235 üzerine etkisi.....	35
Fotoğraf 4.6. Kimyon baharatının etanol ile 6 saatte yapılan ekstraktının <i>Proteus mirabilis</i> 235 üzerine etkisi.....	36
Fotoğraf 4.7. Kimyon baharatının etanol ile 24 saatte yapılan ekstraktının <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 üzerine etkisi	36
Fotoğraf 4.8. Kimyon baharatının aseton ile 6 saatte yapılan ekstraktının <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 üzerine etkisi.....	37
Fotoğraf 4.9. Kimyon baharatının etanol ile 30 dakikada yapılan ekstraktının <i>Proteus mirabilis</i> 235 üzerine etkisi.....	39
Fotoğraf 4.10. Kimyon baharatının etanol ile 30 dakikada yapılan ekstraktının <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 üzerine etkisi	39
Fotoğraf 4.11. Kimyon baharatının metanol ile 60 dakikada yapılan ekstraktının <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 üzerine etkisi.....	40
Fotoğraf 4.12. Karabiber baharatının etanol ile 3 saatte yapılan ekstraktının <i>Proteus mirabilis</i> 235 üzerine etkisi.....	42
Fotoğraf 4.13. Karabiber baharatının etanol ile 30 dakikada yapılan ekstraktının <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 üzerine etkisi	44
Fotoğraf 4.14. Karabiber baharatının metanol ile 60 dakikada yapılan ekstraktının <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 üzerine etkisi.....	45

Fotoğraf 4.15. Kırmızıbiber baharatının etanol ile 24 saatte yapılan ekstraktının <i>Proteus mirabilis</i> 235 üzerine etkisi.....	47
Fotoğraf 4.16. Kırmızıbiber baharatının aseton ile 10 dakikada yapılan ekstraktının <i>Proteus mirabilis</i> 235 üzerine etkisi	49
Fotoğraf 4.17. Kırmızıbiber baharatının etanol ile 60 dakikada yapılan ekstraktının <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 üzerine etkisi	50
Fotoğraf 4.18. Kırmızıbiber baharatının aseton ile 15 dakikada yapılan ekstraktının <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 üzerine etkisi	50
Fotoğraf 4.19. Nane baharatının etanol ile 5 saatte yapılan ekstraktının <i>Proteus mirabilis</i> 235 üzerine etkisi	52
Fotoğraf 4.20. Nane baharatının aseton ile 24 saatte yapılan ekstraktının <i>Proteus mirabilis</i> 235 üzerine etkisi.....	53
Fotoğraf 4.21. Nane baharatının metanol ile 4 saatte yapılan ekstraktının <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 üzerine etkisi.....	53
Fotoğraf 4.22. Nane baharatının etanol ile 60 dakikada yapılan ekstraktının <i>Proteus mirabilis</i> 235 üzerine etkisi.....	56
Fotoğraf 4.23. Nane baharatının etanol ile 10 dakikada yapılan ekstraktının <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 üzerine etkisi	56
Fotoğraf 4.24. Nane baharatının aseton ile 60 dakikada yapılan ekstraktının <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 üzerine etkisi.....	57
Fotoğraf 4.25. Nane baharatının aseton ile 30 dakikada yapılan ekstraktının <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 üzerine etkisi	57
Fotoğraf 4.26. <i>Proteus mirabilis</i> 235 suşuna karşı test antibiyotik disklerin etkisi.....	60
Fotoğraf 4.27. <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 suşuna karşı test antibiyotik disklerin etkisi.....	60
Fotoğraf 4.28. <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 suşuna karşı test antibiyotik disklerin etkisi.....	61
Fotoğraf 4.29. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 suşuna karşı test antibiyotik disklerin etkisi.....	61

SİMGE VE KISALTMALAR

Kısaltmalar

WHO	Dünya Sağlık Teşkilatı
DDM	Disk Difüzyon Metodu
MİK	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
MHA	Mueller Hinton Agar
MHB	Mueller Hinton Broth
PDA	Potato Dextrose Agar
ATCC	American Type Culture Collection

Simgeler

Açıklama

μ	Mikron
°C	Santigrat

BÖLÜM I

GİRİŞ

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de birçok bitki yıllardan beri halk arasında çay veya baharat olarak tüketilmekte, ayrıca çeşitli hastalıkları tedavi etmek amacıyla da kullanılmaktadır. Diğer yandan Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO)'nın 91 ülkede yaptığı araştırmaya göre tedavi amaçlı kullanılan tıbbi bitkilerin toplam miktarı 20.000 civarındadır. Bunlardan 500 kadarının üretiminin yapıldığı kaydedilmektedir. Türkiye, mevcut bitkisel çeşitliliği yönünden oldukça dikkate değer ve zengin bir bitki örtüsüne sahiptir. Türkiye'de zengin bitki örtüsü ve bu bitkilerin aromatik özellikleri nedeniyle çeşitli bitkilerin farklı kısımlarının baharat olarak kullanımları yaygındır.

Baharatlar bitkinin meyve (kırmızıbiber, karabiber), tohum (kişniş, anason, kimyon, hardal), kök, rizom (zencefil, zerdeçal), yaprak (kekik, nane, biberiye), çiçek, tomurcuk (karanfil, safran) ve soğan (sarımsak, soğan) gibi çeşitli kısımlarından elde edilmektedir. Baharatların gıda koruyucu olarak kullanımları ve in vitro deneyler ile bu maddelerin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi önem kazanmaktadır (Selim, 2011; Şahin, 2006).

Bitkilerden çeşitli yöntemlerle elde edilen bitkisel özütler ve uçucu yağların antimikrobiyal etkilere sahip olduğu bilinmektedir. Bitkiler gibi doğal kaynaklardan elde edilen antimikrobiyal maddelerin gıda güvenliğini yüksek oranlarda korumayı başardığı ve bitkisel ekstraktların gıdalarda doğal antimikrobiyal olarak kullanılabileceği yapılan bilimsel araştırmalarla kanıtlanmıştır. Uçucu yağlar ile karakterize edilen antimikrobiyal maddelerin baharat olarak da değeri bulunmaktadır ve ayrıca bu maddelerin kullanımı güvenli kabul edilmektedir (Souza vd., 2005; Tajkarimi vd., 2010).

Son yıllarda, kimyasal katkı maddelerinin gıda güvenliği açısından taşıdığı çok sayıda sakıncalardan dolayı kullanımı azalmakta, bunlar yerine doğal katkı maddelerine yönelim olduğu bilinmektedir. Nitrit gibi kimyasal koruyucular yerine günümüzde mikrobiyolojik gıda güvenliğini sağlamak amacıyla çeşitli doğal koruyucular kullanılmaktadır. Eski yıllardan beri aroma ve tat geliştirme amaçlı olarak kullanılmakta

olan geleneksel doğal gıda katkıları ve baharatlar aynı zamanda antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri için gıdalarda kullanılmaktadırlar.

Yapılan tez çalışmasında Türkiye’de yaygın olarak kullanılmakta olan kekik, kimyon, karabiber, kırmızıbiber ve nane baharatlarının antimikrobiyal aktiviteleri tespit edilmiştir. Bu amaçla maserasyon ve sonikasyon olmak üzere iki farklı ekstraksiyon yöntemi kullanılarak baharatların ekstraktları elde edilmiştir. Elde edilen bu ekstraktlar ile disk difüzyon (DDM) ve minimal inhibisyon konsantrasyonu (MİK) belirlenmesi yöntemleri kullanılarak antimikrobiyal aktivite belirlenmiştir.

Gerçekleştirilen tez çalışmasında Türkiye’de yaygın olarak kullanılan baharatların beş farklı patojen mikroorganizma üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri belirlenerek, bu baharatların gıda koruyucusu olarak kullanım olasılığı araştırılmıştır.

BÖLÜM II

KAYNAK ÖZETLERİ

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de çeşitli bitkiler yıllardan beri halk arasında çay, baharat ve tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır. Ülkemiz, üç fitocoğrafik bölgenin kesiştiği bölgede bulunması, Güney Avrupa ile Güneybatı Asya florası arasında köprü olması, pek çok cins ve sekiyonun köken ve farklılaşım merkezlerinin Anadolu olması nedeni ile bitki yönünden oldukça zengin bir floraya sahiptir. Yurdumuzda yaklaşık 9000 adet farklı doğal bitki türü bulunmaktadır ve bunların %30'u endemiktir. Bitkilerin mikroorganizmaları engelleyici ve insan sağlığı için önemli özellikleri olduğu dikkati çekmekte ve 1926 yılından bu yana araştırılmaktadır. WHO'nun araştırmalarına göre tedavi amaçlı kullanılan tıbbi bitkilerin sayısı 20.000 civarındadır. Doğada tabii olarak yetişen bazı bitkilerden elde edilen ekstraktların ve uçucu yağların bakterilere olduğu kadar, mantarlara karşı da gelişimi inhibe edici aktiviteye sahip oldukları yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir. Baharatlar yiyecek maddelerinde koruyucu olarak kullanılabilecek potansiyel etkilere sahiptir ancak kullanımlarının tat duyusuna bağlı olması nedeniyle doğru dozajda kullanımları üzerinde çalışılması gerekmektedir (Selim, 2011; Toroğlu ve Çenet, 2006).

2.1 Baharatlar Hakkında Genel Bilgi

Baharatlar bitkinin çeşitli kısımlarından elde edilmektedir. Bu kısımlar meyve (kırmızıbiber, karabiber), tohum (kişniş, anason, kimyon, hardal), kök, rizom (zencefil, zerdeçal), yaprak (kekik, nane, biberiye), çiçek, tomurcuk (karanfil, safran) ve soğan (sarımsak, soğan)'dır. Baharatlar, yıllardır gıdalara lezzet vermek ve aroma kazandırmak amacıyla, aynı zamanda antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri ile de gıdaların korunması ve kozmetik gibi sektörlerde kullanılmaktadır (Şahin, 2006).

Baharatların genel olarak kullanım amaçları şu şekilde sıralanmıştır;

- Gıdaların tat ve koku özelliklerini geliştirerek lezzeti arttırmak, yeni ürünler elde ederek çeşitlilik sağlamak,
- Antioksidan özellikleriyle gıdalarda acılaşmayı önlemek,
- Antimikrobiyal özellikleriyle gıdaları korumak, patojen gelişimini engellemektir. (Şahin, 2006)

Son elli yılda kimyasal antimikrobiyal maddelerin kullanımının kontrolsüzce artmış olması nedeniyle çoklu direnç gösteren mikroorganizmaların sayısında artış görülmüştür. Antibiyotiğe dirençli mikroorganizma sayısının artmasından dolayı gıda koruyucusu olarak baharatların kullanımı önem kazanmıştır. Antimikrobiyal maddeler ilk olarak gıdaların bozulmalardan korunması ve ikinci olarak ise insanlar için patojenik olan mikroorganizmaların gelişimlerinin durdurulması amacıyla kullanılmıştır (Keskin ve Toroğlu, 2011; Souza vd., 2005; Tajkarimi vd., 2010).

Bitkiler, baharatlar ve şifalı otlardan izole edilen bileşiklerin mikroorganizmaların metabolik aktivitelerini inhibe eden maddeler içerdiği bilinmektedir. Esansiyel yağlar, uçucu yağlar, oleoresin ve bitkisel ekstraktlar içerdikleri bileşenler nedeniyle bakteri, küf ve mayaların gelişimini ve toksin oluşumunu azaltmaktadır. Antimikrobiyal etki konsantrasyona bağlıdır ve yüksek konsantrasyonlarda olumsuz etki görülmektedir. Yenibahar, badem, defne, karabiber, karaman kimyonu, tarçın, karanfil, kişniş, kimyon, sarımsak, greyfurt, limon, mandarin, soğan, portakal, kekik, kuşburnu, adaçayı ve mercanköşk esansiyel yağ elde edilen ve antimikrobiyal etkiye sahip bitkilerdir. 1300'den fazla bitkinin antimikrobiyal etkisi olduğu bilinmektedir, ancak hepsinin gıdalarda kullanımı mümkün olmamaktadır. Bitkilerin ve bitkisel kaynakların antimikrobiyal özellikleri, bileşimlerinde bulunan aldehitler, organik asitler ve fenolik bileşiklere bağlıdır (Dağcı vd., 2002; Şahin, 2006).

2.1.1 Kekik

Kekik, çok yıllık yarı odunsu bir bitki olup genellikle toprak üstünü saran, nadiren 40 cm'ye kadar büyüyen küçük bir bitkidir ve gövdesi bir yıldan sonra odunsu bir hal almaktadır. Yaprakları çok küçük olup genellikle 2,5 ile 5 mm boyutlardadır. Neredeyse

sapsız olan bu yapraklar içe doğru kıvrımlı olup son derece kokuludur. Kokusu, yapraklarında yer alan ve bitkiye tat ve tıbbi özellik katan esansiyel yağların varlığından dolayı oluşmaktadır. Tohumları çok küçük ve yuvarlak olup filizlenme yeteneğini 3 yıl boyunca koruyabilmektedir. iek u kısmında halka şeklindedir. Kekik bitkisi, gölgenin olmadığı güneşli, kuru ve yüksek sıcaklıklarda ayrıca pH sı 5 ile 8 arasında olan kuru topraklarda hızlı büyüme potansiyeline sahiptir (Ramashala, 2012a; Rey, 1992; Varlet, 1992).

Kekiğin esansiyel yağ bileşeni olan timol, likör, parfüm ve ilaç üretiminde oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca et ve tereyağında koruyucu olarak kullanılır. *Salmonella* ve *Staphylococcus* bakteri cinslerine karşı oldukça etkilidir. Antiseptik ve tonik özellikleri sayesinde immün sistemini kuvvetlendirici bir etkiye sahiptir. Özellikle bronşit ve akciğer zar iltihabı gibi göğüs hastalıklarına karşı oldukça etkilidir. Ayrıca yağlı deri, siyatik, sivilce, deri iltihabı, egzama ve böcek ısırıkları gibi deride meydana gelen birçok probleme karşı kullanılabileceği bildirilmiştir (zcan ve Chalchat, 2004; Ramashala, 2012a; Shabnum ve Wagay, 2011).

Qarallelh vd. 2009 yılında yaptıkları çalışmada kekik bitkisinin yaprak ve gövde kısımlarından elde ettikleri örnekler ile su, etanol, diklorometan ve hekzan çözücülerini kullanarak ekstraktlar elde etmiş ve bunların antibakteriyel aktivitelerini incelemişlerdir. *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakteri türlerine karşı DDM ile yapılan antimikrobiyal aktivite çalışması sonucu en iyi inhibisyon zonunu *P. aeruginosa*'ya karşı kekik bitkisinin yaprak kısmının etanol ile yapılan ekstraktının gösterdiğini tespit etmişlerdir (Qarallelh vd., 2009).

Amrita vd. 2009 yılında yayınladıkları çalışmada kekik, mercanköşk, fesleğen, zencefil, safran, tarçın, karanfil ve şeytintersi bitkilerini distile su ile ekstrakte ederek, bunları *Escherichia coli* bakterisine karşı antimikrobiyal aktivitelerini belirlemişlerdir. Yaptıkları alışma sonucunda *E. coli*'nin üremesini engelleyen en etkili bitkinin kekik olduğunu tespit etmişlerdir (Amrita vd., 2009).

2.1.2 Kimyon

Kimyon 30 ile 45 cm uzunluğa kadar büyüeyebilen, ince, otsu ve tek yıllık bir bitkidir. Anavatanı Mısır olup ülkemizde Ankara, Eskişehir ve çevre illerde yetiştirilmektedir. Çiçeklenmesi bileşik umbel şeklinde olup beyaz ve pembe çiçek bulundurur. Yaprak tipi pinnat ve bipinnat şeklindedir. 5-6 mm uzunlukta, iğ biçiminde ve sarımsı esmer renkli taneler halindedir. Kimyon bitkisinin büyümesi için 25 ile 30 derece arasında serin ve kuru bir iklim gerekmektedir. Yağmura karşı oldukça hassastır. 6,8 ile 8,3 pH aralığına sahip topraklarda iyi bir büyüme göstermektedir. Uçucu yağı, et ve konserve sanayinde, peynircilikte, ilaç ve kozmetik sanayinde kullanılmaktadır. Halk arasında kas gevşetici, gaz söktürücü, yatıştırıcı, idrar söktürücü olarak kullanılmaktadır (Baytop, 1999; Ceylan vd., 2003; İpek vd., 2008).

Dua vd. 2013 yılında yaptıkları çalışmada kimyon baharatını kullanarak metanol ile hazırladıkları ekstraktların *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacillus pumilus* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlardır. Çalışma sonunda kullandıkları tüm bakteri türlerinin kimyon ekstraktlarına karşı hassas olduğunu tespit etmişlerdir (Dua vd., 2013).

Sethi vd. 2013 yılında yayınladıkları çalışmada zencefil, sarımsak, karanfil, kimyon, hardal, Hindistan üzümü, Aloe vera ve safran bitkilerinin metanol ile hazırlanmış olan ekstraktlarını *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus aureus* ve *Proteus vulgaris* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivitelerini test etmişlerdir. Yapılan deneyler sonucunda kimyon ve karanfilin kullanılan test mikroorganizmalarına karşı diğer kullanılan bitki türlerine oranla daha yüksek seviyede antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu belirlemişlerdir (Sethi vd., 2013).

2.1.3 Nane

Nane, 50-60 cm boya sahip, çok yıllık, genellikle pürüzsüz ve morumsu yapıya sahip bir bitkidir. Yaprakları mızrak şeklinde, uç kısımları dişli ve hafif tüylüdür. Nane, nemli sıcaklığa sahip bölgelerde 5,5 ile 7,0 pH aralığındaki topraklarda yetişmektedir. Nane bitkisinin esansiyel yağı diş macunu, dondurma, tütün ürünleri gibi gıda çeşitlerinde

koruyucu, sabun, krem, merhem gibi maddelerde ise iyileştiren serinletici bir etkiye sahiptir. Nane bitkisinin uçucu yağı çok değerli olup tıbbi açıdan spazm ve gaz giderici, midevi, serinletici, uyarıcı ve diüretik etkilere sahiptir. Ayrıca nane bitkisi, baharat ve bitki çayları şeklinde de oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır (Özgüven ve Kırıcı, 1999; Ramashala, 2012b).

Bupesh vd. 2007 yılında yapmış oldukları çalışmada, nane bitkisinin yapraklarında etil asetat, kloroform, petrol eteri ve su ile ekstraktlar elde ederek bunların *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens* ve *Streptococcus aureus* bakteri türlerine karşı olan antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlardır. Yapılan çalışma sonucunda nane yaprağının etil asetatla yapılmış olan ekstraktının diğer çözücülere oranla daha etkin ve aynı zamanda ekstraktların *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Streptococcus aureus* türlerine karşı oldukça etkili olduğunu tespit etmiştir (Bupesh vd., 2007).

Pramila vd. 2012’de yaptıkları çalışmada, nane bitkisinin yapraklarından metanol ile elde ettikleri özütleri *Escherichia coli*, *Acinetobacter* ve *Staphylococcus aureus* bakteri türleri ve *Candida albicans* ve *Candida glabrata* maya türlerine karşı antimikrobiyal aktivitelerini tespit etmişlerdir. Yapılan denemeler sonunda nane yaprağının metanollü ekstraktının bakteri ve mayalara karşı yüksek derecede antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu sonucuna varmışlardır (Pramila vd., 2012).

2.1.4 Karabiber

Karabiber Piperaceae familyasına ait, dünya çapında en eski ve en geniş yayılım gösteren bir bitki türüdür. 9 metreye büyüeyebilen odunsu bir yapıya sahiptir. Yapraklar koyu yeşil renkte, ovat ve akut tipte olup 13 – 25 cm genişliğe sahiptir. Başak şeklinde olan çiçek, her biri 50 - 60 adet olan meyveden meydana gelir ve yaprakların karşısında bulunur. Karabiber deniz seviyesinden yaklaşık 600 m yükseklikte sıcak, nemli ve tropikal iklimde, 5,5 – 6 pH derecesine sahip zengin humuslu topraklarda çok iyi üreme gösterir. Birçok biber türü Hindistan tıp sisteminde kullanılmaktadır. Çok yönlü etkiye sahip olduğundan dolayı ateş düşürücü, diüretik, afrodizyak, immün uyarıcı, antioksidan, sindirim, antiseptik ve antispazmodik gibi tedavi edici etkilere sahiptir (Anjani, 2005; Nelson ve Cannon-Eger, 2011; Trivedi vd., 2011).

Joe vd. 2009'da sarımsak, zencefil ve karabiber bitkilerini etanol ile ekstrakte edip bu ekstraktların insanlarda patojen olan *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Morganella morganii*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli* ve *Candida albicans* türlerine karşı antimikrobiyal aktivitelerini incelemişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucunda sarımsak ekstraktının tüm patojenlerin gelişimini inhibe etmede en etkin ekstrakt olduğunu, bunun yanı sıra karabiberin *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* türlerine karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu belirtmişlerdir (Joe vd., 2009).

2010 yılında Karsha ve Lakshmi karabiber ile yaptığı çalışmada aseton ve diklorometan çözücülerini kullanarak ekstraktlar elde etmiş ve bu ekstraktların *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Salmonella typhi* türlerine karşı antimikrobiyal aktivitelerini test etmişlerdir. Çalışma sonunda karabiberin asetonlu ekstraktının *Staphylococcus aureus*'a karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir (Karsha ve Lakshmi, 2010).

2.1.5 Kırmızıbiber

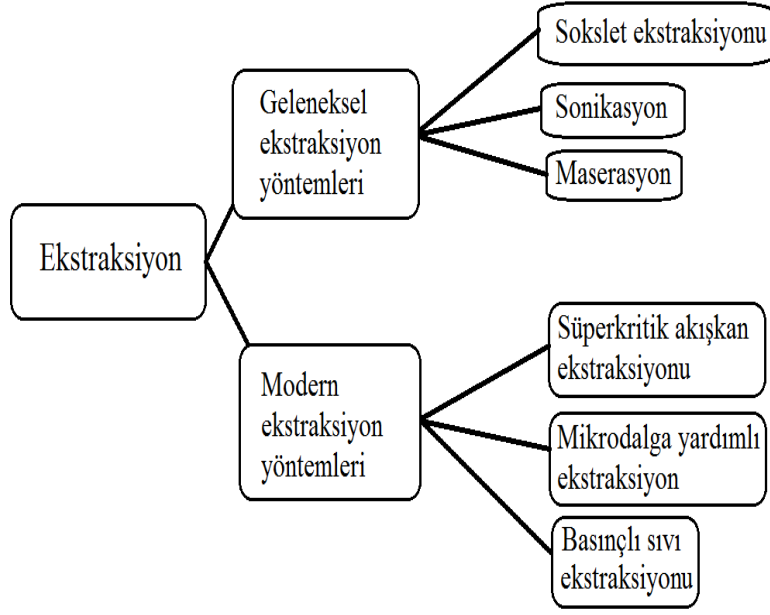
Kırmızıbiber dik olarak büyüyen başlangıçta otsu halde olan gövde zamanla odunsu bir hal alan, 50 – 200 cm kadar boylanabilen bir bitkidir. Uzun, oval, yuvarlak, kenarları düz veya dalgalı, parlak veya tüylü yaprak tipleri görülebilir. Sıcak ve ılık iklim bitkisi olan biber, ılık iklimlerde tek, sıcak iklimlerde ise birkaç yıllıktır. Büyümesi için gereken optimum sıcaklık aralığı 18 – 26 derece ve pH sı 5,6 – 6,8 arasında olan nemli topraklarda iyi üreme gösterirler (Aybak, 2002).

Dorantes vd. 2000 yılında yaptıkları çalışmada izopropanol kullanarak elde ettikleri kırmızıbiber ekstraktlarının *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* ve *Bacillus cereus* türlerine karşı antimikrobiyal aktivitelerini test etmişlerdir. Yapılan çalışma sonucunda kırmızı biber ekstraktının en çok *Listeria monocytogenes* türünün gelişimini etkilerken *Salmonella typhimurium*'a karşı ise hiçbir etki göstermediğini tespit etmişlerdir (Dorantes vd., 2000).

Toprak vd. 2008 yılında kırmızıbiberden etil alkol, hekzan ve kloroform kullanarak elde ettikleri ekstraktları *Bacillus megaterium*, *Enterobacter aerogenes*, *Micrococcus luteus*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus brevis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Mycobacterium smegmatis*, *Pseudomonas fluorescens* ve *Aeromonas hydrophila* türlerine karşı antimikrobiyal aktivitelerini test etmişlerdir. Çalışma sonucunda kırmızıbiberin etil alkollü ekstraktların diğer çözücülerle hazırlanmış ekstraktlara oranla daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir (Toprak vd., 2008).

2.2 Bitkilerden Antimikrobiyal Aktiviteye Sahip Ekstre Elde Etme Yöntemleri

Bitkilerde antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi için yapılması gereken ilk işlem etken maddenin ekstraksiyonudur. Ekstraksiyon, çeşitli çözücü maddelerin kullanılarak bitki dokusundaki antimikrobiyal etken maddelerin ayrılması işlemidir. Ekstraksiyon yöntemleri, çözünür bitki kısımlarını çözünmeyen kısımlarından ayırır. Ekstraksiyonun temel işlemleri ön yıkama, bitki materyalini kurutma ya da dondurma, homojen örnek elde etmek için ezme gibi basamakları içerir. Bitki materyallerinden ekstrakt hazırlanması sırasında potansiyel aktif bileşiklerin kaybolmamasına, bozulmamasına ve tahrip edilmemesine dikkat edilerek uygun bir şekilde hareket edilmelidir (Sasidharan vd., 2012).



Şekil 2.1. Geleneksel ve modern ekstraksiyon yöntemleri

Çizelge 2.1. Bitkisel materyallerin ekstraksiyonunda kullanılan yöntemlerin uygulama koşulları

	Sokslet E.	Sonikasyon	Maserasyon	Süperkritik Akışkan E.	Mikrodalga Yardımlı E.	Basınçlı Sıvı E.
Kullanılan çözücüler	Metanol, etanol ya da alkol-su karışımı	Metanol, etanol ya da alkol-su karışımı	Metanol, etanol ya da alkol-su karışımı	Karbondiyoksit ya da karbondiyoksit modifiyeleri	Metanol, etanol ya da alkol-su karışımı	Metanol
Sıcaklık (°C)	Kullanılan çözücüye bağlı	Isıtılabilir	Oda sıcaklığı	40-100	80-150	80-200
Uygulanan basınç	Uygulanmaz	Uygulanmaz	Uygulanmaz	250-450 atm	Sistemin türüne bağlı	10-20 bar
Gereken Zaman	3-18 saat	1 saat	3-4 gün	30-100 dakika	10-40 dakika	20-40 dakika
Gereken Çözücü Hacmi (ml)	150-200	50-100	Örnek miktarına bağlı	Kullanılmaz	20-50	20-30

2.2.1 Sokslet ekstraksiyonu (Sürekli sıcak ekstraksiyon)

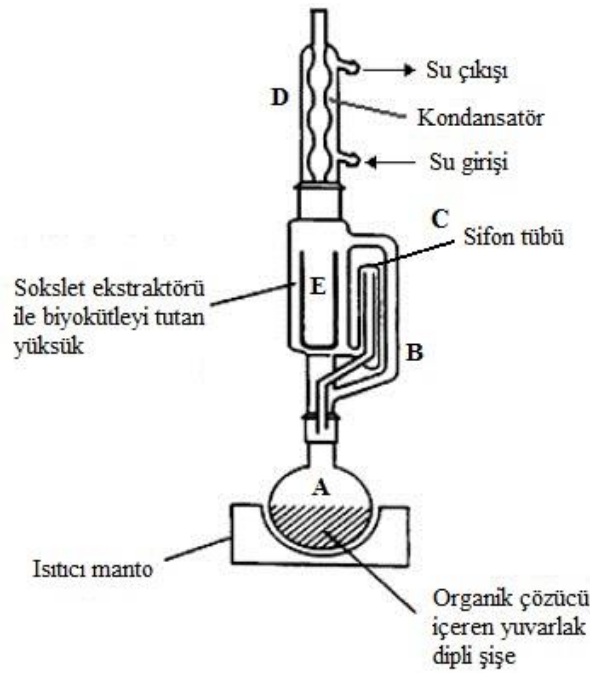
Uzun yıllardır geniş çapta kullanılan bu yöntem, 1879 yılında Franz von Soxhlet tarafından geliştirilmiştir. Sokslet kullanılırken hedef bitkisel materyalin ekstraksiyonu için uygun bir çözücü ve sıcaklık seçilmelidir. Farklı çözücüler farklı ekstraktların elde edilmesini sağlamaktadır (Wang ve Weller, 2006; Luque de Castro ve Priego-Capote, 2010).

Sokset yönteminin avantajları:

- Sürekli olarak taze çözücünün katı matris ile temas halinde olmasından dolayı transfer dengelidir.
- Ekstraksiyon sonunda süzme işlemine gerek duyulmamaktadır.
- Çok basit ve ucuz bir yöntemdir.

Dezavantajları:

- Distilasyon şişesinin ısıtılması ile ekstraksiyon nispeten yüksek sıcaklıkta sürdürülür.
- Ekstraksiyon süresi çok uzundur.
- Çok miktarda çözücü kullanılır.
- Çalkalama işlemi ekstraksiyon işlemini hızlandırmaz.



Şekil 2.2. Soxhlet cihazı

Bu metotta, ince öğütülmüş bitkisel materyal gözenekli torbada veya sert filtre kağıdından yapılmış yüksük içerisinde yer alır (E bölümü). Ekstraksiyon çözücüsü içerisinde bulunduğu yuvarlak dipli şişe içerisinde (A bölümünde) ısıtılır ve buharı kondansatörde (B bölümünde) yoğunlaşır. Yüksük içerisindeki sıvı seviyesi sifon

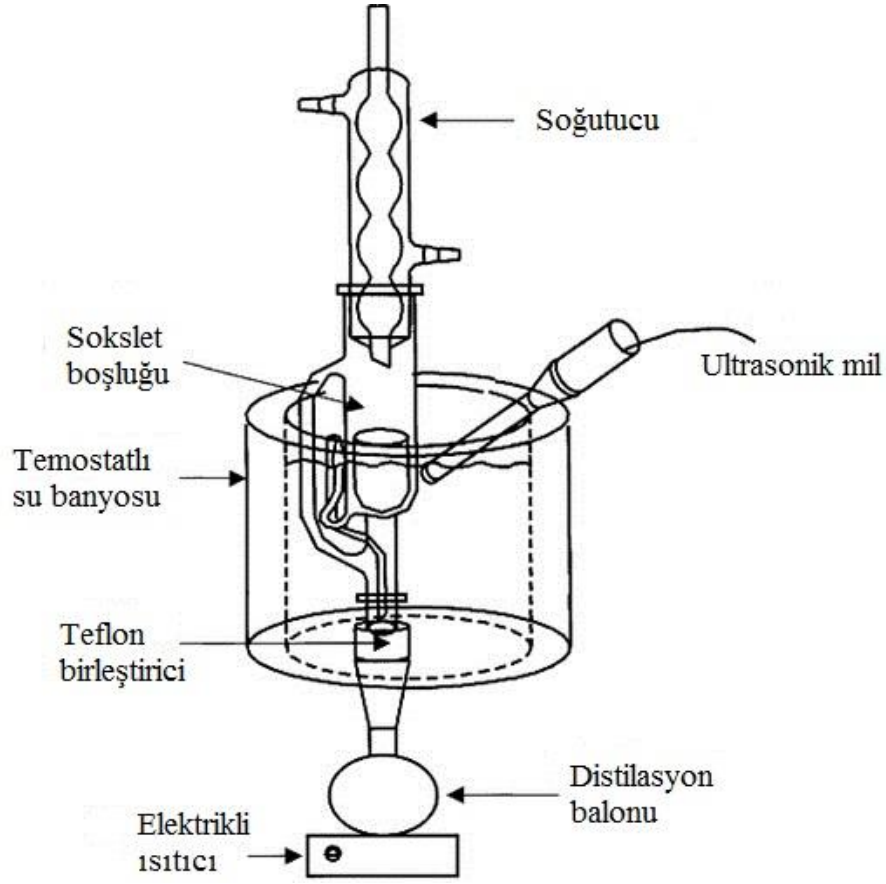
tübünün (C bölmesi) üst hizasına kadar arttığında, yüksük içerisindeki sıvı, çözücünün bulunduğu şişe içerisine girer. Bu işlem sifon tüpünden çözücü damlayana kadar uygulanır. Daha sonra yuvarlak dipli şişenin içerisinde biriken çözücü rotary evaporatöre alınarak çözücü uçurulur ve ekstrakt elde edilir. Mamidipally ve Liu (2004), pirinç kepeğinin yağ ekstraksiyonu için hekzan ve d-limonen çözücülerini kullanmışlar. Çalışma sonucunda d-limonen ile yapılan ekstraksiyonun hekzana oranla daha yüksek miktarda yağ ekstrakte ettiğini görmüşlerdir (Handa vd., 2008).

2.2.2 Sonikasyon (Ultrason ekstraksiyonu)

Bu işlemde, 20 - 2000kHz frekans arasında değişen ultrasonik ses dalgaları kullanılarak hücre duvarının geçirgenliği artırılmaktadır. Bu yöntemin dezavantajı nadir görülür fakat 20 kHz den fazla ultrason enerjisi tıbbi bitkilerde serbest radikal oluşumunu arttırdığı için ilaç moleküllerinin yapısında istenmeyen değişiklikler görülebilmektedir (Handa vd., 2008).

Ses dalgalarının mekanik etkisi, çözücünün iyi bir şekilde madde içerisine girmesine ve kitle transferinin artmasına neden olmaktadır. Ekstraksiyon sırasında ultrasonik ses dalgaları aynı zamanda biyolojik hücre duvarının yapısını bozmakta ve içeriğinin değişmesini kolaylaştırmaktadır. Taramalı elektron mikroskobu, bu değişmelerin gerçekleştiğini göstererek ses dalgalarının mekanik etkisini kanıtlamaktadır. Geleneksel metotların aksine ultrasonik ses dalgaları sayesinde etken maddeler hücre duvarlarına doğru yayılır ve kısa bir zaman içerisinde parçalanan hücreden ayrılır (Wang ve Weller, 2006).

Sonikasyon yöntemi, diğer geleneksel yöntemlerde görülen uçucunun bozulması, kaybolması ya da uçması gibi olumsuz etkilerin meydana gelmesini engelleyen bir yöntemdir. Birçok durumda bu yöntem diğer yöntemlere göre çok hızlı ve etkili olup çözücünün verimli kullanılmasını sağlar. Düşük maliyetli, basit ekipman düzeneğine sahip olması ve çoğu zaman iyi verim sağlaması yönünden oldukça avantajlı bir yöntemdir (Roldan-Gutierrez vd., 2008).



Şekil 2.3. Ultrason yardımlı sokslet ekstraksiyonun şematik gösterimi

Sonikasyon yardımlı ekstraksiyon yöntemi ucuz, basit ve etkili bir yöntemdir. Katı-sıvı ekstraksiyonunda sonikasyonu kullanmanın en önemli faydası ekstraksiyon verimini ve hareket hızını artırmasıdır. Mikrodalga yardımlı ekstraksiyon gibi diğer ekstraksiyon yöntemleri ile karşılaştırıldığında, sonikasyon cihazı daha ucuzdur ve kullanımı daha kolaydır. Ayrıca sonikasyon yardımlı ekstraksiyonda, sokslet ekstraksiyonundaki gibi her çeşit çözücü kullanılabilir (Wang ve Weller, 2006).

2.2.3 Maserasyon (Islatılıp yumuşatma)

Bu işlemde toz halinde bulunan kuru bitki materyali, çözücü ile birlikte kapaklı bir kap içerisine alınır. İstenilen sıcaklık ve zamana göre inkübatörde bekletilir. Daha sonra filtrasyon işlemi uygulanarak ekstraksiyon yapılmış olur. Maserasyon yönteminin etkisini artırmak için çözücünün içinde bulunduğu kaba çalkalama işlemi uygulanarak çözücünün maddeye daha iyi nüfuz etmesi sağlanabilir. Maserasyon yöntemi ile

istenilen sıcaklıkta çalkalamalı inkübatörde uygulanarak ekstraksiyon elde edilir (Handa vd., 2008).

Maserasyon yöntemi esansiyel yağ ve biyoaktif bileşik eldesinde kullanılan oldukça ucuz ve popüler bir yöntemdir. Küçük ölçekte bu yöntem genellikle birkaç adım içermektedir.

- Kullanılacak olan bitki materyalinin küçük parçalar haline getirilmesi,
- Bitki materyalinin çözücü ile birlikte kapalı bir kap içerisinde bekletilmesi (Maserasyon işlemi),
- Maserasyon işlemi sonucu ekstraktın kalıntıdan ayrılma işlemi (Filtrasyon) (Azmir vd., 2013).

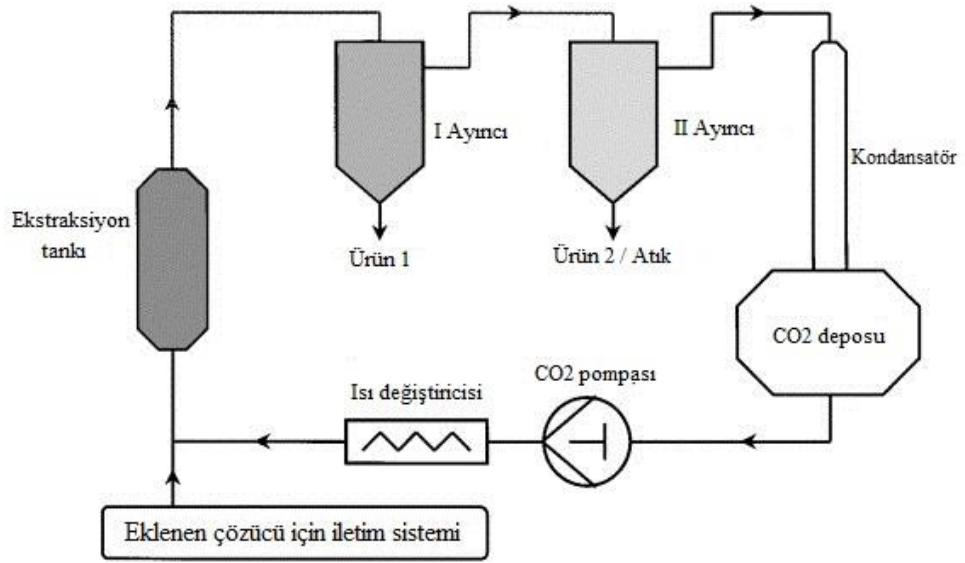


Fotoğraf 2.1. Maserasyon yönteminin çalkalamalı inkübatörde uygulanması

2.2.4 Süperkritik akışkan ekstraksiyonu

Bu ekstraksiyon yöntemi, organik çözücülerin kullanılması ile genel hedefleri azaltan alternatif bir preperasyon yöntemidir. Sıcaklık, basınç, örneğin hacmi, analit toplama, düzenleyici eklenmesi, akım, baskı kontrolü ve sınırlayıcısı gibi faktörler göz önüne alınmaktadır. Genellikle bu yöntemde silindirik ekstraksiyon kapları kullanılmakta ve yüksek performans göstermektedir (Handa vd., 2008).

Süperkritik durum, sıcaklık ve basınç değerlerinin kritik değere ulaştığında elde edilmektedir. Süperkritik akışkan, sıvı ve gazlarda aynı karaktere sahiptirler. Sıvı çözücüler ile karşılaştırıldığında süperkritik akışkan, sıvı çözücülere göre daha yüksek difüzyon katsayısına, daha düşük viskozite ve yüzey gerilimine sahiptir. Hedef bileşiğin çözünürlüğünde süperkritik akışkanın verimliliğinin belirlenmesi en önemli faktördür. Uygun yoğunlukta bir süperkritik akışkan seçimi, çözücü etkisi, seçiciliği ve ekstraksiyon bileşiminin belirlenmesi açısından çok önemlidir (Wang ve Weller, 2006).



Şekil 2.4. Süperkritik akışkan ekstraksiyon düzeneğinin şematik gösterimi

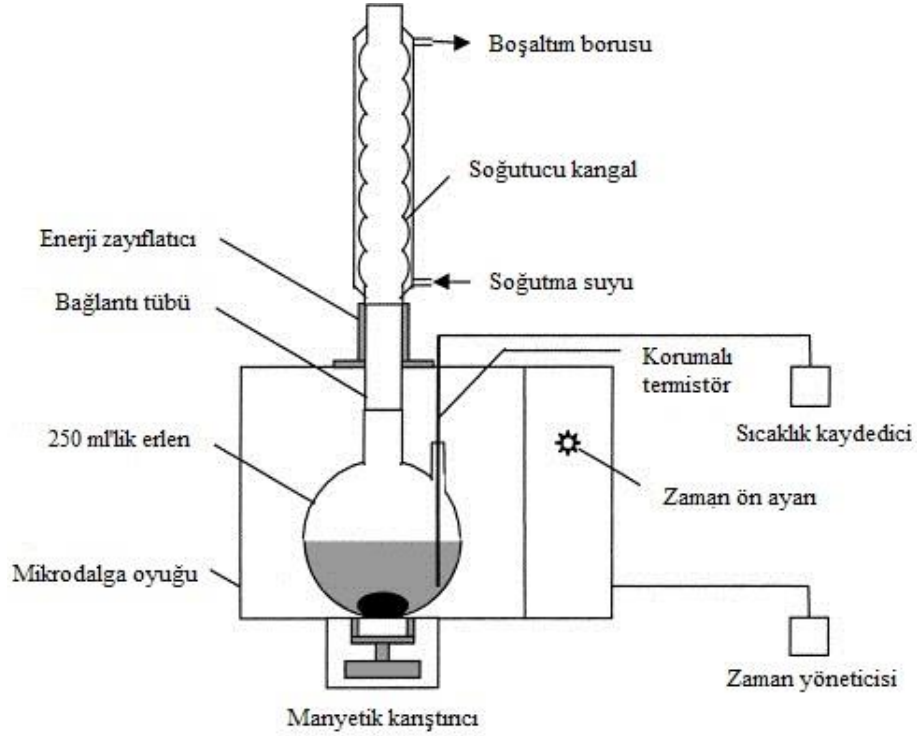
Bu ekstraksiyon yönteminin sahip olduğu avantajlar:

- Düşük sıcaklıktaki bileşenlerin ekstraksiyonu, ısı ve bazı organik çözücülerden gelen zararları önler.
- Çözücü kalıntısı yoktur.
- Çevre dostu bir ekstraksiyon yöntemidir.

2.2.5 Mikrodalga yardımcı ekstraksiyon

Katı bitki matrisi ve çözücünün mikrodalga yöntemiyle ısıtılmasıyla birlikte hızlı bir şekilde enerji verimi sunar. Bitki örneğindeki su, mikrodalga enerjisini absorbe eder, böylece bozulur ve ekstrakt elde etmek kolaylaşır. Mikrodalga enerjisinin etkisi çözücü ile katı bitki matrisi arasındaki dielektrik duyarlılığına bağlıdır (Wang ve Weller, 2006).

Mikrodalga yardımcı ekstraksiyon yöntemi 1975 yılında ilk defa Samra vd. tarafından biyolojik örneklerden metal analizi işlemi için kullanılmıştır. Bitki örneklerinde ilk defa uygulanması ise 1986 yılında Ganzler vd. tarafından rapor edilmiştir (Gupta vd., 2012).



Şekil 2.5. Mikrodalga yardımcı ekstraksiyon düzeneğinin şematik gösterimi

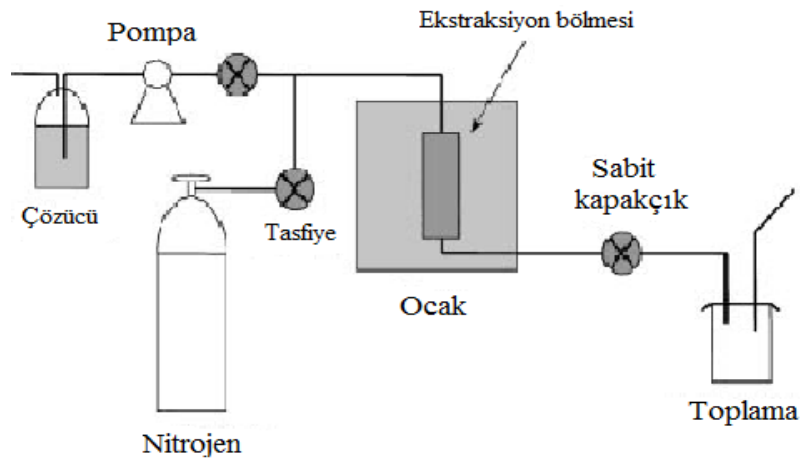
Mikrodalga yardımcı ekstraksiyonda, mikrodalga ışınının ısı ve saydam mikrodalga çözücüsü vasıtasıyla absorpsiyon olmadan direk olarak katı maddeye transfer olur. Bu yoğun ısınma katı maddede ani olarak nemlenmeye neden olur. Bu nem buharlaşır ve buhar basıncı oluşturur. Bu buhar basıncı nemin hücreleri kırmasıyla oluşur ve hücre duvarlarının kırılması ile de yağlar serbest kalır (Handa vd., 2008).

Hücre kırılması dışında mikrodalga ısıtmanın diğer avantajları;

- Mevcut olan ürün sayısını artırır.
- Ekstraktın saflığını artırır.
- Isı kaybını engeller.
- İşlem maliyetini düşürür.
- Çok hızlı bir yöntemdir.
- Çok az miktarda enerji ve çözücü kullanılır.

2.2.6 Basınçlı sıvı ekstraksiyonu

Ritcher vd., ilk defa bu yöntemi 1996 yılında tanımlamıştır. Basınçlı sıvı ekstraksiyonu yöntemi yüksek sıcaklık ve basınç altında statik ve dinamik olarak uygulanabilen bir yöntemdir. Bu yöntemin en temel avantajı çözücünün kaynama noktası sınırına bağlı kalmadan yüksek sıcaklık ve basınç altında uygulanabilmesi ve düşük miktarda çözücü ve madde ile çalışılmasına olanak sağlamasıdır. (Azmir vd., 2013; Kaufmann ve Christen, 2002).



Şekil 2.6. Basınçlı sıvı ekstraksiyon düzeneğinin şematik gösterimi

Katı veya yarı katı örnek madde, içerisinde çözücü olan paslanmaz çelikten oluşan ekstraksiyon bölmesinde yer alır ve ocak içinde ısıtılır (50 – 200°C), böylece çözücü hacminin artmasına neden olmaktadır. Bölmelerdeki aşırı basıncı engellemek için, sabit kapakçık otomatik olarak açılıp kapanmaktadır. Sabit ekstraksiyon safhasında, yaklaşık 5 – 10 dakika boyunca taze çözücü sistem içerisine doğru pompalanmaktadır. Başlangıçtaki tüm çözücü basınçlı gaz ile tasviye edilir, genellikle nitrojen ve toplam çözücü, şişe içerisinde toplanmaktadır (Kaufmann ve Christen, 2002).

Basınçlı sıvı ekstraksiyonu, süperkritik akışkan ekstraksiyonu yöntemine karşı alternatif bir yöntemdir. Sokslet yöntemi ile karşılaştırma yapıldığında, çözücü miktarı ve ekstraksiyon süresini azaltması nedeniyle avantajlı bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır (Wang ve Weller, 2006).

2.3 Antimikrobiyal Maddeler ve Antimikrobiyal Aktivite

Antimikrobiyal madde, mikroorganizmaların üremesini engelleyen, öldüren doğal veya sentetik kimyasallardır. Antimikrobiyallerin etkisi, üremeyi durdurucu veya öldürücü olabilir. Organizmaları öldüren maddeler sidal maddeler olarak isimlendirilir ve aldığı ön ek öldürülen organizmanın tipini işaret etmektedir. Dolayısıyla bakteriler, funguslar ve virüsleri öldüren maddeler sırasıyla bakteriyosidal, fungusidal ve virisidal maddeler olarak isimlendirilir. Organizmayı öldürmeyen, buna karşılık sadece üremesini engelleyen maddeler statik maddeler olarak isimlendirilir ve bunlar bakteriyostatik, fungistatik ve viristatik maddeler olarak isimlendirilirler (Madigan ve Martinko, 2010).

2.3.1 Antimikrobiyal aktiviteye sahip kimyasal maddeler

İnsanlar yıllardır birtakım kimyasal maddeleri gıdaları korumak amacıyla kullanmaktadır. Kullanılan bu kimyasal maddelerin başında sofr tuzu, nitrit ve sülfat tuzları gelmektedir. Fakat son zamanlarda bu kimyasal maddelere ilaveten yeni tip koruyucu antimikrobiyal aktiviteye sahip kimyasal maddeler geliştirilmiştir. Mikroorganizmaların gıda içerisinde büyümeleri ve çoğalmaları, gıdalarının bozulmasına neden olan başlıca etkindir. Bu mikroorganizmalar insanlarda gıda zehirlenmesi olarak tanımlanan hastalıklara neden olabilecek zehirli kimyasal maddeler üretebilmektedirler. Bu nedenle gıdalarda kullanılan antimikrobiyal maddeler, mikroorganizmaların ölümüne veya üremelerinin engellenmesine neden olarak gıdaların uzun raf ömrüne sahip olmaları sağlamaktadır (Alanyalı vd., 2009).

Gıdalar depolanma süresince birçok fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik değişime uğrarlar. Bunların raf ömrünü uzatmak ve daha kaliteli bir ürün elde etmek amacıyla ısıtma, soğutma gibi sıcaklık değişimleri uygulanmasının yanı sıra, su aktivitesinin düşürülmesi, kütleme, tuzlama, pH kontrolü, antimikrobiyal madde ilavesi, kontrollü atmosferde depolama ve ambalajlama gibi birçok etkili yöntemler kullanılmaktadır (Ayana ve Turhan, 2010).

Çizelge 2.2. Gıdalarda kullanılan bazı kimyasal koruyucular

Bileşik	Mikrobiyal hedef	Uygulanan gıda
Benzoik asit ve benzoatlar	Mayalar, küfler	İçecekler, meyve ürünleri, margarin
Parabenler	Mayalar, küfler, bakteriler	İçkiler, sucuk, kek, bisküvi vb.
Asetik asit ve asetatlar	Mayalar, bakteriler	Süt ürünleri, yağ, et, soslar, kek, bisküvi vb.
Propiyonik asit ve propiyonatlar	Küfler	Ekmek ve ürünleri, süt ürünleri
Sorbik asit ve sorbatlar	Mayalar, küfler, bakteriler	Şarap
Laktik asit ve laktatlar	Bakteriler	Et ürünleri
Nitrit ve nitrat tuzları	<i>Clostridium botulinum</i>	İçkiler, kek, bisküvi vb.
Sülfidler	Mayalar, küfler	Meyve, meyve ürünleri, patates ürünleri, şaraplar
Nisin	<i>Clostridium botulinum</i>	Peynir, pişmiş et, tavuk ürünleri
Natamisin	Küfler	Peynir
Lisozim	<i>Clostridium botulinum</i>	Peynir, pişmiş et, tavuk ürünleri
Laktoferrin	Bakteriler	Et ürünleri

Farklı kimyasal gıda koruyucuları farklı koruma mekanizmalarıyla gıdaları mikroorganizmalardan korurlar. Örneğin tuz ve şeker dehidrasyon mekanizmasıyla koruyucu aktivite göstermektedir. Gıdaların tuzlanması veya şeker katılması gıdada bulunan suyu osmoz yoluyla ortamdan uzaklaştırır. Mikroorganizmaların çoğu susuz ortamda çoğalamadıklarından dolayı üremeleri inhibe edilmiş olur. Fakat bazı halofil ve sakkarofil mikroorganizmalar düşük tuz ve şekerli ortamlarda dahi üreyebilme yeteneğine sahiptirler. Benzoik asit ve nitrit tuzları ise gıdalarda bulunan mikroorganizmaları zehirleyerek koruyucu görev görürler. Benzoik asit alkolsüz içki üretiminde en çok kullanılan kimyasal koruyuculardan biridir. % 0,1 derişimin altında kullanılır, fazlası insan sağlığına zarar verebilmektedir. Nitrit tuzları ise marketlerde hazır olarak satılan et ürünlerinde bakterilerin çoğalmasını durdurmak için kullanılmaktadır. Aynı zamanda ete pembe bir renk katmaktadır (Alanyalı vd., 2009).

Gıdaların bozulması kimyasal, fiziksel ya da mikrobiyal nedenlerle olabilmektedir. Mikrobiyal gelişmenin önüne geçmek için zayıf organik asitler, hidrojen peroksit, şelatorler, organik biyomoleküller eklenmesi veya ısı işlem ya da paketlenme gibi fiziksel yöntemlerin yanı sıra, pH, oksidasyon-redüksiyon potansiyelinin veya osmotik basıncın değiştirilmesi gibi yöntemler kullanılabilir. Mikrobiyolojik bozulmanın engellenmesi için ise patojenik mikroorganizmaların gelişimlerinin durdurulması yönünde çalışmalar yapılmaktadır. Bunun yanı sıra gıdalarda kullanılan koruyucu

maddelerin kullanımında oluşabilecek sakıncalı durumlar nedeniyle doğal koruyucular gittikçe önem kazanmaktadır (Keskin ve Toroğlu, 2011; Souza vd., 2005; Tajkarimi vd., 2010).

Gıdalardaki mikrobiyal kontrol mikrobiyal yaşamı baskılamaya yöneliktir ve patojenik mikroorganizmaların gelişmelerine bağlı olan gıda bozulmaları ve kimyasal maddelerin bu gelişmeyi engellemesi nedeniyle gıda güvenliği konusunda yenilebilir özellikteki tıbbi bitkiler kekik, biberiye, adaçayı, fesleğen, zencefil, rezene gibi bitkilerin kullanımını da içeren yeni yaklaşımlar bulunmaktadır. Bitkisel kaynaklı antimikrobiyal ajanlar pek çok farklı bitki kısmından elde edilebilmektedir (Souza vd., 2005; Tajkarimi vd., 2010).

2.3.2 Antimikrobiyal aktivite

Abascal ve Yarnell (2002) ilaçlara alternatif olarak antimikrobiyal özellik gösteren bitkilerin kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Bununla beraber ilaç dirençliliğini indirgeyebilmek için de antibiyotiklerle bitkilerin birlikte kullanılması gerektiğine dikkat çekmişlerdir. Mikroorganizmaların dirençlilik aktivitesi 4 ana mekanizması şu şekilde açıklanmaktadır:

- a)** Bitkiler mikroorganizmaları öldürmek için ilaçlarla sinerjik olarak aktive gösterebilir.
- b)** Bitkiler antibiyotikleri indirgeyen bakteriyel enzimleri inhibe edebilir.
- c)** Bitkiler antibiyotikleri uzaklaştıran dirençli bakteriyel suşların hareketini inhibe edebilir.
- d)** Bitkiler sinerjistik ve katkısız hareket göstererek mikrobiyal adezyona engel olabilir (Toroğlu ve Çenet, 2006).

Bilinen tüm antibiyotiklere direnç geliştirmekte olan bakterilerde, ilaç dirençliliği artmakta ve yayılmaktadır. Bu nedenle ilaçlara alternatif olarak tıbbi bitkilerin kullanılması önerilmekte ve bazı geleneksel bitkiler antimikrobiyal olarak kullanılmaktadır. Esansiyel yağlar, bitkilerden veya bitkisel droglardan çeşitli distilasyon ve ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen, genellikle oda sıcaklığında sıvı

halde olan, uçucu, kuvvetli kokulu, baharatın tüm koku ve tat verici bileşenlerini içeren, su buharı ile taşınabilen karışımlardır. Oleoresinler ise baharatların tüm tat verici bileşenlerini/ingrediyentlerini içeren yoğun ekstraktlar olarak tanımlanmaktadır (Abaskal ve Yarnell, 2002; Onbaşılı vd., 2011; Uğuz, 2011).

2.3.3 Antimikrobiyal aktivitenin belirlenme yöntemleri

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi amacıyla geliştirilmiş birçok yöntem bulunmaktadır. Disk difüzyon metodu (DDM) ve MİK belirlenmesi yöntemleri en çok kullanılan iki yöntemdir. Bu yöntemler aşağıda açıklanmıştır.

2.3.3.1 Disk difüzyon yöntemi

Antimikrobiyal aktivite belirleme çalışmalarında kullanılan en yaygın çalışma disk difüzyon yöntemidir. Bu yöntemde, test edilen mikroorganizma ile inokule edilmiş katı besiyeri üzerinde yer alan disk ya da oluşturulan havuzcuk veya kuyucuğa antimikrobiyal madde eklenir. Besiyeri içerisinde antimikrobiyal maddenin oluşturduğu aktiviteye bağlı olarak oluşan inhibisyon zon çapları ölçülerek ekstraktın antimikrobiyal etkisi belirlenmektedir. Bu yöntem rutin bir şekilde patojenlerde antibiyotik hassasiyetini test etmek için kullanılmaktadır (Şahin, 2006; Madigan ve Martinko, 2010).

2.3.3.2 Minimum inhibisyon konsantrasyonu

Farklı konsantrasyonlarda test edilen antimikrobiyal maddelerin, mikrobiyal gelişimi tamamen yok ettiği veya engellediği en düşük derişim Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) olarak tanımlanmaktadır. MİK belirlemek için sıvı besiyerlerinde veya katı besiyerlerinde antimikrobiyal etkiye sahip olan bileşiklerin seyreltik olarak belirli oranlarda eklenmesiyle hazırlanan besi ortamları kullanılmaktadır. Bir antimikrobiyal madde için MİK değeri mikroorganizma, inkübasyon sıcaklığı ve inokulum miktarı gibi analiz koşullarına bağlı olarak değişebilmektedir (Şahin, 2006).

2.3.3.3 Minimum bakterisidal konsantrasyon

Minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK), bir mikroorganizmayı tamamını yok eden en düşük antibiyotik konsantrasyondur. MBK, MİK testinden sonra uygulanır. MİK testi sonucunda üremenin olmadığı tüplerden örnekler alınarak katı besiyerine ekim yapılır. Katı besiyerinde üremenin olmadığı ilk besiyeri bize MBK değerini verir (Altuner, 2008).

2.4 Deneylerde Kullanılan Mikroorganizmalar

2.4.1 *Proteus mirabilis*

Enterobacteriaceae familyasına mensup olan *Proteus mirabilis*, gram negatif, pleomorfik, sporsuz, kapsülsüz ve çok hareketlidirler. Genellikle insan barsak florasında, kanalizasyon sularında ve kirli sularda bulunurlar. Üriner sistem enfeksiyonları başta olmak üzere birçok hastalığa sebep olurlar. Yara yeri enfeksiyonları, organ apseleri, pnömoni ve sepsisem olgularından izole edilirler (Kurtoğlu vd., 2008).

2.4.2 *Escherichia coli*

Enterobacteriaceae familyasının bir üyesi olan *Escherichia coli*, anaerob ve gram negatif bir bakteridir. Genellikle insan barsaklarında yaşar. Gastrointestinal sistemde bol miktarda bulunurlar ve bakteriyel enfeksiyon, neonatal menenjit, üriner sistem enfeksiyonu ve gastroenterite neden olmaktadır (Altuner, 2008).

2.4.3 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcaceae familyasına mensup, gram pozitif bir bakteri olup kok şeklindedir. İnsan derisi ve mukozasında koloni oluşturabilen bir bakteridir. İnsan vücuduna girdiği takdirde hastalık yapabilmektedir. *Staphylococcus aureus* cilt kabarıklığı, impetigo, yanık, selülit, çiban, haşlanmış deri sendromu, apseler gibi hafif deri enfeksiyonlarının yanı sıra, pnömoni, menenjit, osteomyelit, toksik şok sendromu ve sepsisemi gibi ciddi hastalıklara da neden olabilmektedir (Altuner, 2008).

2.4.4 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonaceae familyasına mensup olan bu bakteri türü, toprak ve sularda yoğun olarak bulunmaktadır. *Pseudomonas aeruginosa*, gram negatif, aerobik, polar flagellasıyla hareket edebilen çubuk şeklindedir. Kapsül ve sporsuzdurlar. Aerobik olduklarından dolayı gıdalarda okside ürünler ve mukoz madde oluştururlar. Özellikle soğukta saklanan süt, et, yumurta ve deniz ürünlerinin bozulmasındaki başlıca etkili bakteri türüdür. *Pseudomonas aeruginosa*, fırsatçı patojen özellikte olması nedeniyle çeşitli hastalıkların oluşmasında başlıca etkindir. İdrar yolu, göz, dış kulak, orta kulak, tanık ve yara enfeksiyonları, menenjit, bronşit, osteomyelit gibi hastalıklardan izole edilebilmektedirler (Şen ve Halkman, 2006).

2.4.5 *Candida albicans*

Candida albicans, *Cryptococcaceae* familyasına mensup bir maya türüdür. Doğal kaynağı insan olup toprak ve bitkilerden de üretilebilirler. *Candida albicans*, insanlarda oral ve genital bölgelerde enfeksiyonlar oluşturan bir maya türü çeşididir. Hastanelerden bulaşan mantar enfeksiyonların etkenidir. İnsanın barsak florasında bulunur. Hiçbir hastalığa neden olmadan ağız, barsak, vajina, üst solunum yolu ve deri florasında bulunabilirler (Altuner, 2008; Aydın, 2004).

BÖLÜM III

MATERYAL ve METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Baharat örnekleri

Tez çalışmasında kullanılan baharatlardan kekik, kimyon, karabiber ve nane, Niğde ilinde aktardan kuru olarak temin edilmiştir. Kırmızıbiber ise Kayseri ilinde bulunan bir aktardan yaş olarak temin edilip laboratuvarında kurutularak kullanılmıştır.

3.1.2 Mikroorganizmalar

Antimikrobiyal aktivite çalışmasında kullanılan test mikroorganizmaları Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezinden temin edilmiştir. Bu mikroorganizmalar *Proteus mirabilis* 235, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve *Candida albicans* ATCC 26231 suşlarıdır.

3.1.3 Kullanılan çözücüler

Tez çalışmasında kullanılan baharat ekstraksiyonları için etil alkol, metil alkol, aseton ve distile su çözücülerini kullanılmıştır.

3.1.4 Besiyerleri

Yapılan çalışmada bakterilerin gelişimlerini sağlamak için Mueller Hinton Agar (MHA) ve Mueller Hinton Broth (MHB), mayaların üretilmesi için ise Potato Dextrose Agar (PDA) besiyerleri kullanılmıştır.

3.1.5 Ekstraktlar için kullanılan diskler

Gerçekleştirilen tez çalışmasında baharatlara ait ekstraktlar Whatman No:1 marka filtre kâğıdından elde edilen disklerle emdirilmiştir.

3.2 Metod

3.2.1 Ekstraksiyon

3.2.1.1 Baharatların ekstraksiyon için hazırlanması

Gerçekleştirilen tez çalışmasında baharatların ekstraksiyon işlemi yapılmadan önce toz hale getirilinceye kadar porselen havanda dövülmüştür. Toz haline getirilen örneklerin ekstraksiyon yapılması amacıyla çözücü-örnek karışımları 1:50 (mg:ml) olacak şekilde hazırlanmıştır (Altuner, 2008).

Yapılan tez çalışmasında maserasyon ve sonikasyon metodu olmak üzere iki farklı ekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır.

3.2.1.2 Maserasyon yöntemi

Yukarıda anlatılan şekilde hazırlanan örnekler 2, 3, 4, 5, 6, 12 ve 24'er saatlik periyotlarda 40°C'de çalkalamalı inkübatörde mesare edilerek ekstraksiyon yapılmıştır. Ekstraksiyon süresi tamamlanan örnekler filtrasyon yöntemiyle steril edilmiştir (Altuner, 2008).

3.2.1.3 Sonikasyon yöntemi

Tez çalışmasında uygulanan bu yöntemde falcon tüpleri içerisinde hazırlanan örnek çözücü karışımı 5, 10, 15, 30, 60 ve 90 dakikalık periyotlarda 40 kHz frekansa ayarlanmış sonikatör vasıtasıyla ultrasonik ses dalgaları kullanılarak ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon süresi tamamlanmış örneklerle yine filtrasyon işlemi uygulanarak eppendorf tüplerine alınmış ve ekstraksiyonları tamamlanmıştır (Stanisavljevic vd., 2009).

3.2.2 Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi

3.2.2.1 Mac Farland metoduna göre bakterilerin hücre yoğunluğunun belirlenmesi

Yapılan tez çalışmasında kullanılan test mikroorganizmalarının hücre yoğunlukları 1 no'lu Mac Farland tüpüne göre ayarlanmıştır.

Çizelgede belirtilen oranlarda A çözeltisi (% 1,175 BaCl₂ 2H₂O) ve B çözeltisi (0,36 N H₂SO₄'den % 1(v/v) çözeltisi) karıştırılarak 1'den 10'a kadar Mac Farland tüpleri elde edilmiştir. Karışım sonucunda farklı bulanıklıklarda çözeltiler elde edilmiştir (Gürgün ve Halkman, 1990).

Çizelge 3.1. Mac Farland Standardı

Tüp No	A çözeltisi	B çözeltisi
1	0,1	9,9
2	0,2	9,8
3	0,3	9,7
4	0,4	9,6
5	0,5	9,5
6	0,6	9,4
7	0,7	9,3
8	0,8	9,2
9	0,9	9,1
10	1,0	9,0

Çalışmada kullanılacak olan test mikroorganizmalar 5000 rpm'de 6 dakika santrifüj edildikten sonra üzerindeki süpernatant kısmı alınmıştır. Santrifüj sonunda tüpün alt kısmına çöken mikroorganizma üzerine % 0,085'lik NaCl çözeltisi eklenerek istenilen bulanıklığa ulaşılmıştır.

3.2.2.2 Disk difüzyon yöntemi ile inhibisyon zonu belirlenmesi

Çalışmada kullanılan test bakterileri MHB sıvı besiyeri ortamında 37 °C'de, test maya ise PDA katı besiyeri ortamında 30 °C'de, 24 saat (*Proteus mirabilis* 235, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) ve 48 saat (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 26231) inkübe edilerek aktifleştirilmiştir.

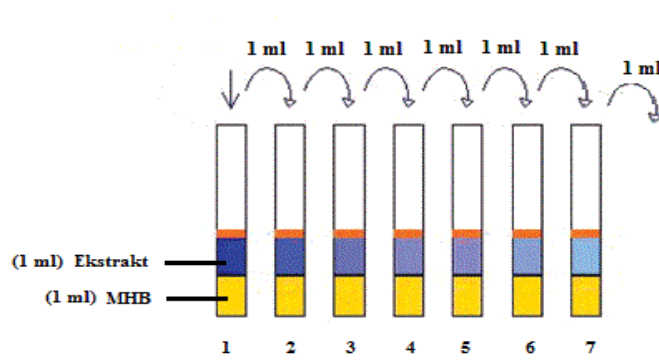
Çalışmada kullanılacak test mikroorganizmaların, 1 nolu Mac Farland bulanıklığına göre hücre yoğunlukları ayarlandıktan sonra, 100 µl bakteri kültürünün yayma plak yöntemi ile inokülasyonu gerçekleştirilmiştir.

DDM’de kullanılan diskler, her biri 6 mm olacak şekilde zımba vasıtasıyla kesilmiş ve steril edilerek kullanılmıştır. Daha sonra bu disklere hazırlanan baharat ekstraktları 20 µl olacak şekilde emdirilmiş ve petri plakları üzerine yerleştirilmiştir. Daha sonra petri plakları uygun inkübasyon sıcaklıklarına göre 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda disklerin çevresinde meydana gelen inhibisyon zonları kumpas yardımıyla ölçülmüştür. Bütün bu denemeler 3 paralel olacak şekilde tekrarlanmıştır.

3.2.2.3 Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) çalışması

MİK değeri, mikroorganizmaların gelişimini inhibe eden antimikrobiyal ajanların en düşük konsantrasyonudur. MİK, broth dilüsyon metodu ile belirlenmiştir.

Yapılan tez çalışmasında MİK değeri belirlenecek olan örnekler, DDM’de en iyi sonuç veren çözücü – mikroorganizma – zaman üçlüsüne göre belirlenmiştir. Birbirine yakın inhibisyon zonu değerlerine sahip olanlara da MİK uygulaması yapılarak MİK değerleri arasında karşılaştırma yapılmıştır.



Şekil 3.1. MİK çalışması

Yapılan bu çalışmada 7 adet steril deney tüpüne 1'er ml MHB konulmuştur. MİK değerinin belirlenmesi için kullanılacak olan baharat ekstraktı, 1. tüpe 1 ml eklenmiştir.

1. tüpte meydana gelen karışımdan yine 1 ml alınarak 2. tüpe eklenmiştir. Bu aktarma işlemleri 7. tüpe kadar devam etmiştir ve son tüpten alınan 1 ml'lik sıvı karışımı atılmıştır. Böylece 1. tüpte %50, 2. tüpte %25, 3. tüpte %12,5, 4. tüpte % 6,25, 5. tüpte 3,12, 6. tüpte 1,56, 7. tüpte ise 0,78'lik ekstraksiyon konsantrasyonları elde edilmiştir. Hazırlanan bu sistemde her bir tüpe 10 µl bakteri örneği ekilerek 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda üremenin kaçınıcı tüpten itibaren başladığı belirlenerek baharat ekstraktlarının MİK değerleri yüzde konsantrasyon cinsinden belirlenmiştir.

3.2.3 Antibiyotiklerin test bakterilerinin üzerine etkilerinin araştırılması

Çalışmada kullanılan test bakterileri Bölüm 3.2.2.2'de anlatıldığı üzere aktifleştirilmiştir. Test bakterilerinin ekimi için MHA besiortamı hazırlanmış ve 100 µl aktif kültürlerden eklenerek drigalski özesi yardımıyla homojen bir şekilde yayılmaları sağlanmıştır. Ekim yapılmış besiyeri üzerine test edilecek Seftriakson (CRO30), Kloramfenikol (C30), Rifampin (RA5), Streptomisin (S10) ve Tetrasiklin (TE30) antibiyotik diskleri yerleştirilmiştir. 37 °C'de 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda meydana gelen zonlar kumpas yardımıyla ölçülmüştür. Tez çalışmasında kullanılan çözücülerin antimikrobiyal aktiviteye sahip olup olmadıkları yukarıda anlatılan yöntem ile araştırılmıştır.

BÖLÜM IV

BULGULAR

4.1 Kekik Bitkisine Ait Ekstraktların Antimikrobiyal Aktivite Değerleri

4.1.1 Maserasyon yöntemi ile elde edilen kekik ekstraktlarına ait antimikrobiyal aktivite sonuçları

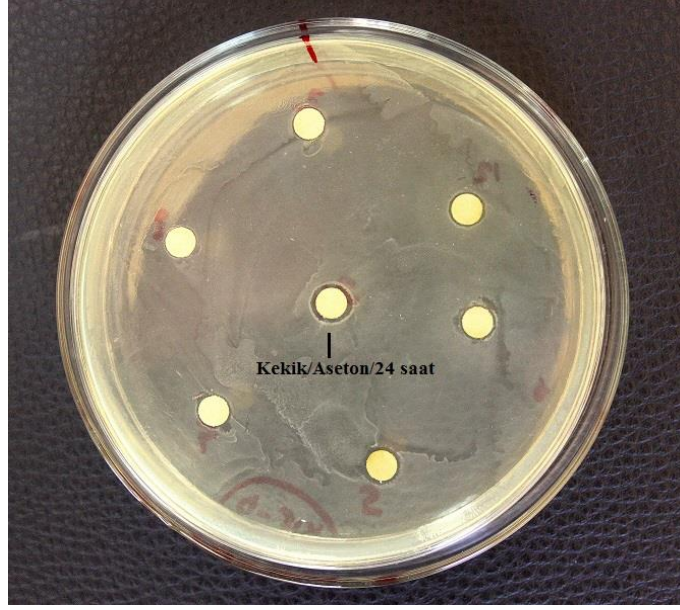
Yapılan tez çalışmasında kekik baharatının maserasyon yöntemi ile hazırlanmış ekstraktlarının *Proteus mirabilis* 235, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve *Candida albicans* ATCC 26231 suşları üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Aşağıdaki çizelgede kekik baharatı ile yapılan maserasyon ekstraktlarında çeşitli maserasyon sürelerinde kullanılan farklı çözücüler ile elde edilen ekstraktların test bakterileri üzerindeki antimikrobiyal aktivite sonuçları görülmektedir. DDM ile yapılan antimikrobiyal aktivite zon çaplarına göre belirlenmiş ve kekik baharatında en yüksek aktivite metanolün 12 saatlik ekstraksiyonu ile *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşuna karşı 8,5 mm inhibisyon zonu ile tespit edilmiştir (Çizelge 4.1., Fotoğraf 4.3.).

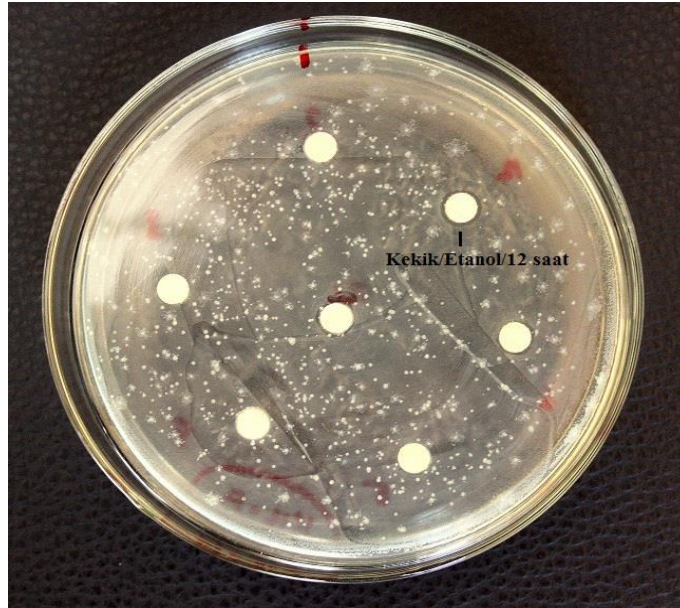
Kekik bitkisinden aseton ile 24, etanol ile 12 ve 24 saatte elde edilen ekstraktların sırasıyla *Proteus mirabilis* 235, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 üzerinde 7,4 mm (Fotoğraf 4.1.), 6,9 mm (Fotoğraf 4.2.), 7,8 mm (Fotoğraf 4.4.) inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. Kekiğe ait ekstraktların *Candida albicans* ATCC 26231 mayası üzerinde inhibisyon zonu oluşturmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.1.).

Çizelge 4.1. 40°C’de maserasyon yöntemi ile hazırlanan kekik ekstraktlarının disk difüzyon testi sonuçları

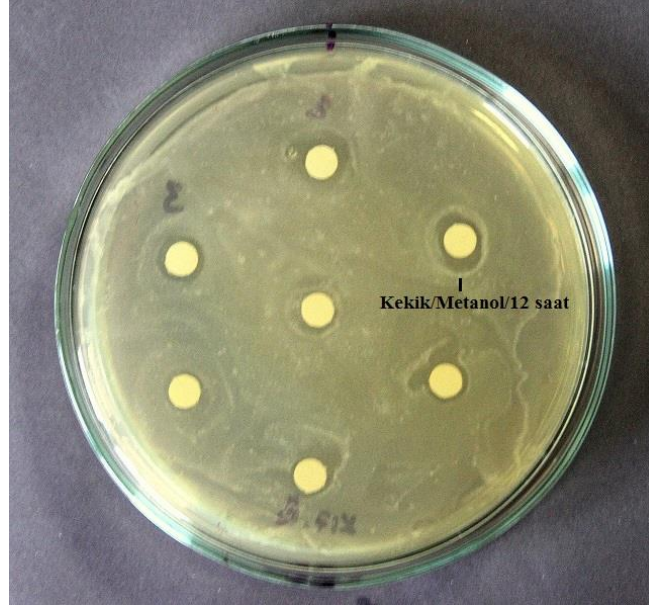
		İnhibisyon zon çapları (mm)						
Mikroorganizmalar		2	3	4	5	6	12	24
<i>Proteus mirabilis</i> 235	Etanol	-	-	-	-	-	-	-
	Metanol	-	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	7,2	-	-	7,4
	Distile su	-	-	-	-	-	-	-
	Etanol	-	-	-	-	6,8	6,9	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Metanol	-	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-	-
	Etanol	7,4	6,9	-	-	6,9	6,9	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Metanol	8,4	7,5	-	-	7,1	8,5	7,2
	Aseton	-	-	-	7,4	-	-	6,8
	Distile su	7,0	-	7,1	7,5	7,4	7,0	-
	Etanol	-	-	6,9	7,1	7,2	7,8	7,8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Metanol	-	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-	-
	Etanol	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 26231	Metanol	-	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-	-
	Etanol	-	-	-	-	-	-	-



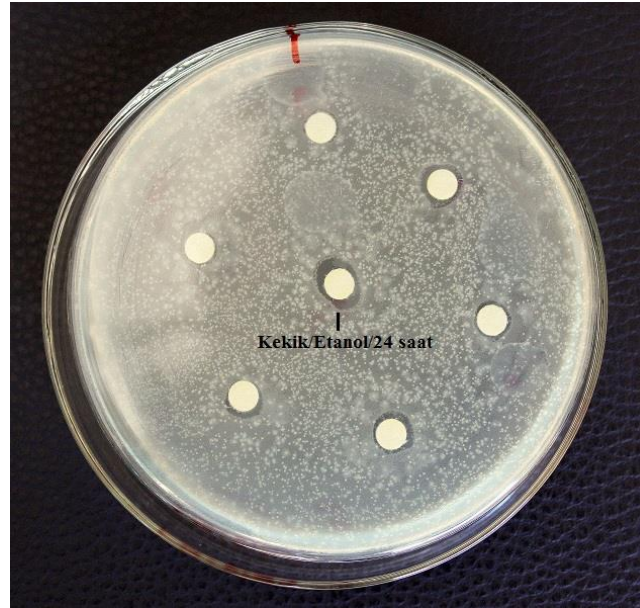
Fotoğraf 4.1. Kekik baharatının aseton ile 24 saatte yapılan ekstraktının *Proteus mirabilis* 235 üzerine etkisi



Fotoğraf 4.2. Kekik baharatının etanol ile 12 saatte yapılan ekstraktının *Escherichia coli* ATCC 25922 üzerine etkisi



Fotoğraf 4.3. Kekik baharatının metanol ile 12 saatte yapılan ekstraktının *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 üzerine etkisi



Fotoğraf 4.4. Kekik baharatının etanol ile 24 saatte yapılan ekstraktının *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 üzerine etkisi

4.1.2 Maserayon yöntemi uygulanan kekik ekstraktlarının MİK sonuçları

DDM sonucunda kullanılan test mikroorganizmalar üzerinde en geniş inhibisyon zon çapı oluşturan ekstraktlar ile MİK belirleme çalışması Bölüm 3.2.4’de belirtilen şekilde yapılmıştır.

Kekik bitkisine ait ekstraktlarla yapılan MİK çalışmalarında aseton ile 24 saatte, metanol ile 12 saatte, etanol ile ise 12 ve 24 saatte yapılan ekstraktlar sırasıyla 3,12 µl/ml, 6,25 µl/ml, 6,25 µl/ml, 3,12 µl/ml konsantrasyonlarda *Proteus mirabilis* 235, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853’ün bakteriyel gelişimlerini inhibe etmiştir (Çizelge 4.2.).

Çizelge 4.2. Kekiğin maserasyon yöntemiyle hazırlanmış ekstraktlarının MİK değerleri

Test mikroorganizması	Ekstraktın besiyerine oranı						
	%50	%25	%12,5	%6,25	%3,12	%1,56	%0,78
<i>Proteus mirabilis</i> 235	-	-	-	-	-	+	+
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	-	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	-	-	+	+

(+): Üreme var (-): Üreme yok

4.1.3 Sonikasyon yöntemi ile elde edilen kekik ekstraktlarına ait antimikrobiyal aktivite sonuçları

Kekik baharatının sonikasyon yöntemi ile hazırlanmış ekstraktlarıyla *Proteus mirabilis* 235, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve *Candida albicans* ATCC 26231 suşları üzerinde yapılan antimikrobiyal aktivite çalışması sonucunda inhibisyon zonu tespit edilmemiştir.

4.1.4 Sonikasyon yöntemi uygulanan kekik ekstraktlarının MİK sonuçları

Kekik baharatının sonikasyon yöntemi ile hazırlanmış ekstraktlarının DDM sonucu herhangi bir inhibisyon zonu tespit edilemediğinden dolayı, bu ekstraktlar üzerinde MİK çalışması yapılmamıştır.

4.2 Kimyon Bitkisine Ait Ekstraktların Antimikrobiyal Aktivite Değerleri

4.2.1 Maserasyon yöntemi ile elde edilen kimyon ekstraktlarına ait antimikrobiyal aktivite sonuçları

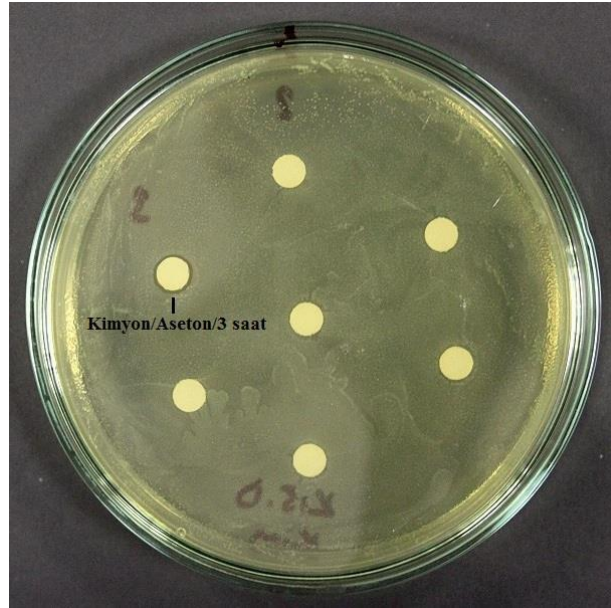
Maserasyon yöntemi ile kimyon baharatından hazırlanmış ekstraktların *Proteus mirabilis* 235, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve *Candida albicans* ATCC 26231 suşları üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.3'te gösterilmiştir.

DDM sonucunda kimyonda en yüksek antimikrobiyal aktivite asetonun 3 saatlik ekstraksiyonunda *Proteus mirabilis* 235 suşuna karşı 7,0 mm'lik inhibisyon zonu ile tespit edilmiştir (Çizelge 4.3., Fotoğraf 4.5.).

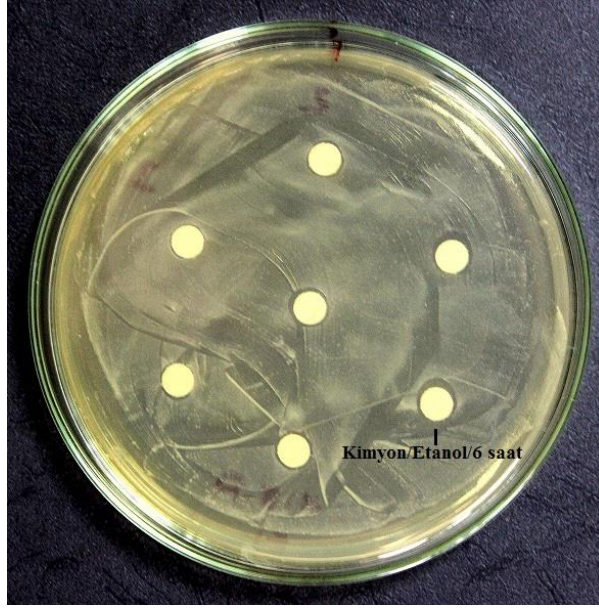
Kimyon bitkisinden aseton ile 6, etanol ile 6 ve 24 saatte elde edilen ekstraktların sırasıyla *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Proteus mirabilis* 235, *Escherichia coli* ATCC 25922 üzerinde 6,6 mm (Fotoğraf 4.8.), 6,9 mm (Fotoğraf 4.6.), 6,5 mm (Fotoğraf 4.7.) inhibisyon zonu oluşturduğu belirlenmiştir. Kimyona ait ekstraktların *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 suşu ve *Candida albicans* ATCC 26231 mayası üzerinde inhibisyon zonu oluşturmadığı görülmüştür (Çizelge 4.3.).

Çizelge 4.3. 40°C’de maserasyon yöntemi ile hazırlanan kimyon ekstraktlarının disk difüzyon testi sonuçları

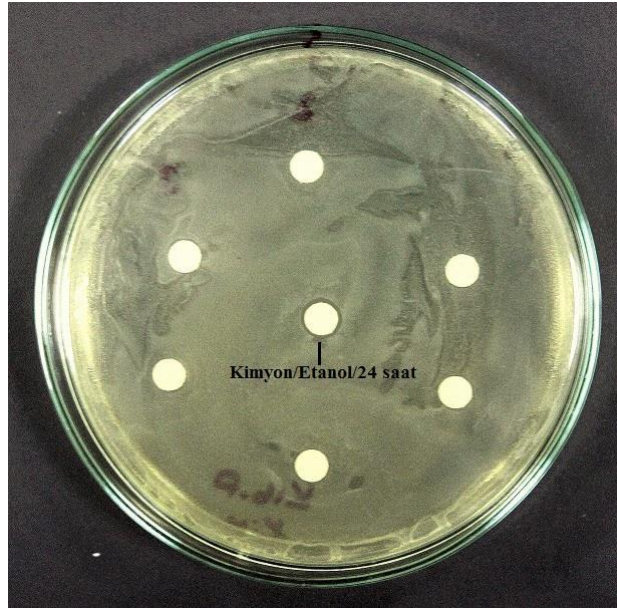
		İnhibisyon zon çapları (mm)						
Mikroorganizmalar		2	3	4	5	6	12	24
<i>Proteus mirabilis</i> 235	Etanol	-	-	-	-	6,9	6,7	6,8
	Metanol	-	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	7,0	-	-	6,7	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-	-
	Etanol	-	-	-	-	-	-	6,5
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Metanol	-	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-	-
	Etanol	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Metanol	-	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	6,5	6,6	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-	-
	Etanol	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Metanol	-	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-	-
	Etanol	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 26231	Metanol	-	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-	-
	Etanol	-	-	-	-	-	-	-



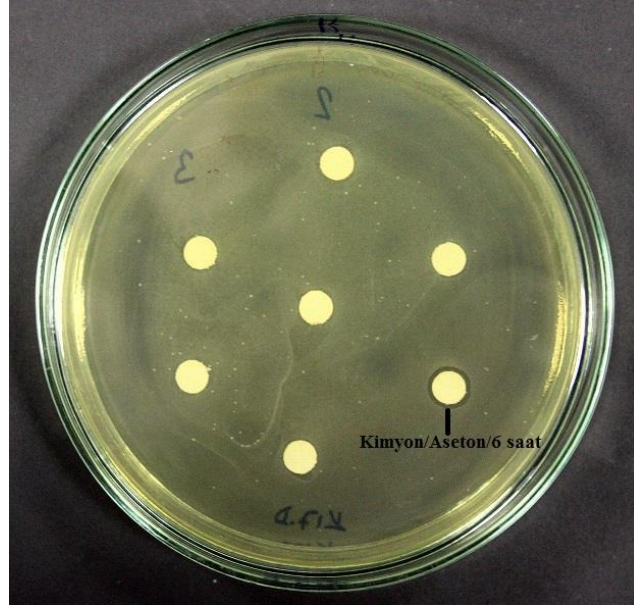
Fotoğraf 4.5. Kimyon baharatının aseton ile 3 saatte yapılan ekstraktının *Proteus mirabilis* 235 üzerine etkisi



Fotoğraf 4.6. Kimyon baharatının etanol ile 6 saatte yapılan ekstraktının *Proteus mirabilis* 235 üzerine etkisi



Fotoğraf 4.7. Kimyon baharatının etanol ile 24 saatte yapılan ekstraktının *Escherichia coli* ATCC 25922 üzerine etkisi



Fotoğraf 4.8. Kimyon baharatının aseton ile 6 saatte yapılan ekstraktının *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 üzerine etkisi

4.2.2 Maserayon yöntemi uygulanan kimyon ekstraktlarının MİK sonuçları

Kimyon bitkisinden elde edilmiş olan ekstraktların DDM sonuçlarına göre yapılan MİK çalışmalarında etanol ile 6 ve 24, aseton ile 3 ve 6 saatte yapılan ekstraktlar sırasıyla 25 µl/ml, 25 µl/ml, 25 µl/ml, 12,5 µl/ml konsantrasyonlarda *Proteus mirabilis* 235, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus mirabilis* 235 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşlarının bakteriyel gelişimlerini inhibe etmiştir (Çizelge 4.4.).

Çizelge 4.4. Kimyonun maserasyon yöntemiyle hazırlanmış ekstraktlarının MİK değerleri

Test mikroorganizması	Ekstraktın besiyerine oranı						
	%50	%25	%12,5	%6,25	%3,12	%1,56	%0,78
<i>Proteus mirabilis</i> 235	-	-	+	+	+	+	+
<i>Proteus mirabilis</i> 235	-	-	+	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	-	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	+	+	+	+

(+): Üreme var (-): Üreme yok

4.2.3 Sonikasyon yöntemi ile elde edilen kimyon ekstraktlarına ait antimikrobiyal aktivite sonuçları

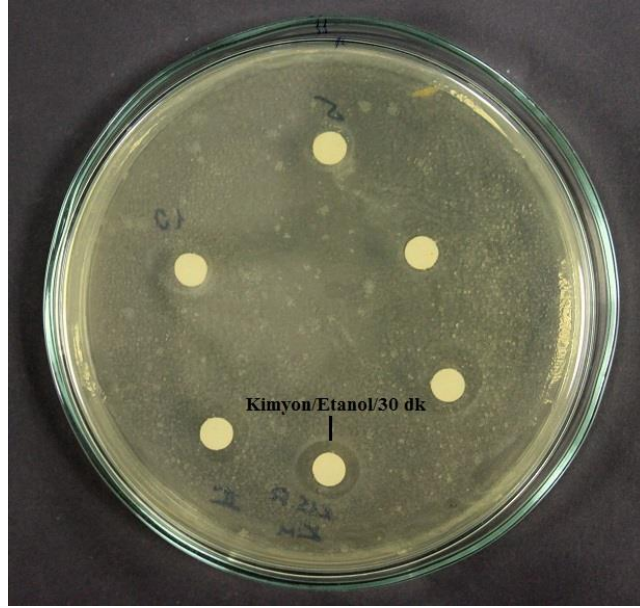
Proteus mirabilis 235, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve *Candida albicans* ATCC 26231 suşları üzerinde kimyon baharatının sonike edilerek hazırlanmış ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Kimyon baharatında DDM ile belirlenmiş en yüksek antimikrobiyal aktivite metanolün 60 dakikalık ekstraksiyonu ile *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşuna karşı 8,4 mm'lik inhibisyon zonu ile tespit edilmiştir (Çizelge 4.5., Fotoğraf 4.11.).

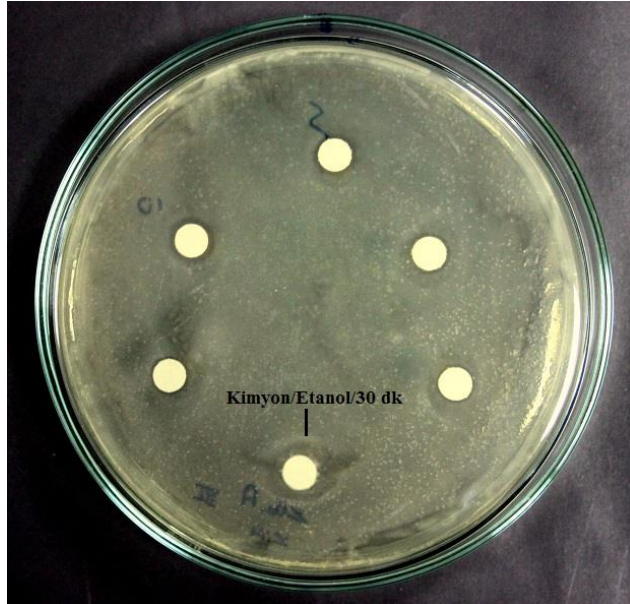
Kimyon bitkisinden etanol ile 30 dakikada elde edilen ekstraktların sırasıyla *Proteus mirabilis* 235 ve *Escherichia coli* ATCC 25922 üzerinde 7,9 mm (Fotoğraf 4.9.) ve 7,7 mm (Fotoğraf 4.10.) inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. Kimyon, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 suşu ve *Candida albicans* ATCC 26231 mayası üzerinde inhibisyon zonu oluşturmamıştır (Çizelge 4.5.).

Çizelge 4.5. Sonikasyon yöntemi ile hazırlanan kimyon ekstraktlarının disk difüzyon testi sonuçları

		İnhibisyon zon çapları (mm)					
Mikroorganizmalar		5	10	15	30	60	90
<i>Proteus mirabilis</i> 235	Etanol	-	-	7,4	7,9	7,4	-
	Metanol	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-
	Etanol	-	6,8	-	7,7	-	7,0
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Metanol	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	6,8	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-
	Etanol	-	7,1	-	7,2	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Metanol	-	6,8	-	-	8,4	-
	Aseton	7,4	-	7,1	-	7,0	7,6
	Distile su	-	-	-	-	-	-
	Etanol	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Metanol	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-
	Etanol	-	-	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 26231	Metanol	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-



Fotoğraf 4.9. Kimyon baharatının etanol ile 30 dakikada yapılan ekstraktının *Proteus mirabilis* 235 üzerine etkisi



Fotoğraf 4.10. Kimyon baharatının etanol ile 30 dakikada yapılan ekstraktının *Escherichia coli* ATCC 25922 üzerine etkisi



Fotoğraf 4.11. Kimyon baharatının metanol ile 60 dakikada yapılan ekstraktının *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 üzerine etkisi

4.2.4 Sonikasyon yöntemi uygulanan kimyon ekstraktlarının MİK sonuçları

MİK belirlenmesi, DDM ile elde edilen sonuçlara dayanılarak Bölüm 3.2.4’de belirtilen şekilde yapılmıştır.

Çizelge 4.5’de belirtilmiş olan DDM sonuçlarına göre kimyon bitkisinin sonike edilerek hazırlanmış ekstraktlarının MİK değerleri tespit edilmiştir. Çizelge 4.6’da verilmiş olan sonuçlarda metanol ile 60 ve etanol ile 30 dakikada yapılan ekstraktlardan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923’ün gelişimini metanollü ekstraktın 12,5 µl/ml, *Proteus mirabilis* 235 ve *Escherichia coli* ATCC 25922’nin gelişimini ise etanol ile yapılan ekstraktın 25 µl/ml konsantrasyonda inhibe ettiği görülmektedir.

Çizelge 4.6. Kimyonun sonikasyon yöntemiyle hazırlanmış ekstraktlarının MİK değerleri

Test mikroorganizması	Ekstraktın besiyerine oranı						
	%50	%25	%12,5	%6,25	%3,12	%1,56	%0,78
<i>Proteus mirabilis</i> 235	-	-	+	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	-	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	+	+	+	+

(+): Üreme var (-): Üreme yok

4.3 Karabiber Bitkisine Ait Ekstraktların Antimikrobiyal Aktivite Değerleri

4.3.1 Maserasyon yöntemi ile elde edilen karabiber ekstraktlarına ait antimikrobiyal aktivite sonuçları

Yapılan tez çalışmasında DDM ile elde edilen sonuçlar Çizelge 4.7’de gösterilmiştir. Karabiber baharatında antimikrobiyal aktivite, etanolün 3 saatlik ekstraksiyonun *Proteus mirabilis* 235 suşuna karşı 7,3 mm’lik inhibisyon zonu oluşturduğu (Fotoğraf 4.12.), buna karşın *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 suşları ve *Candida albicans* ATCC 26231 mayası üzerinde inhibisyon zonu oluşmamasıyla tespit edilmiştir.

Çizelge 4.7. 40°C’de maserasyon yöntemi ile hazırlanan karabiber ekstraktlarının disk difüzyon testi sonuçları

		İnhibisyon zon çapları (mm)						
Mikroorganizmalar		2	3	4	5	6	12	24
<i>Proteus mirabilis</i> 235	Etanol	-	7,3	6,9	-	-	-	6,8
	Metanol	7,0	-	-	-	7,1	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-	-
	Etanol	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Metanol	-	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-	-
	Etanol	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Metanol	-	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-	-
	Etanol	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Metanol	-	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-	-
	Etanol	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 26231	Metanol	-	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-	-
	Etanol	-	-	-	-	-	-	-



Fotoğraf 4.12. Karabiber baharatının etanol ile 3 saatte yapılan ekstraktının *Proteus mirabilis* 235 üzerine etkisi

4.3.2 Maserasyon yöntemi uygulanan karabiber ekstraktlarının MİK sonuçları

Karabiber bitkisinden elde edilmiş olan ekstraktların DDM sonuçlarına göre yapılan MİK çalışmasında etanol ile 3 saatte yapılan ekstraktı 25 µl/ml konsantrasyonda *Proteus mirabilis* 235'in bakteriyel gelişimini inhibe etmiştir (Çizelge 4.8.).

Çizelge 4.8. Karabiberin maserasyon yöntemiyle hazırlanmış ekstraktlarının MİK değerleri

Test mikroorganizması	Ekstraktın besiyerine oranı						
	%50	%25	%12,5	%6,25	%3,12	%1,56	%0,78
<i>Proteus mirabilis</i> 235	-	-	+	+	+	+	+

(+): Üreme var (-): Üreme yok

4.3.3 Sonikasyon yöntemi ile elde edilen karabiber ekstraktlarına ait antimikrobiyal aktivite sonuçları

Sonikasyon yöntemi kullanılarak hazırlanmış karabiber baharatına ait ekstraktlarının *Proteus mirabilis* 235, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve *Candida albicans* ATCC 26231 suşları üzerinde antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4,9'da verilmiştir.

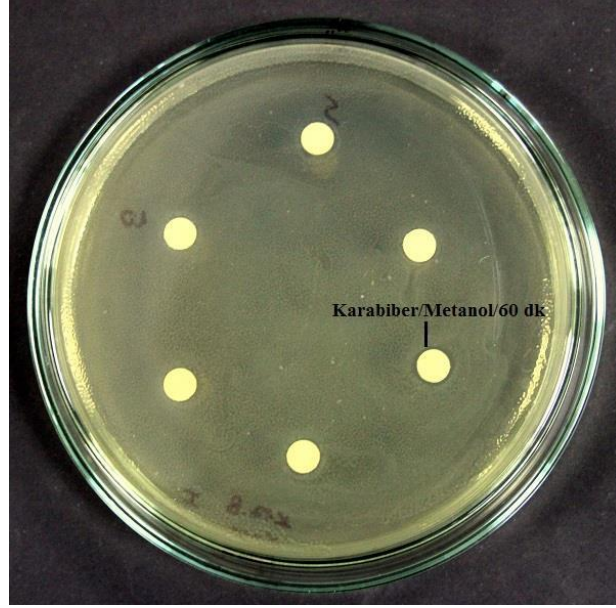
Yapılan DDM sonucunda karabiber baharatında *Escherichia coli* ATCC 25922 üzerinde etanolün 30 dakikalık (Fotoğraf 4.13.) ve *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 üzerinde metanolün 60 dakikalık ekstraksiyonlarının (Fotoğraf 4.14.) 6,5 mm'lik inhibisyon zonu oluşturduğu belirlenmiştir. Ancak karabiber yapılan çalışmada, kullanılan diğer mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiştir (Çizelge 4.9.).

Çizelge 4.9. Sonikasyon yöntemi ile hazırlanan karabiber ekstraktının disk difüzyon testi sonuçları

		İnhibisyon zon çapları (mm)					
Mikroorganizmalar		5	10	15	30	60	90
<i>Proteus mirabilis</i> 235	Etanol	-	-	-	-	-	-
	Metanol	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Etanol	-	-	-	6,5	-	-
	Metanol	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Etanol	-	-	-	-	-	-
	Metanol	-	-	-	-	6,5	-
	Aseton	-	-	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Etanol	-	-	-	-	-	-
	Metanol	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 26231	Etanol	-	-	-	-	-	-
	Metanol	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-



Fotoğraf 4.13. Karabiber baharatının etanol ile 30 dakikada yapılan ekstraktının *Escherichia coli* ATCC 25922 üzerine etkisi



Fotoğraf 4.14. Karabiber baharatının metanol ile 60 dakikada yapılan ekstraktının *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 üzerine etkisi

4.3.4 Sonikasyon yöntemi uygulanan karabiber ekstraktlarının MİK sonuçları

DDM sonucunda kullanılan test mikroorganizmalar üzerinde en iyi inhibisyon zon çapına sahip olan ekstraktlar ile MİK belirlenmiştir.

Çizelge 4.10 görülen sonuçlardan anlaşıldığı üzere karabiber bitkisinden elde edilmiş olan ekstraktların DDM sonuçlarına göre yapılan MİK çalışmalarında etanol ile 30 dakikada ve metanol ile 60 dakikada yapılan ekstraktlar sırasıyla 25 µl/ml ve 50 µl/ml konsantrasyonlarda *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 25923'ün bakteriyel gelişimini inhibe etmiştir.

Çizelge 4.10. Karabiberin sonikasyon yöntemiyle hazırlanmış ekstraktlarının MİK değerleri

Test mikroorganizması	Ekstraktın besiyerine oranı						
	%50	%25	%12,5	%6,25	%3,12	%1,56	%0,78
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	-	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-	+	+	+	+	+	+

(+): Üreme var (-): Üreme yok

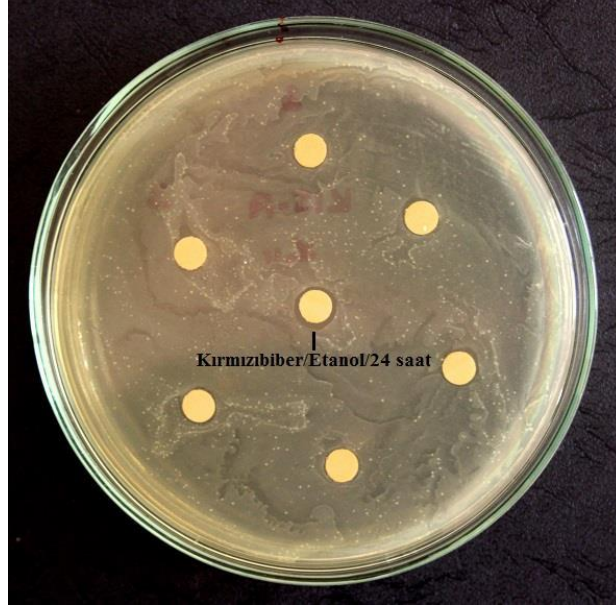
4.4 Kırmızıbiber Bitkisine Ait Ekstraktların Antimikrobiyal Aktivite Değerleri

4.4.1 Maserasyon yöntemi ile elde edilen kırmızıbiber ekstraktlarına ait antimikrobiyal aktivite sonuçları

Tez çalışmasında yapılan DDM sonucunda kırmızıbiber baharatında en yüksek antimikrobiyal aktivite etanolün 24 saatlik ekstraksiyonu ile *Proteus mirabilis* 235 suşuna karşı 6,7 mm'lik inhibisyon zonu ile belirlenmiştir (Fotoğraf 4.15.). Kırmızıbiber aile ekstraktların diğer test mikroorganizmalar üzerinde inhibisyon zonu oluşturmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.11.).

Çizelge 4.11. 40°C'de maserasyon yöntemi ile hazırlanan kırmızıbiber ekstraktlarının disk difüzyon testi sonuçları

		İnhibisyon zon çapları (mm)						
Mikroorganizmalar		2	3	4	5	6	12	24
<i>Proteus mirabilis</i> 235	Etanol	-	-	-	-	-	6,6	6,7
	Metanol	-	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-	-
	Etanol	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Metanol	-	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-	-
	Etanol	-	-	-	-	-	-	-
	Metanol	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Aseton	-	-	-	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-	-
	Etanol	-	-	-	6,5	-	-	-
	Metanol	-	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	6,5	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Distile su	-	-	-	-	-	-	-
	Etanol	-	-	-	-	-	-	-
	Metanol	-	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 26231	Etanol	-	-	-	-	-	-	-
	Metanol	-	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-	-
	Etanol	-	-	-	-	-	-	-



Fotoğraf 4.15. Kırmızıbiber baharatının etanol ile 24 saatte yapılan ekstraktının *Proteus mirabilis* 235 üzerine etkisi

4.4.2 Maserasyon yöntemi uygulanan kırmızıbiber ekstraktlarının MİK sonuçları

MİK belirleme çalışması, DDM sonucunda kullanılan test mikroorganizmalar üzerinde en iyi inhibisyon zon çapına sahip olan ekstraktlar ile bölüm 3.2.4’de belirtilen şekilde yapılmıştır.

Kırmızıbiber bitkisinden elde edilmiş olan ekstraktların MİK çalışmasında etanol ile 24 saatte yapılan ekstrakt *Proteus mirabilis* 235’in bakteriyel gelişimini 25 µl/ml konsantrasyonda inhibe etmiştir (Çizelge 4.12.).

Çizelge 4.12. Kırmızıbiberin maserasyon yöntemiyle hazırlanmış ekstraktlarının MİK değerleri

Test mikroorganizması	Ekstraktın besiyerine oranı						
	%50	%25	%12,5	%6,25	%3,12	%1,56	%0,78
<i>Proteus mirabilis</i> 235	-	-	+	+	+	+	+

(+): Üreme var (-): Üreme yok

4.4.3 Sonikasyon yöntemi ile elde edilen kırmızıbiber ekstraktlarına ait antimikrobiyal aktivite sonuçları

Kırmızıbiber baharatının sonikasyon yöntemi ile hazırlanmış ekstraktlarının *Proteus mirabilis* 235, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve *Candida albicans* ATCC 26231 suşları üzerinde antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.13'te verilmiştir.

Çalışmada yapılmış olan DDM sonucunda kırmızıbiber baharatında en yüksek antimikrobiyal aktivite *Escherichia coli* ATCC 25922 suşuna karşı etanolün 60 dakikalık ekstraksiyonunun ile 8,2 mm'lik inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.13., Fotoğraf 4.17.).

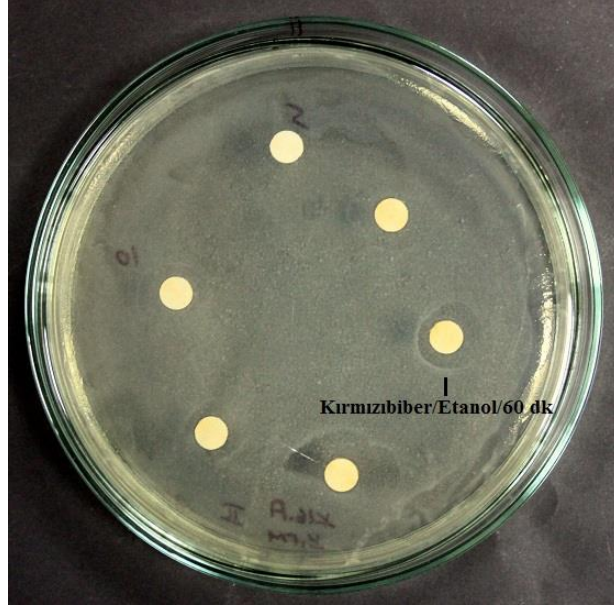
Çizelge 4.13'de Kırmızıbiber bitkisinden aseton ile 10 ve 15 dakikada elde edilen ekstraktların sırasıyla *Proteus mirabilis* 235 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 üzerinde 6,6 mm (Fotoğraf 4.16.) ve 7,2 mm (Fotoğraf 4.13.) inhibisyon zonu oluşturduğu, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Candida albicans* ATCC 26231 suşları üzerinde ise inhibisyon zonu oluşturmadığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4.13. Sonikasyon yöntemi ile hazırlanan kırmızıbiber ekstraktlarının disk difüzyon testi sonuçları

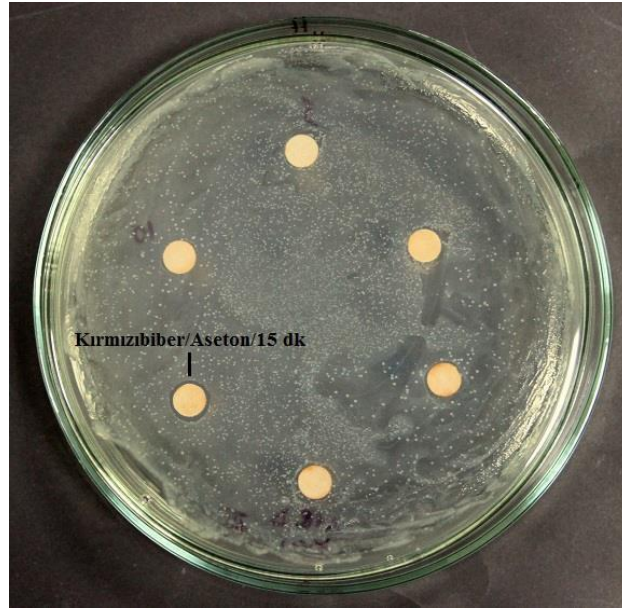
		İnhibisyon zon çapları (mm)					
Mikroorganizmalar		5	10	15	30	60	90
<i>Proteus mirabilis</i> 235	Etanol	-	6,6	-	-	-	-
	Metanol	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	6,6	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Etanol	-	6,9	-	-	8,2	-
	Metanol	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Etanol	-	-	-	-	-	-
	Metanol	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Etanol	-	-	-	-	-	-
	Metanol	-	-	-	-	-	-
	Aseton	6,7	-	7,2	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 26231	Etanol	-	-	-	-	-	-
	Metanol	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-



Fotoğraf 4.16. Kırmızıbiber baharatının aseton ile 10 dakikada yapılan ekstraktının *Proteus mirabilis* 235 üzerine etkisi



Fotoğraf 4.17. Kırmızıbiber baharatının etanol ile 60 dakikada yapılan ekstraktının *Escherichia coli* ATCC 25922 üzerine etkisi



Fotoğraf 4.18. Kırmızıbiber baharatının aseton ile 15 dakikada yapılan ekstraktının *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 üzerine etkisi

4.4.4 Sonikasyon yöntemi uygulanan kırmızıbiber ekstraktlarının MİK sonuçları

Yapılan denemelerden elde edilen sonuçlar Çizelge 4.14’de gösterilmiştir. Buna göre kırmızıbiber bitkisinden elde edilmiş olan ekstraktların DDM sonuçlarına göre yapılan MİK çalışmalarında etanol ile 60, aseton ile 10 ve 15 dakikada yapılan ekstraktlar

sırasıyla 6,25 µl/ml, 12,5 µl/ml, 12,5 µl/ml konsantrasyonlarda *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus mirabilis* 235 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853'ün bakteriyel gelişimini inhibe etmiştir.

Çizelge 4.14. Kırmızıbiberin sonikasyon yöntemiyle hazırlanmış ekstraktlarının MİK değerleri

Test mikroorganizması	Ekstraktın besiyerine oranı						
	%50	%25	%12,5	%6,25	%3,12	%1,56	%0,78
<i>Proteus mirabilis</i> 235	-	-	-	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	+	+	+	+

(+): Üreme var (-): Üreme yok

4. 5 Nane Bitkisine Ait Ekstraktların Antimikrobiyal Aktivite Değerleri

4.5.1 Maserasyon yöntemi ile elde edilen nane ekstraktlarına ait antimikrobiyal aktivite sonuçları

Maserasyon yöntemi ile nane bitkisinden elde edilen ekstraktların *Proteus mirabilis* 235, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve *Candida albicans* ATCC 26231 suşları üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.15'te verilmiştir.

Yapılan DDM sonucunda nane baharatı en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi etanolün 5 saatlik ekstraksiyonu ile *Proteus mirabilis* 235 suşuna karşı 12,4 mm'lik inhibisyon zonu ile göstermiştir (Çizelge 4.15., Fotoğraf 4.18.).

Nane bitkisinden aseton ile 24 ve metanol ile 4 saatte elde edilen ekstraktların sırasıyla *Proteus mirabilis* 235 ve *Staphylococcus aureus* ATCC üzerinde 8,9 mm (Fotoğraf 4.19.) ve 8,7 mm (Fotoğraf 4.20) inhibisyon zonu oluşturduğu, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve *Candida albicans* ATCC 26231 suşları üzerinde ise inhibisyon zonu oluşturmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.15.).

Çizelge 4.15. 40°C’de maserasyon yöntemi ile hazırlanan nane ekstraktının disk difüzyon testi sonuçları

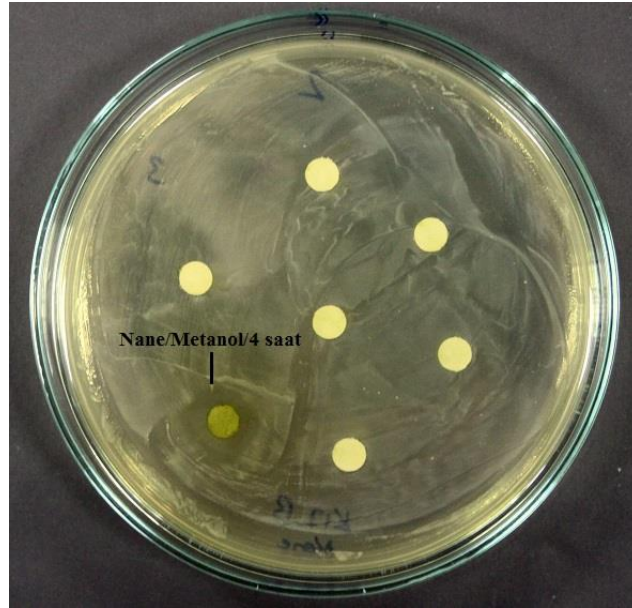
		İnhibisyon zon çapları (mm)						
Mikroorganizmalar		2	3	4	5	6	12	24
<i>Proteus mirabilis</i> 235	Etanol	9,5	8,7	12,1	12,4	9,8	10,1	10
	Metanol	-	-	-	-	-	-	-
	Aseton	7,6	7,9	-	7,4	7,1	7,7	8,9
	Distile su	-	-	-	-	-	-	-
	Etanol	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Metanol	-	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-	-
	Etanol	-	-	-	-	-	-	7,2
	Metanol	-	-	8,7	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Aseton	-	-	-	7,4	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-	-
	Etanol	-	-	-	-	-	-	-
	Metanol	-	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Distile su	-	-	-	-	-	-	-
	Etanol	-	-	-	-	-	-	-
	Metanol	-	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 26231	Etanol	-	-	-	-	-	-	-
	Metanol	-	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-	-
	Etanol	-	-	-	-	-	-	-



Fotoğraf 4.19. Nane baharatının etanol ile 5 saatte yapılan ekstraktının *Proteus mirabilis* 235 üzerine etkisi



Fotoğraf 4.20. Nane baharatının aseton ile 24 saatte yapılan ekstraktının *Proteus mirabilis* 235 üzerine etkisi



Fotoğraf 4.21. Nane baharatının metanol ile 4 saatte yapılan ekstraktının *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 üzerine etkisi

4.5.2 Maserasyon yöntemi uygulanan nane ekstraktlarının MİK sonuçları

MİK belirleme çalışması, DDM sonucunda en iyi inhibisyon zon çapına sahip olan ekstraktlar ile Bölüm 3.2.4’de belirtilen şekilde yapılmıştır.

Nane bitkisinden elde edilmiş olan ekstraktların DDM sonuçlarına göre yapılan MİK çalışmalarında etanol ile 5, aseton ile 24 saatte yapılan ekstraktların MİK değerleri *Proteus mirabilis* 235 üzerinde sırasıyla 6,25 µl/ml ve 12,5 µl/ml, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 üzerinde ise metanol ile 4 saatte yapılan ekstraktın 12,5 µl/ml konsantrasyonda etkin olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.16.).

Çizelge 4.16. Nananin maserasyon yöntemiyle hazırlanmış ekstraktlarının MİK değerleri

Test mikroorganizması	Ekstraktın besiyerine oranı						
	%50	%25	%12,5	%6,25	%3,12	%1,56	%0,78
<i>Proteus mirabilis</i> 235	-	-	-	-	+	+	+
<i>Proteus mirabilis</i> 235	-	-	-	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	+	+	+	+

(+): Üreme var (-): Üreme yok

4.5.3 Sonikasyon yöntemi ile elde edilen nane ekstraktlarına ait antimikrobiyal aktivite sonuçları

Nane baharatından sonikasyon yöntemi ile hazırlanan ekstraktların *Proteus mirabilis* 235, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve *Candida albicans* ATCC 26231 suşları üzerinde antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiş ve Çizelge 4.17’de görüldüğü gibi elde edilen sonuçlar verilmiştir.

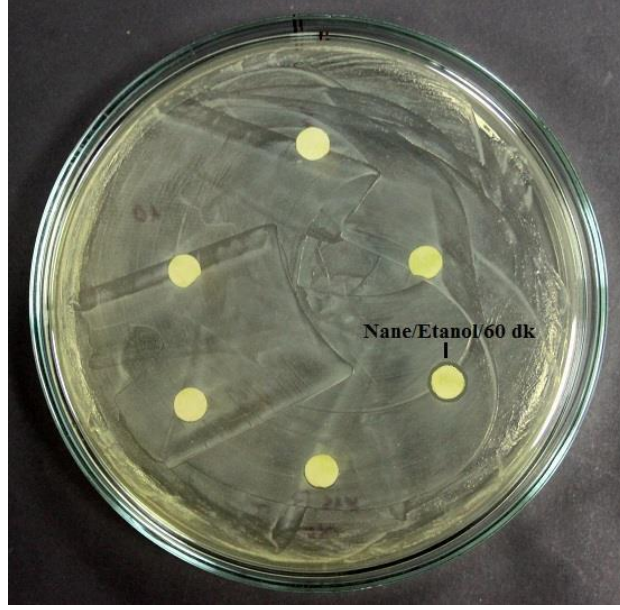
Yapılan DDM sonucunda nane baharatının gösterdiği en yüksek antimikrobiyal aktivite etanolün 10 dakikada yapılan ekstraksiyonu ile *Escherichia coli* ATCC 25922 suşuna karşı 7,9 mm’lik inhibisyon zonu ile belirlenmiştir (Çizelge 4.17., Şekil 4.22.).

Sonikasyon yöntemi uygulanan nane bitkisinden etanol ile 60, aseton ile 30 ve 60 dakikada elde edilen ekstraktlar sırasıyla *Proteus mirabilis* 235, *Pseudomonas*

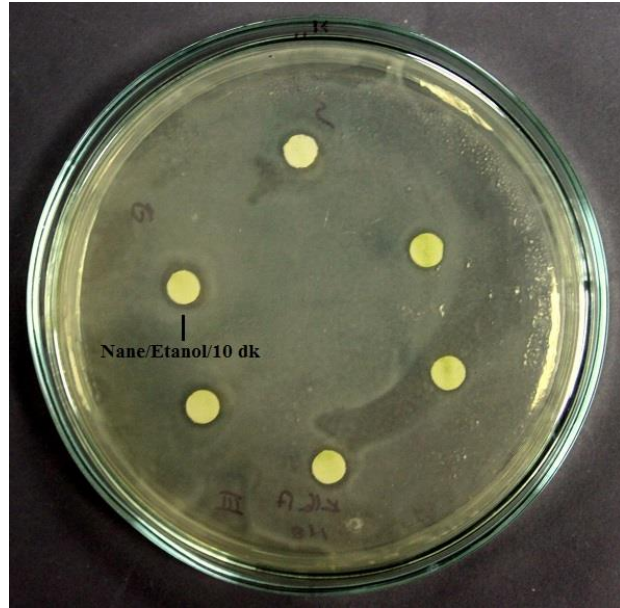
aeruginosa ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 üzerinde 6,5 mm (Fotoğraf 4.21.), 7,8 mm (Fotoğraf 4.24.), 7,2 mm (Fotoğraf 4.23.) inhibisyon zonu oluştururken *Candida albicans* ATCC 26231 suşu üzerinde ise herhangi bir ekstraktın inhibisyon zonu oluşturmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.17.).

Çizelge 4.17. Sonikasyon yöntemi ile hazırlanan nane ekstraktının disk difüzyon testi sonuçları

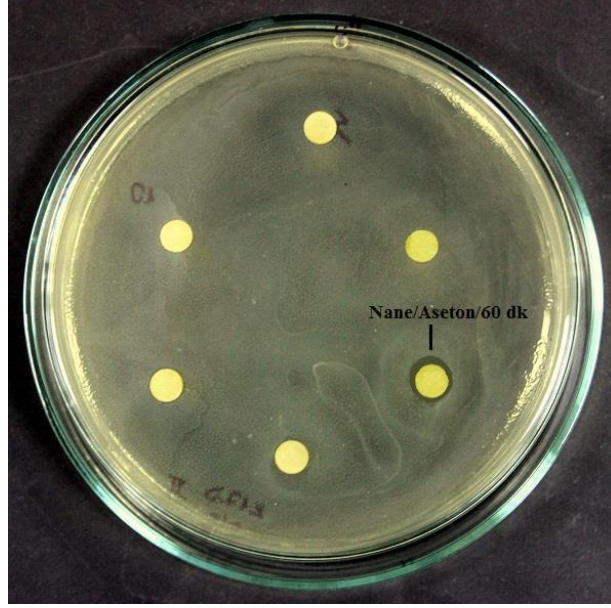
		İnhibisyon zon çapları (mm)					
Mikroorganizmalar		5	10	15	30	60	90
<i>Proteus mirabilis</i> 235	Etanol	-	-	-	-	6,5	-
	Metanol	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-
	Etanol	7,1	7,9	7,3	7,2	7,3	7,2
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Metanol	-	7,1	7	7	7	7,1
	Aseton	6,9	7,1	-	7,3	7,1	7,1
	Distile su	-	-	-	-	-	-
	Etanol	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Metanol	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	6,8	7,2	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-
	Etanol	6,9	-	-	7,4	7	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Metanol	7,6	7,2	7,5	7,7	-	-
	Aseton	6,9	7,5	7	7,8	7,6	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-
	Etanol	-	-	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 26231	Metanol	-	-	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-	-	-
	Distile su	-	-	-	-	-	-
	Etanol	-	-	-	-	-	-



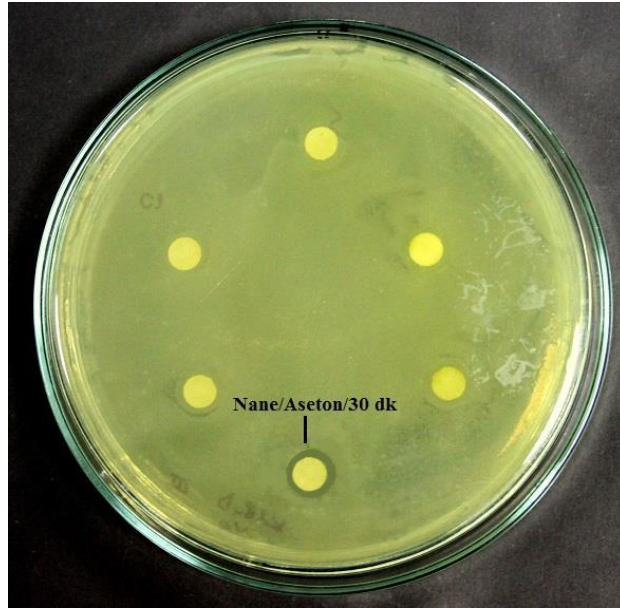
Fotoğraf 4.22. Nane baharatının etanol ile 60 dakikada yapılan ekstraktının *Proteus mirabilis* 235 üzerine etkisi



Fotoğraf 4.23. Nane baharatının etanol ile 10 dakikada yapılan ekstraktının *Escherichia coli* ATCC 25922 üzerine etkisi



Fotoğraf 4.24. Nane baharatının aseton ile 60 dakikada yapılan ekstraktının *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 üzerine etkisi



Fotoğraf 4.25. Nane baharatının aseton ile 30 dakikada yapılan ekstraktının *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 üzerine etkisi

4.5.4 Sonikasyon yöntemi uygulanan nane ekstraktlarının MİK sonuçları

Nane bitkisinden elde edilmiş olan ekstraktların DDM sonuçlarına göre Bölüm 3.2.4’de belirtildiği şekilde yapılan MİK çalışmalarında etanol ile 10 ve 60, aseton ile 30 ve 60 dakikada yapılan ekstraktlar sırasıyla 6,25 µl/ml, 3,12 µl/ml, 6,25 µl/ml, 6,25 µl/ml konsantrasyonlarda *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus mirabilis* 235, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 25923’ün bakteriyel gelişimini inhibe etmiştir (Çizelge 4.18.).

Çizelge 4.18. Nananın sonikasyon yöntemiyle hazırlanmış ekstraktlarının MİK değerleri

Test mikroorganizması	Ekstraktın besiyerine oranı						
	%50	%25	%12,5	%6,25	%3,12	%1,56	%0,78
<i>Proteus mirabilis</i> 235	-	-	-	-	-	+	+
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	-	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	-	+	+	+

(+): Üreme var (-): Üreme yok

4.6 Antibiyotik Duyarlılığı Çalışması

Çalışmada *Proteus mirabilis* 235, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 test bakterilerinin Seftriakson (30 mg), Kloramfenikol (30 mg), Rifampin (5 mg), Streptomisin (10 mg) ve Tetrasiklin (30 mg) antibiyotiklere karşı olan duyarlılıkları Bölüm 3.2.3’te verildiği gibi yapılmıştır.

Proteus mirabilis 235 suşuna karşı Seftriakson 31,22 mm, Kloramfenikol 20,19 mm, Rifampin 9,92 mm, Streptomisin 21,62 mm, Tetrasiklin 7,14 mm inhibisyon zonu oluşumu tespit edilmiştir (Çizelge 4.19.).

Escherichia coli ATCC 25922 suşuna karşı Seftriakson 31,83 mm, Kloramfenikol 28,66 mm, Rifampin 15,66 mm, Streptomisin 23,75 mm, Tetrasiklin 13,87 mm inhibisyon zonu meydana getirdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.19.).

Staphylococcus aureus ATCC 25923 suşuna karşı Seftriakson 46,61 mm, Kloramfenikol 24,25 mm, Rifampin 11,84 mm, Streptomisin 22,96 mm, Tetrasiklin 15,61 mm inhibisyon zonu oluşumu belirlenmiştir (Çizelge 4.19.).

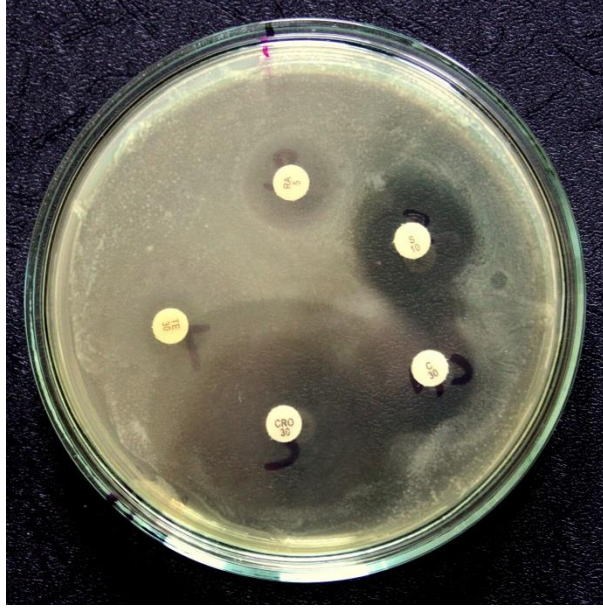
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 suşuna karşı Seftriakson 22,30 mm, Streptomisin 20,29 mm inhibisyon zonu oluştuğu gözlenirken Kloramfenikol, Rifampin ve Tetrasikline karşı oluşmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.19.).

Çizelge 4.19. Antibiyotiklerin antibiyogram kontrol deney inhibisyon zon çapları

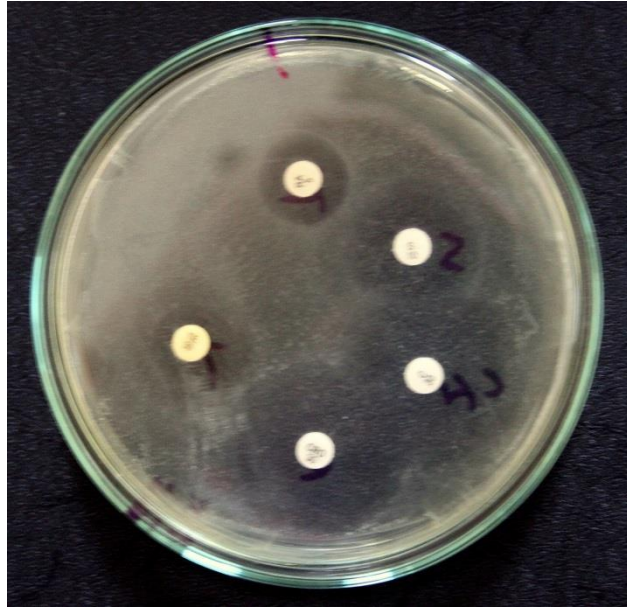
Mikroorganizmalar	Antibiyotiklere ait İnhibisyon zon çapı (mm)				
	CRO30	C30	RA5	S10	TE30
<i>Proteus mirabilis</i> 235	31,22	20,19	9,92	21,62	7,14
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	31,83	28,66	15,66	23,75	13,87
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	46,61	24,25	11,84	22,96	15,61
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	22,30	-	-	20,29	-

CRO30: Seftriakson 30 mg, C30: Kloramfenikol 30 mg, RA5: Rifampin 5 mg, S10: Streptomisin 10 mg, TE30: Tetrasiklin 30 mg, (-): İnhibisyon zonu yok.

Yapılan tez çalışmasında kullanılan çözücülerin antimikrobiyal aktivite göstermedikleri tespit edilmiştir.



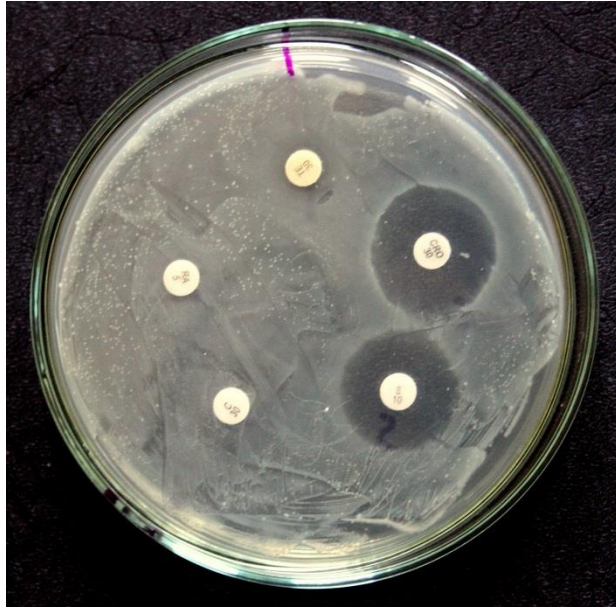
Fotoğraf 4.26. *Proteus mirabilis* 235 suşuna karşı test antibiyotik disklerin etkisi



Fotoğraf 4.27. *Escherichia coli* ATCC 25922 suşuna karşı test antibiyotik disklerin etkisi



Fotoğraf 4.28. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşuna karşı test antibiyotik disklerin etkisi



Fotoğraf 4.29. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 suşuna karşı test antibiyotik disklerin etkisi

BÖLÜM V

TARTIŞMA ve SONUÇ

Farklı metotlarla elde edilen verilerden toplanan bilgiler ışığında ekstraksiyon metodu, kültür besiyeri, inokülüm miktarı, test metodu gibi değişkenlerin antimikrobiyal aktiviteyi etkilediği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (Bendahou vd., 2008; Karabegovic vd., 2011; Kim vd., 2010; Othman vd., 2011; Stanisavljevic vd., 2009). Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) DDM'yi klinik laboratuvarları için temel teknik olarak kabul etmiştir ve antimikrobiyal aktivite genellikle bu metotla tespit edilmektedir (Tajkarimi vd., 2010).

Gerçekleştirilen tez çalışmasında DDM ile antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenen baharatların minimal inhibisyon konsantrasyonları belirlenmiştir. Tez çalışmasında kullanılan baharatların antimikrobiyal aktiviteye sahip ekstraktları maserasyon ve sonikasyon metotları ile elde edilmiştir, bu iki metot ile elde edilen ekstraktların farklı oranlarda antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 5.1. Antimikrobiyal aktivitesi tespit edilmiş olan baharatlar

		Maserasyon			Sonikasyon		
		Ekstrakt	DDM (mm)	MİK (%kons.)	Ekstrakt	DDM (mm)	MİK (%kons.)
<i>Proteus mirabilis</i> 235	Kekik	aseton/24 h	7,4	3,12		-	
	Kimyon	aseton/3 h	7	25	etanol/30 dk	7,9	25
	K.biber	etanol/3 h	7,3	25		-	
	Kır.biber	etanol/24 h	6,7	25	aseton/10 dk	6,6	12,5
	Nane	etanol/5h	12,4	6,25	etanol/60 dk	6,5	3,12
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Kekik	etanol/12 h	6,9	6,25		-	
	Kimyon	etanol/24 h	6,5	25	etanol/30 dk	7,7	25
	K.biber		-		etanol/30 dk	6,5	25
	Kır.biber		-		etanol/10 dk	8,8	6,25
	Nane		-		etanol/10 dk	7,9	6,25
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Kekik	metanol/12 h	8,5	6,25		-	
	Kimyon	aseton/6 h	6,6	12,5	metanol/60 dk	8,4	12,5
	K.biber		-		metanol/60 dk	6,5	50
	Kır.biber		-			-	
	Nane	metanol/4 h	8,7	12,5	aseton/60 dk	7,2	6,25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Kekik	etanol/24 h	7,8	3,12		-	
	Kimyon		-			-	
	K.biber		-			-	
	Kır.biber		-		aseton/15 dk	7,2	12,5
	Nane		-		aseton/30 dk	7,8	6,25
<i>Candida albicans</i> ATCC 26231	Kekik		-			-	
	Kimyon		-			-	
	K.biber		-			-	
	Kır.biber		-			-	
	Nane		-			-	

Gerçekleştirilen tez çalışmasında iki farklı yöntem, dört çözücü ve farklı ekstraksiyon sürelerinde elde edilen ekstraktların antimikrobiyal aktiviteleri DDM ve MİK belirlenmesi yöntemleri ile tespit edilmiştir. Deneylerden elde edilen sonuçlarda en yüksek antimikrobiyal aktivitenin bulunduğu düşünülen ekstraktlar Çizelge 5.1’de gösterilmiştir.

Tez çalışmasında baharatların antimikrobiyal etkilerine karşı en hassas olan mikroorganizmanın *Proteus mirabilis* 235 olduğu yukarıdaki, çizelgeden anlaşılmaktadır. Çizelge 5.1’ de verilmiş olan sonuçlardan anlaşıldığı üzere maserasyon yöntemi ile elde edilen ekstraktlarda *Proteus mirabilis* suşu ile yapılan DDM ile elde edilen sonuçlarda etki derecesine göre nane>kekik>karabiber>kimyon> kırmızıbiber olarak sıralanmıştır. MİK sonuçlarına bakıldığında ise kekik bitkisinden aseton ile 24

saat ekstraksiyon yapılarak elde edilen ekstraktın 3,12 µl/ml konsantrasyonda en yüksek inhibisyon etkisini gösterdiği görülmektedir. *Proteus mirabilis* 235 suşu üzerinde denenmiş olan sonike ekstraktlarda ise kimyon>kırmızıbiber>nane sıralamasıyla antimikrobiyal aktivite bulunmuş buna karşın karabiber ve kekik ile inhibisyon zonu tespit edilememiştir. Sonikasyon yöntemi ile yapılan çalışmalarda ise nane bitkisinden etanol ile 60 dakika boyunca yapılan ekstrakt 3,12 µl/ml derişim ile en yüksek inhibisyon konsantrasyonu etkisini göstermiştir. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde maserasyon yöntemi ile yapılan ekstraksiyonlarda, DDM ile denemiş olan tüm baharatların aktivite gösterdiği buna karşılık minimal inhibisyon konsantrasyonlarının sadece kekik ve nane ekstraktlarında düşük olduğu, sonikasyon yöntemi ile yapılan ekstraktlarda ise sadece nane bitkisi ile yapılan ekstraktın düşük konsantrasyonda etkin olduğu bulunmuştur. Diğer bir deyişle *Proteus mirabilis* 235 suşu üzerinde kekik ve nane baharatları yüksek düzeyde antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Yapılan tez çalışmasından elde edilen sonuçlara göre maserasyon yöntemi ile yapılan ekstraksiyonların *Escherichia coli* ATCC 25922 suşu üzerinde uygulanan DDM ile elde edilen inhibisyon zonlarında sadece kekik ve kimyon baharatında antimikrobiyal etki saptanırken, karabiber, kırmızıbiber ve nane baharatlarında antimikrobiyal aktivite tespit edilmemiştir. MİK sonuçlarına göre ise kekik bitkisinin etanol ile 12 saate yapılan ekstraktının 6,25 µl/ml konsantrasyonda inhibisyon etkisine sahip olduğu görülmektedir. Sonikasyon yöntemi kullanılarak yapılan ekstraksiyonların *Escherichia coli* ATCC 25922 suşu üzerindeki DDM sonuçlarına bakıldığında etki derecesine göre kırmızıbiber>nane>kimyon>karabiber olarak sıralanırken sonike edilen kekik ekstraktlarında antimikrobiyal aktivite tespit edilmemiştir. Sonike edilen ekstraktların *Escherichia coli* ATCC 25922 üzerindeki MİK sonuçlarına bakıldığında kırmızıbiber ve nanenin etanol ile yapılan 10 dakikalık ekstraktları 6,25 µl/ml konsantrasyonda inhibisyon etkilerine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Maserasyon yöntemi uygulanan ekstraksiyonların *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşu üzerinde uygulanan DDM sonuçlarına bakıldığında, etki derecesine göre nane>kekik>kimyon şeklinde sıralanırken kırmızıbiber ve karabiberde antimikrobiyal aktivite saptanamamıştır. Masere edilen bu baharatların MİK sonuçlarına göre kekik baharatının metanol ile 12 saatte yapılan ekstraksiyonu 6,25 µl/ml konsantrasyonda en yüksek inhibisyon etkisine sahip olduğu tespit edilmiştir. Sonikasyon yöntemi

uygulanarak yapılan ekstraksiyonların sonuçları kimyon>nane>karabiber şeklinde bir etki derecesi oluştuğunu göstermektedir. Bu baharatların MİK sonuçlarını ise *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşuna karşı nane baharatının aseton ile 60 dakikada yapılan ekstraktının 6,25 µl/ml konsantrasyonda inhibisyon etkisine sahip olduğunu göstermiştir.

Gerçekleştirilen tez çalışmasında maserasyon yöntemi uygulanan ekstraktların DDM ile *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 suşu üzerinde kullanılan baharatlar arasında sadece kekik baharatının antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Kekik'in MİK sonucuna ise minimal inhibisyon konsantrasyonunun 3,12 µl/ml olduğu görülmektedir. Sonike edilen ekstraktlardan sadece nane ve kırmızıbiberin *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 üzerinde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. MİK sonuçları ise nane baharatının aseton ile 30 dakikada yapılan ekstraksiyonunun 6,25 µl/ml konsantrasyonda inhibisyon etkisine sahip olduğunu göstermektedir.

Tabloda görüldüğü üzere yapılan tez çalışmasında kullanılan baharatlardan maserasyon ve sonikasyon yöntemleriyle elde edilen ekstraktların *Candida albicans* ATCC 26231 suşu üzerinde uygulanan DDM sonucunda, bu suş üzerinde inhibisyon zonu oluşturmadıkları tespit edilmiştir. Başka bir ifadeyle kekik, kimyon, karabiber, kırmızıbiber ve nane baharatlarının *Candida albicans* maya türüne karşı etkili olmadığı belirlenmiştir.

Toroğlu 2011 yılında yaptığı çalışmada karanfil, kırmızıbiber, tarçın, sinnameki, zencefil, nane, kekik, havlıcan, kimyon, karabiber, ıhlamur ve kişniş bitkilerini metanol, aseton ve etil asetat çözücülerıyla sokslet metodunu uygulayarak ekstraktlar elde etmiş ve bu ekstraktların, *Klebsiella pneumonia*, *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloaca*, *Corynebacterium xerosis*, *Streptococcus faecalis*, *Kluyveromyces marxianus* ve *Rhodotorula rubra* türlerine karşı antimikrobiyal aktivitelerini incelemiştir. Yapılan çalışma sonucunda karanfilden metanol ile elde ettiği ekstraktın *Kluyveromyces marxianus* mantar türüne karşı yüksek antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu tespit etmiştir (Keskin ve Toroğlu, 2011).

Arora ve Kaur'un çalışmasında ise sarımsak, zencefil, karanfil, karabiber ve yeşil biberin antimikrobiyal aktiviteleri çeşitli mayalar ve bakteriler üzerinde denenmiş ve karanfil'in mayaların gelişimini önleyici etkiye sahip olduğu ancak diğer baharatların etkisiz olduğu tespit etmiştir (Arora ve Kaur, 1999).

E. coli, *S. aureus* üzerinde yapılan çalışmalarda adaçayı, anzer çayı, biberiye gibi çeşitli bitkilerin ekstraktları çeşitli çözücülerde elde edilmiş ve antimikrobiyal aktiviteleri tespit edilmiştir. *Pseudomonas* sp.'nin özellikle de *P. auroginosa*'nın bitkilerden elde edilen ekstraktların inhibitör aktivitelerine karşı hassas olduğu bulunmuştur (Tajkarimi vd., 2010).

Tez çalışmasında kullanılan baharatların mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri ile ilgili olarak yapılan literatür araştırmalarıyla benzer sonuçlar elde edilmiş ve Türkiye'de yaygın olarak kullanılan kekik, kimyon, nane, karabiber ve kırmızı biber baharatlarının gıdalarda bulunabilecek mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etkileri nedeniyle gelişmeyi durdurarak baskı oluşturabileceği tespit edilmiştir. Ancak antimikrobiyal etki gösteren ekstraktların içerikleri belirlenmeli ve etki derecesi optimize edilmelidir.

KAYNAKLAR

Abascal, K., and Yarnell, E., “Herbs and Drug Resistance. Potential of Botanical in Drug-Resistant Microbes”, *Alternative & Complementary Therapies* 1, 237-241, 2002.

Alanyalı, F.S., Sarıözlü, N.Y., Güven, A., Kıvanç, M., Yılmaz, M., Demirel, R., Güven, K. ve Mutlu, M.B., Gıda Muhafaza, *Anadolu Üniversitesi Web-Ofset Tesisleri*, Eskişehir, 2009.

Altuner, M.E., Bazı karayosunu türlerinin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi, Doktora tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, s. 26-44, 2008.

Amrita, V., Sonal, D. and Shalini, R., “Antibacterial effect of herbs and spices extract on *Escherichia coli*”, *Electronic Journal of Biology* 5(2), 40-44, 2009.

Anjani, K., “Identification of hybrids in black pepper (*Piper nigrum* L.) using male parent-specific RAPD markers”, *Current Science* 88, 216-217, 2005.

Arora, D.S. and Kaur, J., “Antimicrobial activity of spices”, *International Journal of Antimicrobial Agents* 12, 257-262, 1999.

Ayana, B. ve Turhan, K.N., “Gıda ambalajlamasında antimikrobiyal madde içeren yenilebilir filmler/kaplamalar ve uygulamaları”, *GIDA* 35(2), 151-158, 2010.

Aybak, H.Ç., Biber yetiştiriciliği, *Hasat Yayıncılık*, İstanbul, 2002.

Aydın, M., Candida cinsi mantarlar, *Güneş Yayınevi*, Ankara, 2004.

Azmir, J., Zaidul, I.S.M., Rahman, M.M., Sharif, K.M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M.H.A., Ghafoor, K., Norulaini, N.A.N. and Omar, A.K.M., “Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials”, *Journal of Food Engineering* 117, 426-436, 2013.

Baytop, T., Therapy with medicinal plants in Turkey, *Nobel Tıp Kitapevleri*, İstanbul, 1999.

Bendahou, M., Muselli, A., Grignon-Dubois, M., Benyoucef, M., Desjobert, J. M., Bernardini, A.F. and Costa, J., “Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. Essential oil and extract obtained by microwave extraction: Comparison with hydrodistillation”, **Food Chemistry** 106, 132-139, 2008.

Bupesh, G., Amutha, C., Nandagopal, S., Ganeshkumar, A., Sureshkumar, P. and Muralli, K.S., “Antibacterial activity of *Mentha piperia* L. (peppermint) from leaf extracts – a medicinal plant”, **Acta Agriculturae Slovenica** 89(1), 73-79, 2007.

Ceylan, E., Özbek, H. ve Ağaoğlu, Z., “*Cuminum cyminum* L. (Kimyon) meyvesi uçucu yağının median lathal doz (LD₅₀) düzeyi ve sağlıklı ve diyabetli farelerde hipoglisemik etkisinin araştırılması”, **Van Tıp Dergisi** 10(2), 29-35, 2003.

Dağcı, E.K., İzmirli, M. ve Dığrak, M., “Kahramanmaraş ilinde yetişen bazı ağaç türlerinin antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılması” **KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi** 5(1), 38-46, 2002.

Dorantes, L., Colmenero, R., Hernandez, H., Mota, L., Jaramillo, M.E., Fernandez, E. and Solano, C., “Inhibition of growth of some foodborne pathogenic bacteria by *Capsicum annum* extracts”, **International Journal of Food Microbiology** 57, 125-128, 2000.

Dua, A., Gaurav, G., Balkar, S. and Mahajan, R., “Antimicrobial properties of methanolic extract of cumin (*Cuminum cyminum*) seeds”, **International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy** 4(1), 104-107, 2013.

Gupta, A., Naraniwal, M. and Kothari, V., “Modern extraction methods for preparation of bioactive plant extracts”, **International Academy of Science, Engineering and Technology** 1, 8-26, 2012.

Gürgün, V. ve Halkman, K., “Mikrobiyolojide sayım yöntemleri”, **Gıda Teknolojisi Derneği** 7, 1-6, 1990.

Handa, S.S., Khanuja, S.P.S., Longo, G. and Rakesh, D.D., Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants, **International Centre for Science and High Technology**, Trieste, 2008.

İpek, A., Kaya, M.D. ve Gürbüz, B., “Çemen (*Trigonella foenum-graecum* L.) ve kimyon (*Cuminum cyminum* L.) tohumlarının çimlenmesi üzerine tohum yaşı ve GA₃ uygulamalarının etkileri”, **Tarım Bilimleri Dergisi** 14(1), 57-61, 2008.

Joe, M.M., Jayachitra, J. and Vijayapriya, M., “Antimicrobial activity of some common spices against certain human pathogenes”, **Journal of Medicinal Plants Research** 3(11), 1134-1136, 2009.

Karabegovic, I., Nikolova, M., Velickovic, D., Stojicevic, S., Veljkovic, V. and Lazic, M., “Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of methanolic extracts of the *Artemisia* sp. recovered by different extraction techniques”, **Chinese Journal of Chemical Engineering** 19(3), 504-511, 2011.

Karsha, P.V. and Lakshmi, O.B., “Antimicrobial activity of black pepper (*Piper nigrum* Linn.) with special reference to its mode of action on bacteria”, **Indian Journal of Natural Products and Resources** 1(2), 213-215, 2010.

Kaufmann, B. and Christen, P., “Recent extraction techniques for natural products: Microwave-asisted extraction and Pressurized solvent extraction”, **Phytochemical Analysis**, 13, 105-113, 2002.

Keskin, D. ve Toroğlu, S., “Studies on antimicrobial activities of solvent extracts of different spices”, **Journal of Environmental Biology** 32, 251-256, 2011.

Kim, T.J., Silva, J.L., Kim, M.K. and Jung, Y.S., “Enhanced antioxidant capacity and antimicrobial activity of tannic acid by thermal processing”, **Food Chemistry** 118, 740-746, 2010.

Kurtoğlu, M.G., Bozkurt, H., Güdücüoğlu, H., Bayram, Y. ve Berktaş, M., “Klinik örneklerden izole edilen *Proteus mirabilis* suşlarının antimikrobiyal ajanlara duyarlılıkları”, **Genel Tıp Dergisi** 18(1), 23-26, 2008.

Luque de Castro, M.D. and Priego-Capote, F., “Soxhlet extraction: Past and present panacea”, *Journal of Chromatography A* 1217, 2383-2389, 2012.

Madigan T.M. and Martinko, M.J., Mikroorganizmaların biyolojisi, 11th ed, Cumhur Çökmüş, *Palme Yayıncılık*, Ankara, 2010.

Mamidipally, P.K., and Liu, S.X., “First approach on rice bran oil extraction using limonene”, *European Journal of Lipid Science and Technology* 106, 122–125, 2004.

Nelson, S.C. and Cannon-Eger, K.T., “Farm and Forestry Production and Marketing Profile for Black pepper”, *Permanent Agriculture Resources*, Hawai, 2011.

Onbaşılı, D., Altuner, E.M. ve Çelik, G.Y., “*Minium marginatum* özütlerinin antimikrobiyal aktivitesi”, *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi* 11(2), 205-208, 2011.

Othman, M., Loh, H.S., Wiart, C., Khoo, T.J., Lim, K.H. and Ting, K.N., “Optimal methods for evaluating antimicrobial activities from plant extracts”, *Journal of Microbiological Methods* 84, 161-166, 2011.

Özcan, M. ve Chalchat, J.C., “Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. growing wild in Turkey”, *Bulgarian Journal of Plant Physiology* 30(3-4), 68-73, 2004.

Özgüven, M. ve Kırıcı, S., “Farklı ekolojilerde nane (*Mentha*) türlerinin verim ile uçucu yağ oran ve bileşenlerinin araştırılması”, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 23, 465-472, 1999.

Pramila, D.M., Xavier, R., Marimuthu, K., Kathiresan, S., Khoo, M.L., Senthilkumar, M., Sathya, K. and Sreeramanan, S., “Phytochemical analysis and antimicrobial potential of methanolic leaf extract of peppermint (*Mentha piperita*: Lamiaceae)”, *Journal of Medicinal Plants Research* 6(2), 331-335, 2012.

Qaralleh, H.N., Abboud, M.M., Khleifat, K.M., Tarawneh, K.A. and Althunibat, O.Y., “Antibacterial activity in vitro of *Thymus capitatus* from Jordan”, *Pakistan Journal of Pharmaceutical Science* 22, 247-251, 2009.

Ramashala, T., “Peppermint production”, ***Department of Agriculture, Forestry and Fisheries***, Pretoria, 2012b.

Ramashala, T., “Thyme production”, ***Department of Agriculture, Forestry and Fisheries***, Pretoria, 2012a.

Rey, C., “Selection of thyme for extreme areas (of Switzerland)”, ***Acta Horticultural*** 306, 66-70, 1992.

Roldan-Gutierrez, J.M., Ruiz-Jimenez, J. and Luque de Castro, M.D., “Ultrasound-assisted dynamic extraction of valuable compounds from aromatic plants and flowers as compared with steam distillation and superheated liquid extraction”, ***Talanta*** 75, 1369-1375, 2008.

Sasidharan, S., Latha, L.Y., Ping, K.Y. and Lachumy, S.J., “Screening methods in the study of fungicidal property of medicinal plants”, ***Fungicides for Plant and Animal Diseases*** 5, 107-118, 2012.

Selim, S., “Antimicrobial activity of essential oils against vancomycin-resistant enterococci (vre) and *Escherichia coli* O157:H7 in feta soft cheese and minced beef meat”, ***Brazilian Journal of Microbiology*** 42, 187-196, 2011.

Sethi, S., Dutta, A., Gupta, B.L. and Gupta, S., “Antimicrobial activity of spices against isolated food borne pathogens”, ***International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*** 5, 260-262, 2013.

Shabnum, S. and Wagay, M.G., “Essential oil composition of *Thymus vulgaris* L. and their uses”, ***Journal of Research & Development*** 11, 83-94, 2011.

Souza, E.L., Stamford, T.L.M., Lima, E.O., Trajano, V.N. and Filho, J.M.B., “Antimicrobial effectiveness of spices: an approach for use in food conservation systems”, ***Brazilian Archives of Biology and Technology*** 48, 549-558, 2005.

Stanisavljevic, I., Stojicevic, S., Veljkovic, V. and Lazic, M., “Antioxidant and antimicrobial activities of Echinacea (*Echinacea purpurea* L.) extracts obtained by

classical and ultrasound extraction”, *Chinese Journal of Chemical Engineering* 17(3), 478-483, 2009.

Şahin, E., Bitkisel kaynaklı antimikrobiyallerin gıda kaynaklı bazı patojen mikroorganizmalar üzerinde etkileri, Yüksek Lisans Tezi, *İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul, s. 4-5, 2006.

Şen, A. ve Halkman, A.K., “Çiğ sütte *Pseudomonas aeruginosa* sayılması için yöntem modifikasyonları üzerine çalışmalar”, *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi* 4(2), 2-13, 2006.

Tajkarimi, M.M., Ibrahim, S.A. and Cliver, D.O., “Antimicrobial herb and spice compounds in food”, *Food Control* 21, 1199-1218, 2010.

Topak, H., Erbil, N. ve Dığrak, M., “Doğukakdeniz ve güneydoğu Anadolu bölgesinde yetiştirilen biberlerin (*Capsicum annum* L.) antimikrobiyal aktivitesinin araştırılması”, *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik bilimleri Dergisi* 20(2), 257-264, 2008.

Toroğlu, S. ve Çenet, M., “Tedavi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin kullanım alanları ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için kullanılan yöntemler”, *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi*, 9(2), 12-19, 2006.

Trivedi, M.N., Khemani, A., Vachhani, U.D., Shah, C.P. and Santani, D.D., “Pharmacognostic, phytochemical analysis and antimicrobial activity of two piper species”, *International Journal of Comprehensive Pharmacy* 7, 1-4, 2011.

Uğuz, M.T., “Farklı çözücülerdeki bitki ekstraktlarının antifungal özellikleri”, *Bingöl Üniv. Fen. Bil. Dergisi* 1(2), 1-3, 2011.

Varlet, N., “Trends of the medicinal and aromatic plant sector in France”, *Acta Horticultural* 306, 169-175, 1992.

Wang, L. and Weller, C.L., “Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants”, *Trends in Food Science* 17, 300-312, 2006.

ÖZ GEÇMİŞ

Emir Karankı 22.10.1987 tarihinde Bursa'da doğdu. İlk, orta ve lise öğretimini Yalova'da tamamladı. 2006 yılında girdiği Niğde Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nden Haziran 2010'da mezun oldu. Aynı yıl Niğde Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nde yüksek lisans eğitimine başladı. 2011 yılında Erasmus öğrenci değişimi programından faydalanarak İtalya'nın Benevento şehrinde bulunan Sannio Üniversitesi'nde 5 ay eğitim aldı. 2013 yılında Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimini tamamladı. Bilim dalındaki ilgi alanı mikrobiyolojidir.