

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**BAZI BİTKİ EKSTRAKTLARINDAN DOĞAL
ANTİMİKROBİYAL MADDE ÜRETİMİ**

**Hazırlayan
Walid BOUHLEL**

**Danışman
Prof. Dr. Mahmut DOĞAN
Öğr. Gör. Dr. Ahmet Evren YETİMAN**

Yüksek Lisans Tezi

**Eylül 2022
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**BAZI BİTKİ EKSTRAKTLARINDAN DOĞAL
ANTİMİKROBİYAL MADDE ÜRETİMİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

**Hazırlayan
Walid BOUHLEL**

**Danışman
Prof. Dr. Mahmut DOĞAN
Öğr. Gör. Dr. Ahmet Evren YETİMAN**

**Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Birimi tarafından FYL-2021-10835 kodlu proje ile
desteklenmiştir.**

**Eylül 2022
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Walid BOUHLEL

YÖNERGEYE UYGUNLUK

“Bazı Bitki Ekstraktlarından Doğal Antimikrobiyal Madde Üretimi” adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan

Walid BOUHLEL

Danışman

Prof. Dr. Mahmut DOĞAN

Eş Danışman

Öğr. Gör. Dr. Ahmet Evren YETİMAN

Gıda Mühendisliği ABD Başkanı

Prof. Dr. Hasan YALÇIN

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmam süresince deneyim ve bilgileri ile bana yol gösteren, hiçbir konuda desteğini esirgemeyen ve danışmanlığında çalışmaktan mutlu olduğum değerli hocam Prof. Dr. Mahmut DOĞAN'a,

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca hayatıma kattığı değerlerle ufkumu açan, bana yol göstericilik yapan ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen saygıdeğer hocam Öğr. Gör. Dr. Ahmet Evren YETİMAN'a ve lisans ve yüksek lisans eğitimim süresince üzerimde emeği olan, her türlü olanağı sağlayan ve hiçbir konuda yardımını esirgemeyen Erciyes Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üyelerine ve çalışanlarına,

Laboratuvar çalışmamın başlangıcından itibaren yardımlarını esirgemeyen çalışma arkadaşım Metin Oktay BEYAZ'a,

Bu tez çalışmasına maddi destek veren ve FYL-2021-10835 projemizi destekleyen BAP birimine ve Türkiye bursları Yüksek Lisans Burs Programı kapsamında beni maddi olarak destekleyen Yurtdışı Türkler ve Akraba Topluluklar Başkanlığı'na,

Son olarak, eğitim hayatım boyunca beni hep destekleyen, gösterdikleri sonsuz sabır, sevgi, anlayış ve güvenleri için her an yanımda olan annem ve babama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Walid BOUHLEL

Eylül 2022, KAYSERİ

BAZI BİTKİ EKSTRAKTLARINDAN DOĞAL ANTİMİKROBİYAL MADDE ÜRETİMİ

Walid BOUHLEL

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü

Yüksek Lisans Tezi, Eylül 2022

Danışman: Prof. Dr. Mahmut DOĞAN

Eş Danışman: Öğr. Gör. Dr. Ahmet Evren YETİMAN

ÖZET

Bu çalışmada, Tarçın (*Cinnamomum verum*), İzmir Kekiği (*Origanum onites* L.) ve Kara Kekik (*Origanum vulgare* L.) bitkilerinden hidrodistilasyon yöntemiyle elde edilen hidrozoller (sırasıyla TH, İKH ve KKH olarak kısaltılan) ve Tarçın hidrozolün %3 malik asit (THM) ve %3 askorbik asitle (THC) katkılanmış karışımlarının belirli patojen mikroorganizmalar üzerindeki etkisi agar kuyu difüzyon metodu kullanarak incelenmiştir. Hidrozoller arasında bakteri, maya ve küflere karşı en yüksek mikrobiyosidal etkinlik, tarçın hidrozolünde gözlenmiştir. Hidrozollerin volatil kompozisyonu GC-MS kullanarak belirlenmiştir. İzmir kekiği hidrozolünün majör bileşeni olarak %84,15 oranla karvakrol, Kara kekik hidrozolün majör bileşeni olarak %99,67 oranla karvakrol olarak tespit edilirken, tarçın Hidrozolünün majör bileşeninin ise, %76,67 oranla sinnamaldehit olduğu tespit edilmiştir. Hidrozollerin antioksidan kapasitesi DPPH radikal süpürme yöntemiyle belirlenmiştir. Hidrozollerin antioksidatif kapasiteleri, İKH, KKH ve TH için sırasıyla %73,21, %72,95 ve %22,77 olarak tespit edilmiştir. THM ve THC'nin DPPH radikal süpürme aktiviteleri ise %30,54 ve %94,63 olarak belirlenmiştir. Hidrozollerin TS EN ISO 10993-5 standartlarına göre L-929 hücre hattında yapılan MTT sitotoksikite test sonuçlarına göre örneklerin hiçbirinde herhangi bir sitotoksik etki tespit edilmemiştir. Deneysel çalışmalar da geniş spektrumlu antimikrobiyal etkili olarak tespit edilen Tarçın hidrozolü ve THM ve THC karışımlarının model gıda ortamında (kaşar peyniri) koruyucu etkileri incelenmiştir. Ayrıca, 5 farklı test mikroorganizması (*Escherichia coli* O157:h7 ATCC 43895, *Salmonella enterica* sv. *Typhimurium* ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATTC 25923, *Candida albicans*

ATCC 10231 ve *Aspergillus flavus* ATCC 9643) ile kontamine edilen model gıda numuneleri, 15, 30 ve 45 dakika boyunca hidrozol karışımlarına daldırarak yıkanmıştır. Kontrol numunesi olarak su kullanılmıştır. Analiz sonucunda, tüm test mikroorganizmaları için hidrozol karışımlarının kontrole göre kaşar peynirinin mikrobiyal yükünü daha fazla düşürdüğü gözlemlenmiştir. Kontrol numunesi, kaşar peynirinin *E. coli* yükünü 1.3 log olarak düşürürken TH, THC ve THM kaşar peynirinin *E. coli* yükünü sırasıyla 2.56, 3.04 ve 3.3 log olarak azaltmıştır. *C. Albicans* için mikrobiyal yük kontrol örneğinde 0.28 log olarak azalırken, TH, THC ve THM hidrozollerinde sırasıyla 1.75, 1.74 ve 1.98 log azalmıştır. *A. flavus* için ise kontrol 0.34 log'luk bir azalmaya sebep olurken TH, THC ve THM hidrozollerinin kaşar peynirinin *A. flavus* toplam yükünü sırasıyla 1.89, 1.73 ve 2 log azalttığı anlaşılmıştır. Uygulama sürelerinin, kaşar peynirinin mikrobiyal yükü üzerinde genel olarak önemli bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$). Diğer bir taraftan, 4 haftalık depolama süresince partikül boyutu ve zeta potansiyeli analiz sonuçlarına göre hidrozol karışımlarının stabilitelerini koruduğu anlaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Hidrozol, Antimikrobiyal madde, *Cinnamomum verum*, *Origanum onites* L., *Origanum vulgare* L..

PRODUCTION OF NATURAL ANTIMICROBIAL SUBSTANCES FROM SOME PLANT EXTRACTS

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences

Master Thesis, September 2022

Advisor: Prof. Dr. Mahmut DOGAN

Co Advisor: Lect. Dr. Ahmet Evren YETIMAN

ABSTRACT

In this study, the antimicrobial effects of the hydrosols obtained from Cinnamon (*Cinnamomum Verum*), Izmir Thyme (*Origanum onites* L.), and Black Thyme (*Origanum vulgare* L.) plants by hydrodistillation method (abbreviated as TH, ICH, and KKH, respectively) and Cinnamon hydrosol mixed with 3% malic acid (THM)) and 3% ascorbic acid (THC) were investigated by the agar well diffusion method on some human pathogenic microorganisms. Among the hydrosols, the highest antimicrobial activity against bacteria, yeast, and molds was observed in the Cinnamon hydrosol. The volatile composition of the hydrosols was determined using GC-MS. Carvacrol was determined as the major component both of Izmir thyme hydrosol (84.15%), and black thyme hydrosol (99.67%). On the other hand, Cinnamaldehyde was detected as a major component of Cinnamon Hydrosol with 76.67% area. The antioxidant capacity of hydrosols was analyzed with the DPPH method. The highest DPPH radical scavenging activities were found at 73.21%, 72.95%, and 22.77% from the samples of ICH, KKH, and TH, respectively. The DPPH capacities of THM and THC were observed as 30.54% and 94.63%. According to the MTT test results of hydrosols performed on the L-929 cell line according to TS EN ISO 10993-5 standards, no toxic effects have been determined in the samples studied. According to antimicrobial activity test results, the effectiveness of TH, THM, and THC mixtures on a real food model environment (cheddar cheese) have also been tested. For this purpose, five different cheddar cheese samples were contaminated with five different test pathogens (*Escherichia coli* O157, *Salmonella enterica* sv. *Typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, and *Aspergillus flavus*). Later, the cheddar samples were washed with antimicrobial mixtures for 15, 30, and 45 minutes. Besides, water was used as a control. As a result of the test, it has been

observed that all antimicrobial mixtures for all test pathogens reduced the microbial load of cheddar cheese more than the control. The control sample decreased the microbial load of cheddar cheese by 1.3 logs for *E. coli*, while TH, THC, and THM mixtures reduced the microbial load of cheddar cheese by 2.56, 3.04, and 3.3 logs, respectively. TH, THC, and THM reduced the *C. albicans* load of cheddar cheese by 1.75, 1.74, and 1.98 logs, respectively, while the microbial load of *C. Albicans* was cut down by 0.28 logs for the control sample. For *A. flavus*, the control caused a 0.34 log reduction, while TH, THC, and THM decreased a load of cheddar cheese by 1.89, 1.73, and 2 logs, respectively. Application times did not appear to cause a definite decrease in the microbial load of cheddar cheeses. According to the results of particle size and Zeta potential analysis during 4 weeks of storage, antimicrobial mixtures were found to be stable.

Keywords: Hydrosol, Antimicrobial agent, *Cinnamomum verum*, *Origanum onites* L., *Origanum vulgare* L..

İÇİNDEKİLER

BAZI BİTKİ EKSTRAKTLARINDAN DOĞAL ANTİBAKTERİYEL MADDE ÜRETİMİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK.....	iii
KABUL VE ONAY	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ÖZET	vi
ABSTRACT.....	viii
İÇİNDEKİLER	x
KISALTMALAR	xiv
TABLolar LİSTESİ.....	xv
ŞEKİLLER LİSTESİ	xvi

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER VE LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1. PROBLEM DURUMU.....	1
1.2. ARAŞTIRMANIN AMACI	2
1.3. LİTERATÜR ÖZETİ.....	3
1.3.1. BİTKİLER.....	3
1.3.1.1. Kara Kekik (<i>Origanum Vulgare</i>)	3
1.3.1.1.1. Botanik Özellikler.....	3
1.3.1.1.2. Kara Kekiğin Esansiyel Yağ Özellikleri.....	4
1.3.1.2. İzmir Kekiği (<i>Origanum Onites</i>)	6
1.3.1.2.1. Botanik Özellikler.....	6
1.3.1.2.2. İzmir Kekiğin Esansiyel Yağ Özellikleri	7
1.3.1.3. Tarçın (<i>Cinnamomum Verum</i>)	11
1.3.1.3.1 Botanik Özellikler.....	11
1.3.1.3.2. Tarçın Esansiyel Yağının Antimikrobiyal Özellikleri	12

1.3.2. Su Ekstraksiyonu ve Hidrozoller	14
1.3.2.1. Distilasyon	14
1.3.2.2. Su Distilasyonu (Hydrodistillation)	15
1.3.2.3. Distilasyon Ürünleri ve Hidrozoller	16
1.3.2.3.1. Hidrozolun Tanımı	16
1.3.2.3.2. Hidrozollerin İçeriği	17
1.3.2.3.3. Hidrozol Antimikrobiyal Aktivitesi.....	17
1.3.3. Bu Çalışmada Hidrozoller ile Birlikte Kullanılacak Katkı Maddeleri ..	18
1.3.3.1. Askorbik Asit	18
1.3.3.2. Malik Asit.....	20
1.3.4. Test Mikroorganizmaları	21
1.3.4.1. <i>Escherichia coli</i> O157:H7 ve <i>Escherichia coli</i>	21
1.3.4.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	22
1.3.4.3. <i>Bacillus cereus</i>	22
1.3.4.4. <i>Salmonella enterica</i> sv. <i>Typhimurium</i>	23
1.3.4.5. <i>Listeria monocytogenes</i>	23
1.3.4.6. <i>Proteus mirabilis</i> ve <i>Proteus vulgaris</i> :	24
1.3.4.7. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	25
1.3.4.8. <i>Yersinia enterocolitica</i>	25
1.3.4.9. <i>Candida albicans</i> :.....	26
1.3.4.10. <i>Aspergillus flavus</i> :.....	26

2. BÖLÜM

MATERYAL VE METOT

2.1. MATERYALLER	3
2.1.1. Bitkisel Materyaller	3
2.1.2. Kimyasallar.....	3
2.2. METOT VE ANALİZLER.....	30
2.2.1. Sulu ekstraksiyon	30
2.2.2. Hidrozol bileşenlerin analizi.....	30
2.2.3. Antioksidan kapasite testi: DPPH Analizi	30
2.2.4. Antimikrobiyal testler.....	31

2.2.4.1 Agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile hidrozollerin antimikrobiyal etkinliğinin test edilmesi	32
2.2.4.2 Minimum İnhibitör Konsantrasyonu Analizi.....	33
2.2.5. Zeta Potansiyeli ve Partikül boyutunun tespit edilmesi	34
2.2.6. Sitotoksiste testi	34
2.2.7. Model bir gıda ürünü olan kaşar peynirinde antimikrobiyal madde uygulaması	35
2.2.7.1. Kaşar örneklerinin hazırlaması ve mikroorganizmaların inokülasyon aşaması	35
2.2.7.2. Kaşar örneklerinin yıkanması	35
2.2.7.3. Mikrobiyal sayımlar ve inhibisyon düzeylerin belirlenmesi:.....	35
2.2.7.3.1. <i>Escheriachia coli</i> O157 sayımı	36
2.2.7.3.2. <i>Salmonella enterica</i> sv. <i>Typhimurium</i> sayımı	36
2.2.7.3.3. <i>Staphylococcus aureus</i> sayımı	36
2.2.7.3.4. <i>Candida albicans</i> sayımı	36
2.2.7.3.5. <i>Aspergillus flavus</i> sayımı	36
2.2.8. İstatistiksel analizler:	37

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. GC-MS UÇUCU YAĞ ANALİZİ SONUÇLARI	30
3.1.1. Tarçın Hidrozolün GC-MS Analiz Sonuçları.....	30
3.1.2. Kara kekik hidrozolü GC-MS Analiz Sonuçları.....	38
3.1.3 İzmir kekiği hidrozolü GC-MS Analiz Sonuçları	39
3.2. DPPH ANALİZ SONUÇLARI	40
3.3. HİDROZOLLERİN ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİĞİNİN TEST EDİLMESİ	42
3.3.1. Agar kuyucuk difüzyon Analizin sonuçları	42
3.3.1. Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MİK) analizin sonuçları	49
3.5. SİTOTOKSİSİTE ANALİZ SONUÇLARI.....	56
3.6. MODEL GIDADA GERÇEKLEŞTİRİLEN ANALİZE AİT BULGULAR.....	56
3.6.1. <i>Escherichia coli</i> O157:H7 sayımı	56
3.6.2. <i>Salmonella enterica</i> sv. <i>Typhimurium</i> sayımı	57
3.6.3. <i>Staphylococcus aureus</i> sayımı.....	58

3.6.4. <i>Candida albicans</i> sayımı.....	59
3.6.5. <i>Aspergillus flavus</i> sayımı.....	60
3.7. ZETA POTANSİYELİ VE PARÇACIK BOYUTU ANALİZ SONUÇLARI	61
3.7.1. Zeta Potansiyeli Analiz Sonuçları.....	61
3.7.2. Parçacık Boyutu Analiz Sonuçları.....	62

4. BÖLÜM

TARTIŞMA-SONUÇ VE ÖNERİLER

4.1. SONUÇLARIN TARTIŞILMASI	38
4.1.1. GC-MS Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	38
4.1.1.1. Tarçın Hidrozolü GC-MS Sonuçlarının Değerlendirilmesi	38
4.1.1.2. Kara Kekik Hidrozolün GC-MS Sonuçlarının Değerlendirilmesi ..	64
4.1.1.3. İzmir Kekiği Hidrozolü GC-MS Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi	64
4.1.2. DPPH Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi	65
4.1.3. Hidrozollerin Antimikrobiyal Etkinlik Analiz Sonuçların Değerlendirilmesi	66
4.2.3.1. Agar Kuyucuk Analiz sonuçların değerlendirilmesi	66
4.2.3.2. Minimum İnhibitör Konsantrasyonu Analiz sonuçların değerlendirilmesi.....	70
4.1.4. Model Gıda Analiz Sonuçların Değerlendirilmesi	71
4.1.4.1. <i>Escherichia coli</i> O157:H7 sayımı	71
4.1.4.2. <i>Salmonella enterica</i> sv. <i>Typhimurium</i> sayımı	72
4.1.4.3. <i>Staphylococcus aureus</i> sayımı.....	73
4.1.4.4. <i>Candida albicans</i> sayımı	73
4.1.4.5. <i>Aspergillus flavus</i> sayımı	74
4.1.4.5. Model Gıda Analizinin Genel Sonuçları	74
4.1.5. Zeta Potansiyeli ve Parçacık Boyutu Analiz Sonuçları	75
4.2. ÖNERİLER	76
KAYNAKÇA	78
EKLER.....	92
ÖZGEÇMİŞ.....	104

KISALTMALAR

L: Litre

mL: Mililitre

μ L: Mikrolitre

gr: Gram

mg: Miligram

μ g: Mikrogram

nm: Nanometre

dk: Dakika

v/v: Hacimce yüzde

%: Yüzde oranı

$^{\circ}$ C: Derece (Santigrat)

vb.: Ve benzeri

vd.: Ve diğerleri

kob. Koloni oluşturan birim

MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu

a_w : Su aktivitesi

pH: power Hydrogen

GRAS: Generally recognized as safe

TH: Tarçın hidrozolü

KKH: kara kekik hidrozolü

İKH: izmir kekiği hidrozolü

THC: Tarçın hidrozolü + %3 askorbik asit

THM: Tarçın hidrozolü + %3 malik asit

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. Kullanılan Kimyasalları ile ilgili bilgiler	3
Tablo 2. Çalışmada kullanılan test mikroorganizmaları	31
Tablo 3. GC-MS analizi sonucunda tespit edilen Tarçın hidrozolünün bileşenleri	30
Tablo 4: GC-MS analizi sonucunda tespit edilen Kara kekik hidrozolünün bileşenleri.	38
Tablo 5. GC-MS analizi sonucunda tespit edilen İzmir kekiği hidrozolünün bileşenleri	39
Tablo 6. DPPH Analizi sonucunda tez çalışması kapsamında çalışılan numunelere ait inhibisyon sonuçları (inhibisyon yüzdesi $\pm$ standart sapma).	41
Tablo 7. Hidrozol numunelerine ait antimikrobiyal etkinlik test sonuçları (inhibisyon zonu (mm) $\pm$ standart sapma)	43
Tablo 8. Minimum inhibitör konsantrasyon Analizi sonuçları	49
Tablo 9. <i>Escherichia coli</i> O157:H7 sayım sonuçları	56
Tablo 10. <i>Salmonella enterica</i> sv. <i>Typhimurium</i> sayım sonuçları	57
Tablo 11. <i>Staphylococcus aureus</i> sayım sonuçları	58
Tablo 12. <i>Candida albicans</i> sayım sonuçları	59
Tablo 13. <i>Aspergillus flavus</i> sayım sonuçları	60
Tablo 14. Zeta Potansiyeli Analiz Sonuçları	61
Tablo 15. Parçacık Boyutu Analiz Sonuçları	62

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2. Karvakrol'ün açık kimyasal yapısı	5
Şekil 3. İzmir kekiği bitkisinin morfolojik görünümü	6
Şekil 4. Linalool'ün açık kimyasal yapısı.....	9
Şekil 5. Timol'ün açık kimyasal yapısı	10
Şekil 6. Tarçın birkisinin morfolojik görünümü	11
Şekil 7. Sinamaldehit'in açık kimyasal yapısı	14
Şekil 8. Clevenger distilasyon düzeneği	15
Şekil 9. Askrobik asidin açık kimyasal formülü	20
Şekil 10. Malik asidin açık kimyasal formülü	21
Şekil 11. Malik asidin açık kimyasal formülü	28
Şekil 12. Aspergillus flavus konidiosporların mikroskopik görünümü	28
Şekil 13. 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil'in oksidasyonu	31
Şekil 14. Agar kuyucuk difüzyon yöntem şeması.....	32
Şekil 15. Minimum inhibitör konsantrasyonu analizi sonuçlarının yorumlanması	34
Şekil 16. GC-MS analizi sonucunda elde edilen Tarçın hidrozolünün kromatogramı	38
Şekil 17. GC-MS analizi sonucunda elde edilen Kara kekik hidrozolünün kromatogramı	39
Şekil 18. GC-MS analizi sonucunda elde edilen İzmir kekiği hidrozolünün kromatogramı	40
Şekil 19. <i>K. Pneumoniae</i> 'nin agar kuyucuk difüzyon Analizi sonuçları.....	43
Şekil 20. <i>E. coli</i> O157:H7 'nin agar kuyucuk difüzyon Analizi sonuçları.....	44

Şekil 21. <i>E. coli</i> 11230 'un agar kuyucuk difüzyon Analizi sonuçları	44
Şekil 22. <i>P. mirabilis</i> 'in agar kuyucuk difüzyon Analizi sonuçları	45
Şekil 23. <i>P. vulgaris</i> 'in agar kuyucuk difüzyon Analizi sonuçları	45
Şekil 24. <i>S. typhimurium</i> 'un agar kuyucuk difüzyon Analizi sonuçları	46
Şekil 25. <i>S. aureus</i> 'un agar kuyucuk difüzyon Analizi sonuçları	46
Şekil 26. <i>B. cereus</i> 'un agar kuyucuk difüzyon Analizi sonuçları	47
Şekil 27. <i>Y. enterocolitica</i> 'nın agar kuyucuk difüzyon Analizi sonuçları	47
Şekil 28. <i>L. monocytogenes</i> 'in agar kuyucuk difüzyon Analizi sonuçları	48
Şekil 29. <i>C. albicans</i> 'ın agar kuyucuk difüzyon Analizi sonuçları	48
Şekil 30. <i>A. flavus</i> 'un agar kuyucuk difüzyon Analizi sonuçları	49
Şekil 31. <i>Klebsiella pneumoniae</i> 'nın minimum inhibitör konsantrasyon Analizi sonuçları	50
Şekil 32. <i>Escherichia coli</i> O157:H7 'nin minimum inhibitör konsantrasyon Analizi sonuçları	51
Şekil 33. <i>Escherichia coli</i> 11230 'un minimum inhibitör konsantrasyon Analizi sonuçları	51
Şekil 34. <i>Proteus mirabilis</i> 'in minimum inhibitör konsantrasyon Analizi sonuçları	52
Şekil 35. <i>Proteus vulgaris</i> 'in minimum inhibitör konsantrasyon Analizi sonuçları	52
Şekil 36. <i>Yersinia enterocolitica</i> 'nın minimum inhibitör konsantrasyon Analizi sonuçları	53
Şekil 37. <i>Staphylococcus aureus</i> 'un minimum inhibitör konsantrasyon Analizi sonuçları	53
Şekil 38. <i>Bacillus cereus</i> 'un minimum inhibitör konsantrasyon Analizi sonuçları	54

Şekil 39. <i>Salmonella enterica</i> sv. <i>Typhimurium</i> 'un minimum inhibitör konsantrasyon Analizi sonuçları.....	54
Şekil 40. <i>Listeria monocytogenes</i> 'in minimum inhibitör konsantrasyon Analizi sonuçları	55
Şekil 41. <i>Candida albicans</i> 'un minimum inhibitör konsantrasyon Analizi sonuçları....	55
Şekil 42. <i>Escherichia coli</i> O157:H7 sayım sonuçları	57
Şekil 43. <i>Salmonella enterica</i> sv. <i>Typhimurium</i> sayım sonuçları	58
Şekil 44. <i>Staphylococcus aureus</i> sayım sonuçları	59
Şekil 45. <i>Candida albicans</i> sayım sonuçları	60
Şekil 46. <i>Aspergillus flavus</i> sayım sonuçları.....	61

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER VE LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1. Problem Durumu

Pek çok gıda ürünü tabiatı gereğince dayanıksızdır ve istenen raf ömrünü sağlamak için hazırlanmaları gerektiği gibi, depolanmaları ve dağıtımları sırasında bozulmaya karşı korunmaları zorunludur. Gıda ürünleri artık dünyanın her yerindeki üretim alanlarından uzakta satıldığından, bu ürünler için daha uzun raf ömrüne sahip olma gereksinimi ön plana çıkmıştır (Rasooli, 2017).

Gıdanın muhafazası, gıdanın bozulmasına ve/veya intoksikasyona sebep olan mikroorganizmalara karşı sürekli bir mücadeledir. Isıtma, soğutma ve kurutma gibi prosesler gıda muhafazası amacıyla kullanılabilir; fakat bu teknikler gıdaların organoleptik ve besinsel özelliklerini etkilediği için bazen tercih edilmemektedir (Rasooli, 2017).

Antimikrobiyal maddeler; mikroorganizmaları öldüren (mikrobisid etki) veya onların üremesini/gelişimini engelleyen (mikrobiyostatik etki), bitkisel veya sentetik kökenli kimyasal maddelerdir. Bu tanıma; dezenfektanlar, antiseptikler, antibiyotikler ve inhibitör etkili diğer bazı maddeler girmektedir. Antimikrobiyal maddelerden dezenfeksiyon ve antiseptik etki yaratma amacıyla veya enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde ilaç (antibiyotik) olarak ya da gıdalarda koruyucu katkı maddesi olarak yararlanılmaktadır (Antinoro vd., 2008).

Tüketime hazır taze gıda ürünlerine yönelik artan talep, gıda sektörü için gıdalarının güvenliği ve kalitesi açısından zorluklara yol açmıştır. Yapay koruyucular, tazeliğini daha

uzun süre koruyarak bu zorluklardan bazılarını karşılar, ancak bu koruyucular da olumsuz yan etkilere neden olabilir. Sodyum nitrit, botulizmi önlemek için etler, jambonlar ve sosisler de kullanılan bir koruyucudur. Botulizme neden olan bakterilere karşı inhibisyon sağlar, ancak sodyum nitrit proteinlerle reaksiyona girebilir veya yüksek ısıda pişirme sırasında kanserojen N-nitrozaminler oluşturabilir. Ayrıca laboratuvar hayvanlarında kanser oluşumuyla bağdaştırılmıştır. Yaygın olarak kullanılan sodyum benzoatın, şişelenmiş domates salçasının raf ömrünü kalite kaybı olmaksızın 40 haftaya kadar uzattığı bulunmuştur. Fakat C vitamini ile birleştiğinde kanserojen olan benzen türevlerini oluşturabilir. Pek çok gıda üreticisi, bu tarz sorunları elimine etmek için ürünlerinin içeriğinde güncellemeler yapmış olsa da hala risk mevcuttur (Antinoro vd., 2008).

1.2. Araştırmanın Amacı

Gıdalara çeşitli şekillerde bulaşan mikroorganizmalar, gıda bileşenlerini kendi gelişmeleri için besin kaynağı olarak kullanırlar. Gıdalarda bazı mikroorganizmaların saprofitik faaliyetleri sonucunda, hoşla gitmeyen tat, aroma ve kokuya sebep olan bileşikler oluşabilir ve bunun sonucunda gıdalarda bozulma meydana gelebilir. Gıdalara bulaşan bazı mikroorganizmalar ise, patojen olup, sağlık açısından risk oluşturabilmektedirler. Mikroorganizmaların gıda ortamlarında gelişimini engellemek için gıda mühendisleri çeşitli tekniklere başvurmuştur. Bu tekniklerden birisi ise, antimikrobiyal maddeler kullanmaktır. Gıda katkı maddelerinin önemli kısmını oluşturan antimikrobiyal özelliğe sahip gıda katkı maddeleri, gıdalardaki bozulmaların geciktirilmesi ve gıdalarda üreyebilecek mikroorganizmaların gelişimini engellemek amacı ile gıdalara ilave edilmektedir. Bu kapsamda gıda endüstrisinde kullanılabilecek yeni antimikrobiyal maddeler üretmek büyük önem arz etmektedir. Bu nedenlerden dolayı bu tez çalışmasında gıda endüstrisinde farklı alanlarda kullanılabilmesi muhtemel, geniş spetrumlu, insan sağlığına ve çevreye dost bir antimikrobiyal maddenin geliştirilmesi ve laboratuvar ölçeğinde üretimi amaçlanmıştır.

Gıda endüstrisinde en yaygın olarak kullanılan antimikrobiyal gıda katkı maddeleri, nitrit ve nitrat bileşikler, nisin, benzoik asit ve tuzları, kükürtdioksit ve çeşitli sülfidler, sorbik asit ve tuzları, propiyonik asit ve tuzları, asetik asit ve asetatlar gibi bazı

antimikrobiyallerdir. Kullanılan gıda katkı maddelerinin pozitif etkileri olduğu gibi kullanım dozlarına bağlı olarak zararlı etkiler de gösterebildikleri farklı çalışmalarda belirlenmiştir. Piyasada satılan bazı ürünlerde, yetkili otoritelerce yapılan analizlerde bulunan gıda katkı maddesi miktarları, yasal (kabul edilebilir) miktarların üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenlerden dolayı sentetik koruyucuların insan sağlığı üzerine olası zararlı etkilerinden kaçınmak amacıyla son yıllarda doğal antimikrobiyal maddelere olan ilgi hızla artmıştır. Buna paralel olarak bu projede sentetik maddelere alternatif olabilecek bitki kaynaklı doğal bir antimikrobiyal madde üretimi amaçlanmıştır. Bu kapsamda bitki hidrozollerin karışımı farklı asitlerle gösterebileceği potansiyel etkilerinin test edilmesi ve en etkili formülün elde edilmesi hedeflenmiştir.

1.3. Literatür Özeti

1.3.1. Bitkiler

1.3.1.1. Kara Kekik (*Origanum Vulgare*)

1.3.1.1.1. Botanik Özellikler



Şekil 1. Dağ kekiği bitkisinin morfolojik görünümü

Kara kekik, istanbul kekiği veya kekik otu olarak bilinen *Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum*, *Lamiaceae* familyasından yarıçalımsı çok yıllık bitkidir. *O. vulgare* türü İngilizce kaynaklarda yaygın olarak “wild marjoram” ya da “oregano” olarak geçmektedir. Çiçekleri mor, pembe ya da beyaz renkli ve dik gövdesi ile odunsu yapıdadır. Her saptta çok sayıda yaprak bulunmakta olup 35 çifte kadar çıkabilmektedir. Taçyaprağı mor veya beyaz, nadiren pembemsi renkte olup boyu 3-10 mm arasında olmaktadır (Souza vd., 2007).

Batı Akdeniz’den Orta Asya’ya kadar yayılış gösteren *Origanum vulgare*, bir Akdeniz taksonudur, genel olarak Balkan’larda, Trakya, Ege Bölgesi ve Güney Anadolu’da yaygın bir türdür. Deniz seviyesinden, 1.500 m yüksekliğe kadar olan kısımlarda, taşlı bayırlar, kayalık yerler, hatta dik yamaçlarda genellikle de kurak ve güneşli yerlerde, bazen de gölgede yetişmekte olup çiçeklenme zamanı genellikle Mayıs-Ekim ayları arasındadır. Dağ kekiğın yapraklı çiçekli hali “Kekik” ismi altında satılmakta ve baharat olarak tüketilmektedir (Teixeira vd., 2013).

Dağ kekiği bitkisinin morfolojik görünümü şekil 1’de gösterilmiştir.

1.3.1.1.2. Kara Kekığın Esansiyel Yağ Özellikleri

Dağ kekiğının uçucu yağı sarımsı renkli, özel kokulu ve yakıcı lezzetli bir tadı olup verimi %2-3 arasındadır. Ayrıca, bu türden elde edilen kekik yağı, fenol bileşikleri yani Timol ve karvakrol taşıdığından antiseptik olarak yararlanılır (Cakir, 2004).

Dağ kekiği uçucu yağı birçok ülkede geleneksel tıp sistemlerinde kullanılan terapötik özelliklere sahip olduğu bilinmektedir. *O. vulgare*, solunum bozukluklarını, hazımsızlık, eklem iltihabı, skrofuloz ve idrar yolu bozukluklarını tedavi etmek için kullanılır. Ayrıca, gastronomide baharat olarak da kullanılır (Sahin vd., 2004).

Cleff vd., (2010) yaptıkları çalışmada *O. vulgare* türünün uçucu yağlarının ana bileşen olarak Timol ve karvakrol olduğunu gösterilmiştir. Diğer baskın görülen uçucu yağları ise terpinen-4-ol, linalool, cis-sabsinen hidrat olduğu görülmüştür (Sahin vd., 2004).

Masood vd., (2007) yapmış oldukları çalışmada *origanum vulgare* esansiyel yağı 11 farklı gram negatif mikroorganizmaya karşı (*Aeromonas Hydrophila*, *Citrobacter Sp.*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella ozaenae*, *K. pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella Typhi*, *S. paratyphi B*, *Serratia*

marcescens ve *Shigella dysenteriae*) Disk Difüzyon Yöntemi ile test edilmiştir. En yüksek antibakteriyel aktivite, $24.0 \text{ mm} \pm 0.5$ ortalama inhibisyon bölgesi ile *Citrobacter* türlerine karşı sergilenmiştir (Sahin vd., 2004).

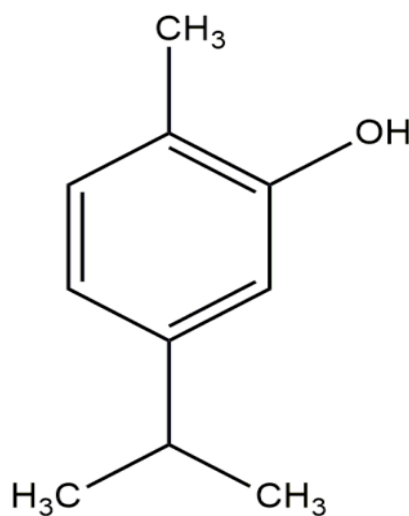
Karvakrol ($\text{C}_{10} \text{H}_{14} \text{O}$)

Kekik (*Origanum vulgare*), kekik (*Thymus vulgaris*), karabiber (*Lepidium flavum*), yabani bergamot (*Citrus*) uçucu yağında bulunan sıvı bir fenolik monoterpeneoïd'tir. Ticari Karvakrol, kimyasal ve biyoteknolojik yöntemlerle sentezlenir. Uluslararası Saf ve Uygulamalı Kimya Birliği tarafından 5-izo-propil-2-metilfenol olarak da adlandırılır (Fachini-Queiroz vd., 2012).

Karvakrol, lipofilik özelliklere ve oda sıcaklığında (25°C) $0,976 \text{ g/ml}$ yoğunluğa sahiptir; suda çözünmez ancak etanol, aseton ve dietil eterde yüksek oranda çözünür (Yadav & Kamble, 2009). Literatürde, bu bileşiğin antibakteriyel, antifungal, antiviral, antioksidan ve antikarsinojenik aktiviteler gibi geniş spektrumlu bir biyolojik aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Chavan & Tupe, 2014).

Tatlandırıcı ve antimikrobiyal aktiviteleri sebebiyle, karvakrol, gıda endüstrisi için doğal bir gıda koruyucusu olarak önerilmiştir (Sharifi-Rad vd., 2018).

Karvakrol'un açık kimyasal yapısı Şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Karvakrol'un açık kimyasal yapısı

1.3.1.2. İzmir Kekiği (*Origanum Onites*)

1.3.1.2.1. Botanik Özellikler



Şekil 2. İzmir kekiği bitkisinin morfolojik görünümü

Origanum onites L. (*Labiatae*) odunsu saplı çok yıllık bir bitki türüdür. Diğer, *Origanum* türlerinden bağımsız ve tek dudaklı kaliks şeklinde ayırt edilebilmektedir. *O. onites*, Türkiye'nin Ege ve Akdeniz bölgelerinde doğal olarak yetişmekte ve aynı zamanda ekonomik önemi nedeniyle yaygın olarak yetiştirilmektedir. Kekik kullanımı Anadolu'da eski zamanlara dayanmaktadır. Bitkinin yaprakları, yaklaşık M.Ö. yedinci yüzyıldan beri balık, et, sebze, salata sosu ve şarap için bir çeşni otu olarak kullanılmıştır. Çeşitli rahatsızlıkların tedavisi için geleneksel ilaç olarak da kritik bir öneme sahiptir. “Kekik” kelimesi Yunanca “dağ” anlamına gelen “sevinç veya süs” kelimesinden gelmektedir. Orta çağlarda kekik yaprakları genellikle tıbbi olarak romatizma, diş ağrısı, hazımsızlık ve öksürük gibi birçok hastalığın tedavisi için çiğnenerek kullanılmıştır. Türkiye, dünyaya önemli miktarlarda izmir kekiği ihracatını yapmaktadır (Gönüz & Özörgücü, 1999).

Origanum onites, Türkiye'nin Ege ve Akdeniz bölgelerinde, özellikle Denizli, Aydın, İzmir, Isparta, Burdur ve Antalya illerinde yetiştirilmektedir. Bu türün en çok yayıldığı bölgeler Türkiye ve Yunanistan olduğu için Türkiye ve Yunanistandaki araştırmacılar tarafından pek çok çalışma yapılmıştır. Fitokimyasal çalışmalar kekik bitkisinde, terpenoidler, fenolik asitler, triterpen asitler, hidrokinonlar, flavonoidler, hidrokarbonlar, steroller, pigmentler, yağ asitleri, tokoferoller ve inorganik bileşikler dahil olmak üzere çeşitli bileşik sınıflarının olduğunu ortaya çıkarmıştır (Tepe vd., 2016).

Farmakolojik çalışmalar, bu bitkinin geniş bir biyolojik aktivite gösterdiğini kanıtlanmıştır. Bunlar, antimikrobiyal, antioksidan, insektisidal, larvisidal, akarisidal, antikanser, hepatoprotektif, genotoksik/antijenotoksik, antidiyabetik, antiviral, kardiyorespiratuar, antiinflamatuvar, fumigant toksisite, kolinesteraz inhibitörü ve analjezik aktivitelerin yanı sıra endotel fonksiyonu, kolit (kolon hasarı) ve gastrointestinal sistem üzerindeki etkiler olarak belirlenmiştir. Ayrıca, cilt tahrişlerini ve enfeksiyonlarını, kasılmaları ve narkotik zehirler için bir panzehir ve tedavi edici olarak bu bitkiden faydalanılmaktadır. Kekik ishal, mide rahatsızlığı ve mide bulantısı gibi çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmıştır. Kekik ayrıca bazı antibakteriyel ve antiinflamatuvar özelliklere sahiptir, bu nedenle artrit, kas ve eklem ağrısı tedavisinde kullanılmaktadır. Günümüzde boğmaca ve konvulsif öksürükler ve sindirim bozuklukları için spazmodik, antimikrobiyal, balgam söktürücü olarak kullanılmasının yanısıra, topikal olarak antiseptik olarak da kullanılmıştır (Tekin, 2013).

İzmir kekiği bitkisinin morfolojik görünümü şekil 3'te gösterilmiştir.

1.3.1.2.2. İzmir Kekiğin Esansiyel Yağ Özellikleri

Kekiğin esansiyel yağında, ana bileşenler olarak karvakrol ve Timol bulunmaktadır. Ayrıca, c-terpinen, p-cymene, linalool, terpinen-4-ol ve sabinen hidrat gibi diğer bileşenler de içermektedir. Fenolik bileşik olan karvakrol, *O. onites*'in uçucu yağının ana bileşenidir, ancak Timol ve linalool kemotiplerine nadiren yabancı popülasyonlarda rastlanmaktadır. Karvakrol, kekik aromasının majör bileşenidir (Ozkan vd., 2010).

O. onites L, değerli esansiyel yağında biriken fenolik bileşikler nedeniyle önemli tıbbi bitkilerden biri olmuştur. Uçucu yağlarının antimikrobiyal, antiviral, antifungal, böcek öldürücü, tıbbi ve kozmetik amaçlı endüstriyel kullanıma sahip olması, son yıllarda, *O. onites* üzerinde yapılan çalışmaların giderek artmasına sebep olmuştur (Humu, 2021).

Kekik üzerine yapılan farmakolojik çalışmalarda, kekik uçucu yağında bulunan terpenik bileşiklerin 500 ve 2000 ppm dozlarının, *C. botulinum*, *V. parahaemolytica*, *S. aureus* ve *S. typhimurum* gibi patojen bakterilerin gelişimini engellediği bildirilmiştir (Kivanç & Akgül, 1986).

Juven vd., (1994) ve Helander vd., (1998) Timol ve karvakrol'un kekiğin antimikrobiyal aktivitesi üzerinde önemli rol oynadığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar, bu terpenlerin, bakteriyel membranın protein yapısındaki amin ve hidroksil amin gruplarına bağlanarak membran geçirgenliğini değiştirerek ya da bakterilerin enzim sistemini bozarak hücre ölümüne sebep olduklarını bildirmişlerdir.

Lambert vd., (2001) Yaptıkları bir araştırmada, iki kekik türü ile birlikte altı farklı bitkiden elde edilen esansiyel yağların antimikrobiyal aktivitesi üzerine yapılan bir çalışmada denenen bütün bitkilerin esansiyel yağları izole edilerek bakteriler üzerinde denenmiştir. *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans* üzerinde antimikrobiyal aktivite gözlenirken, *P. aeruginosa* üzerinde etkisiz olduğu saptanmıştır.

Linalool (C₁₀ H₁₈ O)

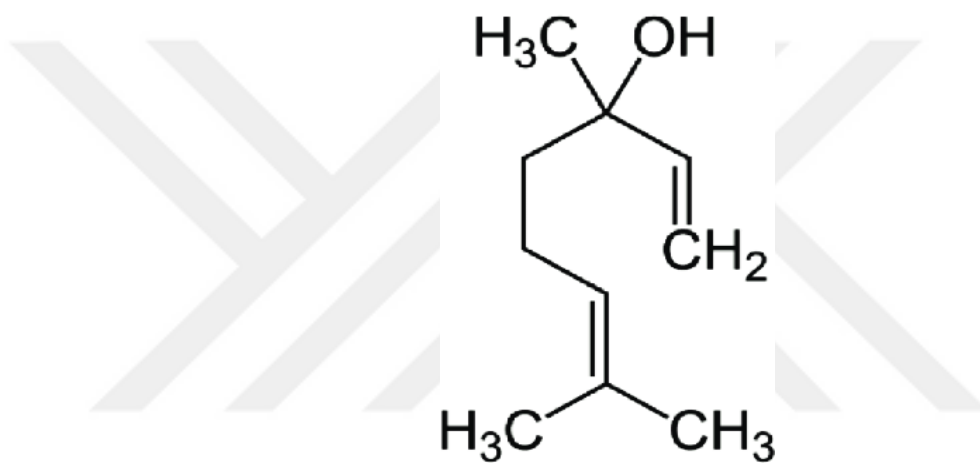
İzmir kekiği uçucu yağının önemli bileşenlerinden biri olan linalool, bir asiklik monoterpen alkoldür ve aynı zamanda doğadaki başlıca çiçek kokularından biridir. Çiçek kokularının terpenoidlerinin yaklaşık %70'i linalool ile temsil edilir. Birçok uçucu yağın ana bileşenlerinden biri linalooldur. Bu monoterpen alkol, antibakteriyel ve antifungal özelliklerin yanı sıra antioksidan, anti-inflamatuar ve antikanser aktiviteleri sunar. Linalool, geraniol, nerol, sitral ve türevleri gibi çeşitli yerli ürünler, kozmetik ve koku kimyasallarının üretimi için kilit bir bileşiktir ve ayrıca eczacılıkta A ve E vitaminlerinin sentezinde öncül olarak kullanılmaktadırlar. Linalool, en çok araştırılan koku moleküllerinden biridir. Linalool için farklı biyolojik aktivitelerini bildiren çok sayıda çalışma yayınlanmıştır (Aprotosoie vd., 2014).

Linalool'un %0,1 (h/h) konsantrasyonlarda, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pasteurella multocida* türlerine karşı antimikrobiyal aktivite sergilediği bildirilmiştir (Agrawal, 2014).

Linalool, esas olarak bir anti-lipoperoksidan ajan olarak işlev görür. Linalool içeren uçucu yağlar durumunda antioksidan aktivite, büyük olasılıkla bileşenler arasındaki sinerji nedeniyle daha önemlidir. Bu sebeple, özellikle serbest radikal süpürme

yeteneklerinde ifade edilen güçlü antioksidan aktivite sergiler (Cavanagh & Wilkinson, 2002). Deney hayvanlarıyla gerçekleştirilen bir çalışmanın sonuçlarına göre, nispeten yüksek konsantrasyonlarda (120 ppm) ve uzun süreli maruziyette, linalool'un kobay beyin dokusunu hidrojen peroksit (H_2O_2) kaynaklı oksidatif strese karşı koruduğu ve lipoik asit ve E vitamini tarafından sergilenenlere benzer etkiler gösterdiği rapor edilmiştir (Çelik & Özkaya, 2002).

Linalool'un açık kimyasal yapısı şekil 4'te gösterilmiştir.



Şekil 3. Linalool'un açık kimyasal yapısı

Timol ($C_{10}H_{14}O$)

İzmir kekiği uçucu yağının önemli bir diğer bileşeni olan Timol, 2-izopropil-5-metilfenol (IPMP) olarak bilinen doğal bir monoterpen fenol bileşiğidir. Timol, mutfak ot kekiğinin kendine özgü, güçlü lezzetine sahip olmasının yanısıra güçlü bir antiseptik özelliğe de sahip bir volatil bileşiktir. Çoğunlukla bitki *Thymus vulgaris* (yaygın kekik) ve diğer bazı bitkilerden çeşitli yöntemlerle elde edilebilir. Timol ($C_{10}H_{14}O$) birçok bitkisel yağda bulunan bir monoterpendir. Timol bir fenolik kimyasal bileşiğidir (Mandal & DebMandal, 2016).

Bir monoterpen ve volatil karakterde olan Timol bileşiğinin, terapötik ve farmakolojik etkilerin olduğu, bildirilmiştir (Nagoor Meeran vd., 2017). Yapılan çalışmalarda, antipiretik ve antispazmodik özelliklerinin de olduğu bildirilmiştir. Timol'un ayrıca

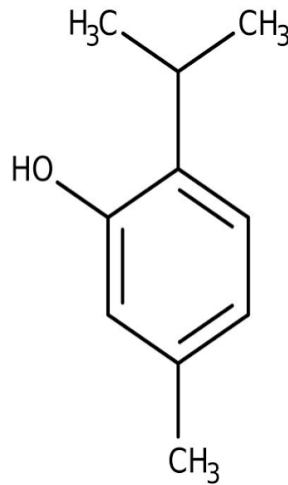
antimikrobiyal ve antifungal özelliklerindeki olduğu ve patojen hücre zarının geçirgen hale getirilmesiyle antimikrobiyal etkinlik gösterdiği bildirilmiştir (Nabavi vd., 2015).

Timol, bazı gargara diş macunlarında antiseptik bir bileşen olarak kullanılır. Klorheksidin ile birlikte, plak ve gingiviti azaltmak amacıyla kullanılır. Ayrıca halotan, anestezi, antiseptik olarak kullanılır. Kekik özü ve Timolün, β 2-reseptörlerine sahip uterus ve trakea üzerinde rahatlatıcı etkileri olduğu önerilmiştir (Marchese vd., 2016).

Yapısında bulunan hidroksil grupları varlığından dolayı, Timol yüksek bir antioksidan aktiviteye sahiptir. Timol bünyesinde bulunan hidroksil gruplar serbest radikalleri süpürerek ve nötralize ederek önemli bir antioksidan etkiye neden olmaktadır (Deng vd., 2016).

Timol, ABD, Avrupa ve Çin'de kullanılan güvenli (GRAS) gıda katkı maddesi olarak kabul edildiğinden, Timolün gıda matrisindeki sentetik antioksidanlara potansiyel bir alternatif olduğunu göstermek için birçok çalışma yapılmıştır (Hossain vd., 2008; Quiroga vd., 2014; Youdim & Deans, 2000).

Timol'ün açık kimyasal yapısı şekil 5'te gösterilmiştir.



Şekil 4. Timol'ün açık kimyasal yapısı

1.3.1.3. Tarçın (*Cinnamomum Verum*)



Şekil 5. Tarçın birkisinin morfolojik görünümü

1.3.1.3.1 Botanik Özellikler

Defnegiller familyasından Anavatanı Güney ve Güneydoğu Asya olan, yaprak dökmeyen aromatik kokulu ağaç cinsidir. Tarçının bilimsel adındaki cins ad olan "*Cinnamomum*", Yunanca'daki "kinnamomon" sözcüğünden gelir. İnsanlık tarihinin en eski baharatlarından biridir. Tarçın baharatı, ağacın kurutulmuş kabuklarından üretilmektedir. Tarçın, ağacın gövde ve dal kabuklarının dış kısmı sıyrıldıktan sonra kalan iç kabuğun kurutulup öğütülmesiyle elde edilir. Ayrıca kabuklarının iç içe konularak rulo gibi kıvrılmasıyla da çubuk tarçın elde edilir. Kokusu kuvvetli, keskin ve uzun süreli olup, tatlımsı ve yakıcı bir tada sahiptir (Ribeiro-Santos vd., 2017).

Çin Tarçını (*Cinnamomum cassiae*) ve Seylan Tarçını (*Cinnamomum zeylanicum*) olmak üzere başlıca iki cins tarçın kabuğu bulunmaktadır. Her iki tarçın da bileşiminde tanen ve

% 1-2 oranında uçucu yağ içermekte olup bu yağ temel olarak %65-%95 oranlarında sinamik aldehid, ayrıca sinnamil asetat, sinamik asit, benzaldehit, eser miktarda kumarin ve öjenolü de bünyesinde barındırmaktadır (Idrees vd., 2021).

GRAS (Generally Recognized as Safe) statüsünde bir gıda maddesi olan tarçının, güçlü bir antimikrobiyal etkiye sahip olduğu birçok çalışmada belirtilmiştir (R. Wang vd., 2009).

Güzel kokusu ve tadıyla ülkemizde genellikle tatlılarda kullanılan tarçın, kahve, çikolata, meyve sosları ve içeceklerde de yaygın olarak kullanılır. Ortadoğu mutfağında tatlılar kadar ana yemeklerde de tercih edilen bu baharatın geçmişten günümüze gıda muhafazasında kullanılma sebebi; güçlü antimikrobiyal özelliğinin yanı sıra antialerjik, antioksidant, antitümöral, antifungal, gaz söktürücü, kabızlığı önleyici, kolesterol düşürücü, anti-diyabetik aktiviteleridir (Gruenwald vd., 2010).

Tarçın birkisinin morfolojik görünümü şekil 6’da gösterilmiştir.

1.3.1.2.2. Tarçın Esansiyel Yağının Antimikrobiyal Özellikleri

Tarçın esansiyel yağının, gıda kaynaklı patojen bakteriler üzerindeki antimikrobiyal etkisi birçok çalışmaya araştırma konusu olmuştur. Tarçın ekstraktlarının antimikrobiyal etkisinin sorbik asit ve benzoik asitin antimikrobiyal etkisine eşit, hatta daha kuvvetli olduğu yapılan çalışmalarda tespit edilmiş olup, tarçın esansiyel yağının yüksek antimikrobiyal aktivitesinin, içeriğinde bulunan yüksek trans-sinamaldehit ve antifungal aktivitesinin de içeriğindeki oksijenlenmiş bileşenlerden kaynaklandığı belirtilmektedir (Hili vd., 1997).

İnsanların orta çağda etleri ve yemekleri uzun süre muhafaza etme amacıyla kullandıkları tarçının, en güçlü antimikrobiyal aktivitesinin, pH 4 altında gerçekleştiği ve asidik koşullarda daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bildirilmektedir (Rao & Gan, 2014).

Yapılan çalışmalar et, süt ve meyve suyu gibi gıdalarda depolama süresi boyunca tarçının mevcut *Escherichia coli* yükünü azalttığını, tarçın ekstraktlarının *Escherichia coli* hücre morfolojisini etkileyebileceğini ve gram pozitif bakterilerin yanı sıra *Escherichia coli* gibi gram negatif bakterilerin de büyümesini inhibe ettiğini göstermiştir. Yapılan bir çalışmada, tarçın yağının 100 ppm konsantrasyonda *Clostridium botulinum*’nun spor oluşturmasını engellediği tespit edilmiş olup, ayrıca bir diğer çalışmada *Bacillus cereus*’a

karşı antimikrobiyal açıdan en etkili uçucu yağlardan biri olduğu saptanmıştır (Shahverdi vd., 2007).

Birçok bakteriye karşı antimikrobiyal etki gösteren tarçının *Brucella* türleri üzerinde de antimikrobiyal etki gösterdiği çeşitli araştırmalarda belirtilmiştir. Hindistan’da yapılan bir çalışmada *Cinnamomum zeylanicum* ekstraktının *Brucella melitensis* patojenine karşı antimikrobiyal etki gösterdiği bildirilmiştir (Vasconcelos vd., 2018).

Al-Mariri vd., (2012) gerçekleştirdikleri bir çalışmada ise %1 oranında, *Cinnamomum verum* uçucu yağının insan makrofajları içinde *Brucella abortus* patojenine karşı yüksek antibakteriyal etkinlik gösterdiği, araştırmada kullanılan diğer bir esansiyel yağ olan mercanköşk (*Origanum majorana*) yağıyla kombinasyonunda bu antimikrobiyal etkinin daha da yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Yağlı ve yarım yağlı yumuşak peynirlere *Listeria monocytogenes* ilave edilmiş olan bir çalışmada %1 konsantrasyonda tarçın özütünün 3 gün sonra az yağlı peynirlerde *Listeria monocytogenes*’e karşı etkili olduğu gözlenmiştir. *Brochothrix thermosphacta*, *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia liquefaciens* ve *Bacillus cinerea* gibi bakteriler üzerinde de tarçın uçucu yağının antimikrobiyal etki gösterdiği diğer mikroorganizmalar arasında sayılmaktadır. Ayrıca yapılan çalışmaların sonucunda antifungal aktivitesi de tespit edilen tarçının, belirli seviyelerde ilave edildiği gıdalarda küflerin gelişimini ve mikotoksin üretimini kontrol altına aldığı da belirlenmiştir (Özbalıkçı, 2011).

Sinnamaldehit (C₆H₅CH)

Sinnamaldehit tarçın uçucu yağın başlıca bileşenidir ve çok çeşitli biyoaktif özelliklere sahip olduğu iyi bilinmektedir. Aldehitler, çok çeşitli gıdalarda ve gıda bileşenlerinde doğal (tatlandırıcı) bileşenler olarak bulunur. “Cinnamomum” ekili ağaçların kabuğundan elde edilen güçlü ve hoş bir kokuya sahip sarımsı bir sıvıdır (Gowder & Devaraj, 2010). Sinnamaldehit, aromatik bir aldehit olup tarçın kabuğu ekstraktının ana bileşenidir. (Adabiardakani vd., 2012).

Günümüzde, çoklu ilaca dirençli bakteriyel kökenli enfeksiyonların oluşumunda sürekli bir artış trendi bulunmaktadır. Hali hazırda mevcut antibiyotiklere karşı gelişen direnç, alternatif antibakteriyel stratejilere acil bir ihtiyaç duyulmasına yol açan küresel bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Doğal kaynaklardan antibakteriyel ajanların geliştirilmesine yeniden ilgi duyulmuştur. Trans-sinnamaldehit, son yıllarda büyük ilgi gören ve doğal

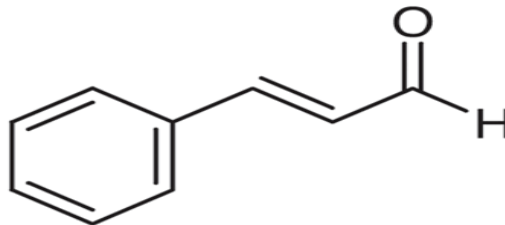
olarak bulunan bu tür bileşiklerden birisidir. Trans-sinmaldehit'in önemli antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu şu ana kadar gerçekleştirilen çalışmalar tarafından ispatlanmıştır (Doyle & Stephens, 2019).

Sinmaldehit, meyve ve sebzelerin muhafazası amacıyla deneysel olarak üretilen yenilebilir antimikrobiyal filmlere dahil edilmiş ve patojen mikroorganizmlara karşı biyosidal etkinlik gösterdiği bildirilmiştir (Muhoza vd., 2021).

Ayrıca, GRAS (Genel Olarak Güvenli Olarak Tanınan) statüsüne sahip olan sinmaldehit, Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından kullanım için onaylanmıştır (Zhu vd., 2014).

Bu nedenle, sinmaldehitin güvenli bir bileşen olduğu göz önüne alındığında, ilgili sinmaldehit türevleri uygun maliyetli, gıda uyumlu, geniş spektrumlu antimikrobiyal gıda katkı maddeleri olma potansiyeline sahiptir. (Doyle & Stephens, 2019).

Sinmaldehit'in açık kimyasal yapısı şekil 7'de gösterilmiştir.



şekil 6. Sinmaldehit'in açık kimyasal yapısı

1.3.2. Su Ekstraksiyonu ve Hidrozoller

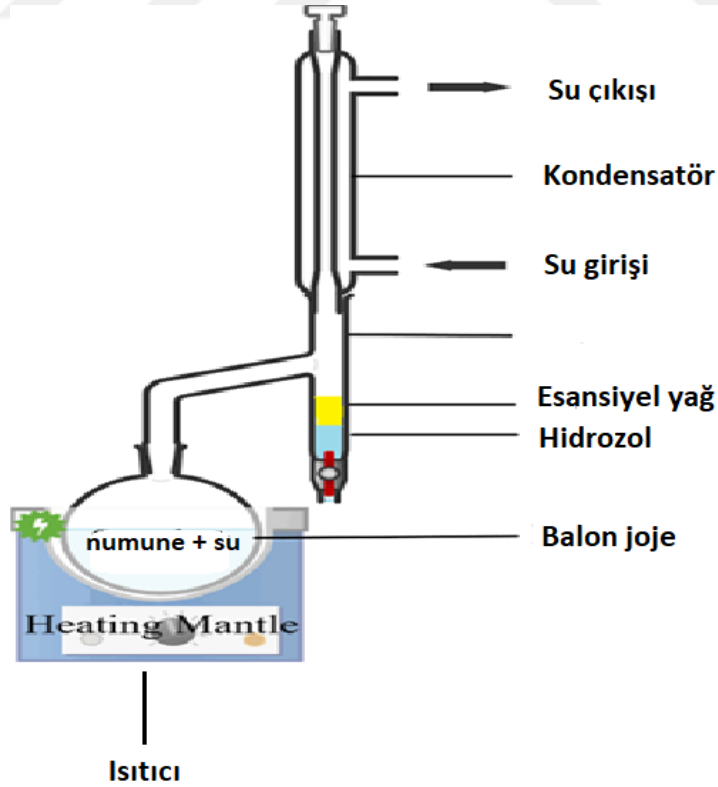
1.3.2.1. Distilasyon

İki veya daha fazla sıvı bileşeni, kaynama noktası veya uculuk farkına dayanarak bir karışım içerisinden ayırma işlemine distilasyon denir. Uculukları arasında büyük fark bulunan bileşenleri, bir karışımın içerisinden distilasyonla ayırmak daha kolaydır (Iqbal M Mujtaba, 2004). Bir başka tanımlama ile distilasyonun amacı, uçucu bir sıvıyı, çoğu zaman da farklı uculuktaki sıvıları, uçucu olmayan bir madde içerisinden ayırmaktır (Khaledi & Young, 2005).

1.3.2.2. Su Distilasyonu (Hydrodistillation)

Uçucu bileşiklerin üretiminde yaygın olarak kullanılan geleneksel bir yöntem olan, su distilasyonu, kaynatıldığında bozulmayan taze ve kuru bitkisel materyaller için uygundur ancak, ester içeren uçucu yağlar için uygun değildir. Yöntemin esası; soğutucu ile bağlanan bir cam balon içerisinde su ve bitki materyalinin 2–8 saat süre ile kaynatılarak, su buharı ile birlikte hareket eden düşük moleküler ağırlıklı uçucu karakterdeki moleküllerinin soğutucuda yoğunlaştırılıp sudan ayrıştırılmasına dayanmaktadır. Su distilasyonunda bitkisel materyal her zaman su ile doğrudan temas halindedir (Golmakani & Rezaei, 2008; Boutekedjiret vd., 2003)

Küçük ölçekli üretimlerde Şekil 8’te görülen Clevenger tipi bir aparatla yapılan distilasyon işlemi, endüstriyel uygulamalarda büyük distilasyon kazanlarında (imbik) gerçekleştirilmektedir. Elde edilen uçucu yağ miktarı volumetrik olarak ifade edilir. Su distilasyonu en iyipartikül boyutu minimize edilmiş materyallerde (örneğin; kök ya da odun unu) sonuç vermektedir (Silva vd., 2005). Clevenger distilasyon düzeneği şekil 8’de gösterilmiştir.



Şekil 7. Clevenger distilasyon düzeneği

1.3.2.3. Distilasyon Ürünleri ve Hidrozoller

Su ekstraksiyonu ya da damıtma eskiden beri en yaygın kullanılan ekstraksiyon yöntemlerinden biridir. Aromatik bitkilerin damıtılması sırasında beş farklı ürün elde edilir: uçucu yağ, damıtılmış biyokütle, damıtma ünitesinden çıkan kül, artık su ve hidrozoldur. Bilimsel olarak, hidrozoller uzun süredir distilasyonunun atık ürünleri olarak tanımlanmıştır. Son zamanlarda, birçok araştırmacı antimikrobiyal ve antifungal kapasitelerini analiz ederek, hidrozolleri yeniden değerlendirmiştir. Hidrozoller, eser miktarda uçucu yağ ve birkaç suda çözünür bileşen içeren oldukça komplike karışımlardır (D'Amato vd., 2018).

1.3.2.3.1. Hidrozolun Tanımı

Hidrozoller (hidrolatlar veya aromatik sular), uçucu yağlar elde etmek için bitkilerin buhar damıtılması sonucunda elde edilen ikincil bileşikleridir. Aromatik bitkilerin damıtılması sırasında, az miktarda esansiyel yağ bileşenlerinin kaybıyla oluşan hidrozol, araştırmacılar tarafından yirminci yüzyılın başlarında keşfedilmiştir. Hidrolatlar, uçucu yağların iz miktarda kalıntılarını ve suda çözünür karakterde birkaç bileşen içeren karışımlardır. Hidrozolün önemli bir kısmı, damıtma işleminin yoğunlaşan suyundan ve su ile hidrojen bağları oluşturan polar, koku veren ve hidrofilik karakterdeki uçucu yağ bileşenlerinden oluşmaktadır (Lis-Balchin vd., 2003).

Çözünmüş uçucu yağlara sahip damıtma suyu bileşenleri, literatürde çeşitli adlarla bilinmektedir. Bunlar: hidrozoller, hidrolat, hidroflorat, bitki aromatik atığı, aromatik su, çiçek suyu, temel aromatik su'dur (Rajeswara Rao, 2013).

Anadolu coğrafyasında hidrozoller hem mutfakta hem de tıbbi amaçla eskiden beri kullanılmaktadır. Bazı bitki hidrozolleri Türkiye'de uzun süredir içecek olarak tüketilmektedir. Genel olarak baharatlar ve otlar birçok kültür tarafından yiyeceklerin lezzetini ve aromasını arttırmak için yüzyıllardır kullanılmaktadır. Kadim kültür ayrıca baharat ve otların hem gıda muhafazası hem de tıbbi değeri için kullanılmasının değerini anlamış ve kabul etmiştir (Sağdıç & Özcan, 2003).

Bilimsel toplulukta uzun süredir hidrozoller, buhar damıtılmasının atık ürünleri olarak tanımlanmaktadır. Ancak, son zamanlarda, birçok araştırmacı, antimikrobiyal ve

antifungal kapasitelerini analiz ederek onların biyolojik aktivitelerini değerlendirerek yeniden gözden geçirmiştir (D'Amato vd., 2018).

1.3.2.3.2. Hidrozollerin İçeriği

Aromatik bitkilerin hidrodistilasyon ürünleri olan hidrozoller, 1 g/L'den az miktarda homojen dağılmış uçucu yağ içermektedir. Aromatik bitkilerin buhar damıtma veya hidrodistilasyon işlemi, karışmayan iki faz üretir: uçucu bileşiklerin büyük bir kısmını içeren uçucu yağ fazı ve organoleptik özellikler kazandıran yoğunlaştırılmış su ve düşük miktarda çözünmüş uçucu yağdan oluşan hidrosol kısmıdır. Daha yüksek konsantrasyonlarda, uçucu yağlar ise, su ile karışmaz ve hidrosolden doğal olarak ayrılır (Labadie vd., 2015).

Hidrolatların biyolojik aktivitesi, bunları işlevsel grupların varlığından kaynaklanmaktadır. Bazı durumlarda, esansiyel yağlar ile (farklı miktarlarda olmasına rağmen) ortak ana ve ikincil bileşenler sayesinde Hidrozoller önemli antimikrobiyal aktebite gösterebilmektedir. Bu ikincil metabolitlere örnek olarak monoterpen alkoller, aldehit, ketonlar ve çeşitli fenolikler (polifenoller, flavonoidler, alkaloidler, ve terpenler) verilebilir (Garneau vd., 2012; Karampoula vd., 2016).

1.3.2.3.3. Hidrozol Antimikrobiyal Aktivitesi

Hidrozoller de dahil olmak üzere bitki özlerinin antibakteriyel aktivitesi, eski zamanlardan beri iyi bilinmektedir ve çeşitli amaçlarda kullanılmaktadır. Hidrozollerin mikrobiyal büyümeyi kontrol etme kabiliyeti, kimyasal bileşimine ve mikrobiyal hedefe bağlı olarak değişir (D'Amato vd., 2018).

Hidrozoller yakın zamanda hem ıslak laboratuvar (wet-lab) ortamında hem de gıda model ortamlarında, bakteriler ve küflere karşı gösterdikleri geniş spektrumlu mikrobiyosidal aktiviteleri sayesinde araştırmacıların ilgisini çekmiştir. Hidrozollerin, antimikrobiyal etki mekanizması, temel olarak fenolik bileşiklerin, mikroorganizmaların hücre duvarlarına ve/veya mikrobiyal enzimleri üzerine oluşturduğu olumsuz etkilerden kaynaklanmaktadır (D'Amato vd., 2018).

Labadie vd., 2015'in gerçekleştirdikleri bir araştırmada, portakal çiçeği hidrozolünün, kompozisyonu sayesinde (linalool, alfa-terpinol, geraniol) *Staphylococcus aureus*,

Pseudomonas. Aeruginosa, Escherichia coli, Listeria monocytogenes, Salmonella serovar Typhimurium, Bacillus cereus, Candida albicans ve *Aspergillus brasiliensis* patojen suşlarının gelişimini önleyebildiğini tespit etmişlerdir (Labadie vd., 2015).

Kedi nanesi (*Nepeta Nepetella*) hidrozolü, *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella. pneumoniae, Enterococcus faecalis, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Listeria monocytogenes* ve özellikle *Candida albicans*'a karşı güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiği Bellahsene vd., 2015 Gerçekleştirdiği çalışmada ispatlanmıştır. Ayrıca, aynı çalışmada, Kedi nanesi hidrozolüne karşı, gram pozitif bakterilerin gram negatif bakterilere göre daha duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. En duyarlı bakteri türlerinin ise, sırasıyla 2,5 mg / mL ve 40 mg / mL MIK değerleri ile *B. cereus, P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae* olduğu ortaya çıkmıştır. Maya türlerinden *C. Albicans*'ın 0.520 mg/ml'lik MIK değeri ile Kedi nanesi hidrozolüne en duyarlı mikroorganizma olduğu bildirmiştir. Bu antimikrobiyal etkinliğin, antimikrobiyal potansiyeli iyi bilinen ana monoterpenoid bileşenler ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, Kedi nanesi hidrozolünde bulunan terpinen 4-ol, A-terpinol ve Timol bileşenlerinin hidrozolün mikrobiyosidal aktivitesinde önemli rol oynadığı bildirilmiştir (Seladji vd., 2014).

Bajer vd., 2017'in gerçekleştirdikleri bir çalışmada, küçük çiçekli yakı otu (*Epilobium parviflorum*) *Staphylococcus aureus, Eenterococcus faecalis, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa* ve *Candida albicans*'a karşı mikrobiyosidal aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Test edilen bakteri ve maya türleri arasında gram pozitif bakterilerin daha yüksek MIK değeri göstererek daha dirençli oldukları bildirilmiştir. Küçük çiçekli yakı otu hidrozollerinin başlıca bileşenleri: Carvone, Mentol ve Linalool'dur. Bu monoterpenoit grupların Küçük çiçekli yakı otu hidrozolünün antimikrobiyal aktivitesi üzerine önemli katkıları bulunmaktadır (Bajer vd., 2017).

1.3.3. Bu Çalışmada Hidrozoller ile Birlikte Kullanılacak Katkı Maddeleri

1.3.3.1. Askorbik Asit

C vitamini olarak da adlandırılan Askorbik asit, $C_6H_8O_6$ formülüne sahip bir organik bileşiktir. Askorbik asit beyaz ve katı halinde bir bileşiktir, ancak saf olmayan örneklerde sarımsı görünebilmektedir. C vitamini suda, etanolde, metanolde ve asetonda çözünmektedir. Eterde, petrol eterinde, kloroformda ve benzende ise

çözünmemektedir. Sulu çözeltileri kolaylıkla oksidasyona uğrayan askorbik asit pH 5-6'da en kararlı haline ulaşmaktadır (Keskin, 1987).

İnsan vücudu vitaminleri sentezleyemediğinden dolayı diyet yoluyla bu bileşenleri sağlamak durumundadır. Doğada en yaygın olarak bulunan vitaminlerden olan C vitamini başta turunçgil meyveleri olmak üzere, çeşitli yeşil sebzelerde, domates, lahana, biber, patates, çilek vb. meyveler gibi bitkisel ürünlerde bol miktarda, hayvansal ürünlerde ise sadece süt ve ciğerde düşük düzeyde bulunmaktadır (Keskin, 1987).

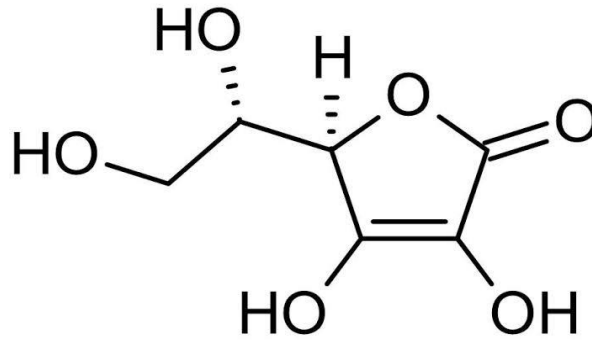
Birçok literatür kaynağı, vitaminleri vücudun çeşitli biyokimyasal ve fizyolojik süreçleri için zorunlu bir besin sınıfı olarak önermektedir. Askorbik asit, tirozin, folik asit ve triptofan metabolizmalarının fonksiyonlarına yardımcı olmaktadır. Kan kolesterol seviyesini ve sinir sistemini düzenleyen askorbik asit, karnitin ve katekolamin sentezine de rol oynamaktadır. Ayrıca askorbik asit, vücutta bulunabilen serbest radikallerin ve kirleticilerin zararlı etkilerine karşı koruyucu olan bir antioksidandır (Giannuzzi & Zaritzky, 1996).

Askorbik asit gıda endüstrisinde birçok fonksiyonel rolü olan, yaygın olarak kullanılan bir gıda katkı maddesidir. Bu fonksiyonel özelliklerin çoğu oksidasyon-indirgeme özelliklerine dayanmaktadır. Askorbik asidin fonksiyonel özellikleri sayesinde gıda endüstrisinde sıkça kullanılmaktadır. Bu özelliklerden örnek olarak antioksidan, indirgeyici ajan, stabilizatör, renk stabilizatörü fonksiyonları söylenebilmektedir (Yavaşca, 2009).

Gıda endüstrisi tarafından bir katkı maddesi olarak kullanılan C vitamini, gıda ürünlerinin oksidasyonunu önleyerek faaliyet göstermektedir. L-askorbik asit oksijenle oksidasyona duyarlılık gösterip dehidroaskorbik aside oksitlenmektedir. Oksidasyon olayı, sıcaklık, pH, ışık, oksijen veya metallerin varlığı ve enzimatik faaliyetlerle uyarılabilmektedir (Yavaşca, 2009).

Askorbik asidin mikrobiyosidal etkisi, literatürde farklı gıda ürünlerinde incelenmiştir. Birkaç çalışmada kapsamında, propiyonik asit gibi belirli organik asitlerle askorbik asit kombinasyonunun kullanımının, kıyılmış sığır eti muhafazasında bazı antimikrobiyal etkilere sahip olduğunu açığa çıkarmıştır (Giannuzzi & Zaritzky, 1996).

Askorbik asidin açık kimyasal formülü şekil 9'da gösterilmiştir.



Şekil 8. Askorbik asidin açık kimyasal formülü

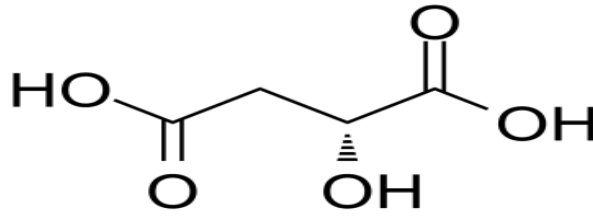
1.3.3.2. Malik Asit

Malik asit ham meyve sularından elde edilen, kimyaca adı hidroksi süksinik asit olan beyaz kristal bir katıdır. Malik asidin endüstriyel üretimi maleik asitten ve bromosüksinik asitten yapılmaktadır. Elma asidi olarak adlandırılan Malik asitte asimetrik karbon atomu olduğundan, optikçe aktif bir bileşendir ve D-(+) malik asit L-(-) malik asit denilen iki izomeri bulunmaktadır. Ham elmada, bektashi üzümünde ve birçok meyvede bulunan L-(-) malik asit, Kristal yapıya sahip olup havadan nem çekerek çözünmektedir. Erime noktası ise 100-101°C civarındadır. D-(+) malik asit ise sebzelerde hiç bulunmayıp doğal olarak elma, üzüm ve kirazda bulunmaktadır (Bilişli, 2011).

Malik asit, içecek ve gıda endüstrilerinde birçok uygulaması olan bir organik asittir. Diğer organik asitler gibi Malik asit, genellikle güvenli (GRAS: Generally Regarded as Safe) olarak kabul edilmiş olup, antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Kim, Kwon, & Oh, 2016).

(Kim vd., 2016) yaptığı çalışmada, test edilen organik asitler arasında (malik asit, propiyonik ve asetik, laktik), malik asidin diğer organik asitlere kıyasla *Listeria monocytogenes*'e karşı oldukça etkili olduğu bulunmuştur. Ek olarak, malik asit, *Escherichia. coli O157: H7*, *Salmonella enterica sv. Typhimurium* patojen suşlarına karşı daha fazla inhibisyon göstererek önemli bir antimikrobiyal kapasite gösterdiği bildirilmiştir (Kim, Kwon, & Oh, 2016).

Malik asidin açık kimyasal formülü şekil 10'da gösterilmiştir.



Şekil 9. Malik asidin açık kimyasal formülü

1.3.4. Test Mikroorganizmaları

1.3.4.1. *Escherichia coli* O157:H7 ve *Escherichia coli*

Escherichia coli (*E. coli*) Gram-negatif, çubuk şeklinde, fakültatif anaerobik bir bakteridir. Bu mikroorganizma ilk olarak 1885 yılında Theodor Escherich tarafından tanımlanmıştır. Çoğu *E. coli* suşu, insan ve hayvanların gastrointestinal sistemini normal bir flora olarak zararsız bir şekilde kolonize eder. Ancak plazmitler, transpozonlar, bakteriyofajlar ve/veya patojenite adaları yoluyla virülans faktörleri olarak patojenik *E. coli*'ye dönüşen bazı suşlar vardır. Bu patojenik *E. coli*, serogruplara, patojenite mekanizmalarına, klinik semptomlara veya virülans faktörlerine göre kategorize edilebilir (Lim vd., 2010).

Enterohemorajik *E. coli* (EHEC): Shiga toksinleri üreten ve insanlarda hemorajik kolite ve yaşamı tehdit eden sekel hemolitik üremik sendroma neden olan patojenik *E. coli* suşları olarak tanımlanır (Kiliç, 2011).

Enteroagregatif *E. coli* (EAEC): EAEC, özellikle gelişmekte olan ülkelerde kalıcı ishal (>14 gün) ile ilişkilendirilmiştir. İshal genellikle sulu, salgılayıcıdır ve ateş veya kusma eşlik etmez. Kuluçka süresinin 20 ila 48 saat olduğu tahmin edilmektedir (Okhuysen & DuPont, 2010).

Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC): EIEC suşlarının ishale neden olduğu ilk kez 1971'de yapılan gönüllü çalışmalarda gösterildi. Organizmalar, bağırsağın epitel hücrelerini istila eder ve sulu bir ishale neden olur. Hastaların az bir kısmında EIEC, şigelloza (basiller dizanteri) benzer bir hastalık üretebilir. EIEC'nin neden olduğu dizanteri, genellikle kontamine gıdaların alınmasını takiben 12 ila 72 saat içinde ortaya çıkar ve kendi kendini sınırlar. Hastalık, dışkıda kan ve mukus görülmesi, karın krampları, kusma, ateş, titreme ve halsizlik ile karakterizedir (Pasqua vd., 2017).

Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC): ETEC suşları, ısıya dayanıksız toksin (LT), ısıya dayanıklı toksin (ST) veya aynı zamanda ikisi olarak bulunmaktadır. ETEC'i tanımlamak için çeşitli laboratuvar teknikleri kullanılabilir: toksinleri veya toksin genlerini saptamak için tasarlanmış gen problemleri, doku kültürü veya immünokimyasal testler. ETEC iki ana klinik sendromla ilişkilidir: gelişmekte olan ülkelerdeki çocuklarda gezgin ishali ve süttten kesme ishali. Organizmalar, enterotoksinlerini detaylandırdıkları ince bağırsak mukozasının yüzeyini kolonize eder. Kuluçka süresi ise kısadır (14 ila 50 saat kadar) (Lim vd., 2010).

Diyarejenik *E. coli* (DAEC: Diffusely adherent *E. Coli*): DAEC'nin neden olduğu hastalığın epidemiyolojisi ve klinik profili hakkında çok az şey bilinmektedir. Bir ay ile 14 yaş arasındaki hastanede yatan çocukları içeren bir çalışmada, DAEC ile enfekte olan hastaların çoğunda kusma görülmüştür. Birkaç çalışma DAEC'yi ishalin bir nedeni olarak gösterirken, diğer çalışmalarda DAEC suşlarını asemptomatik kontrollere kıyasla diyare hastalarından daha sık elde etmemiştir (Lim vd., 2010).

1.3.4.2. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus, Stafilokok, Gram-pozitif, 0.5- 1.5 µm çaplı ve bireysel kok şeklinde karakterize edilen, birden fazla düzlemde üzüm salkımı benzeri kümeler ile karakterize edilir (Kloos & Bannerman, 1994).

Bugüne kadar *Staphylococcus* cinsinde 32 tür ve 8 alt tür tespit edilmiştir ve bu türlerin birçoğu insan vücudu kolonize etmeye meyilli olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis* en çok karakterize edilen ve çalışılan iki suştur (Harris vd., 2002).

Staphylococcus aureus, ciltten ve yumuşak doku enfeksiyonlarından sepsis gibi daha ciddi ve hayatı tehdit eden enfeksiyonlara kadar farklı bulaşıcı hastalıklara neden olan nozokomiyal bir bakteridir. *Staphylococcus aureus*, antibiyotik direncindeki artış nedeniyle önemi artan bir patojendir (Kloos & Bannerman, 1994).

1.3.4.3. *Bacillus cereus*

Bacillus cereus, hareketli ve spor oluşturan gram pozitif bir bakteridir. Endosporlar geniş oval şekilli veya bazen silindirik ve uygun olmayan koşullara karşı dirençlidir. *B. cereus* toprakta ve çeşitli yiyeceklerde sıklıkla tespit edilmiştir. Toprak, *B. cereus* sporları için

birincil gıda bulaşma kaynağıdır. Ayrıca, güçlü yapışma özelliklerinden dolayı gıdaların işlenmesi sırasında çapraz kontaminasyona yol açabilmektedir (Gharib vd., 2020).

Gıda işleme sırasında *B. cereus* sporları, biyofilm oluşumları ile güçlü bir yapışma özellikleri ile kontaminasyona neden olmaktadır ve insan vücudunda emetik sendromuna ve ishale neden olur. Emetik form, kontamine olmuş gıdaların tüketiminden sonra 1-5 saat içinde kusmaya neden olmaktadır. İshal formu ise (sulu ishal) karın ağrısı ile ilişkilidir ve kontamine olmuş yiyeceklerin tüketilmesinden sonra 8-16 saat içinde gerçekleşir (Gharib vd., 2020).

1.3.4.4. *Salmonella enterica* sv. *Typhimurium*

Salmonella, diğer *Enterobacteriaceae* üyeleri gibi fakültatif anaerobik, sporsuz, 2-3 µm uzunluğunda, 0.4-0.6 µm eninde gram negatif basildir. *Salmonella gallinarum* (biotip *Pullorum* dahil) serovarı dışında hareketlidir ve peritriş flagellaya sahiptir. 2500'den fazla tanınmış serotipi olan *Salmonella*, düşük nem gıda ürünlerinde uzun süre hayatta kaldığı bilinmektedir ve değişken çevre koşullarında hayatta kalmayı başarabilmektedir. *Salmonella* 7-48°C gibi geniş bir sıcaklık aralığında, pH 4-8 arasında ve su aktivitesinin 0.93'nin üzerinde olduğu koşullarda üreyebilmektedir (Ehuwa vd., 2021).

Salmonella cinsindeki bakteriler portörlük, lokal apseler ve infeksiyonlar, gastroenterit, sepsisemi, paratifo, tifo gibi geniş bir infeksiyon spektrumu oluştururlar. Tifo dışında diğer klinik tablolar tür içindeki farklı alt türler ve serovarlar ve çok farklı bakteriler tarafından oluşturulabilir. Dolayısıyla bunların belirli etkenlerle kesin olarak ilişkilendirilmesi etkenlerin izolasyon ve identifikasyonu ile, dolayısıyla mikrobiyolojinin gelişmesi ile mümkün olmuştur (Ehuwa vd., 2021).

Salmonella ve *Campylobacter* en sık izole edilmiş gıda kaynaklı patojenlerdir ve çoğunlukla kümes hayvanlarında, yumurta ve süt ürünlerinde raslanmaktadır. *Salmonella* kontaminasyonunda yer alan diğer gıda kaynakları, taze meyve ve sebzelerdir. Genel olarak, domuz, kümes hayvanları ve sığır gibi gıda hayvanları *Salmonella* enfeksiyonlarının asıl kaynakları olarak bilinmektedir. Mezbahalarda hayvan kesimi sırasında, karkasların ve iç organların mikrobiyal yükü *Salmonella* kaynaklarından biri olarak bilinmektedir (Eng vd., 2015).

1.3.4.5. *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes, *Listeria* cinsinden bir bireydir ve cinslerin yanı sıra laktobasil ailesinin bir parçası olan, spor oluşturmeyen, fakültatif olarak anaerobik bir Gram pozitif çubuk olarak karakterize edilir. Yuvarlak uçlu, $0,4 \times 0,5 \mu\text{m} \times 0,5-2,0 \mu\text{m}$ normal çubuklardır, bazen neredeyse kokoiddir, tek başlarına veya kısa zincirlerde ve daha az sıklıkla uzun filamentlerde bulunurlar (Lani vd., 2016).

İnsanlar, hayvanlar ve çevre, *L. monocytogenes*'in birincil rezervuarları olarak hizmet eder. İnsanlar, bu bakterinin bağırsak yolunda kolonizasyonu nedeniyle bu organizmayı semptomsuz olarak içerebilir. *L. monocytogenes* her yerde bulunur. Çok çeşitli balık, kuş ve hayvanlarla birlikte bulunmuştur. Organizma ayrıca çevrede yaygın olarak dağılmıştır ve toprak, bitki örtüsü, dışkı malzemeleri, silaj, kanalizasyon, su, yeşil bitki malzemesi, çürüyen bitki örtüsü ve hayvan yemi gibi çeşitli kaynaklardan izole edilmiştir (Evirgen, 2005).

Hayvan veya bitki kaynaklı herhangi bir taze gıda ürünü, değişen sayıda *L. monocytogenes* içerebilir. Genel olarak organizma çiğ süt, yumuşak peynirler, taze ve dondurulmuş et, kümes hayvanları, deniz ürünleri, meyve ve sebze ürünlerinde bulunmuştur. *L. monocytogenes* ile en büyük kontaminasyon tehdidi, tüketimden önce daha fazla ısıtma gerektirmeyen tüketime hazır ürünlerden gelir (Evirgen, 2005).

1929'da ilk insan listeriyozisi vakası tanımlanmıştır. Listeriosis için iki yüksek riskli alt popülasyon, yaşlılar ve yenidoğanlardır. Yetişkinlerde, listeriosis hastalığı üç aya kadar uzun bir kuluçka süresine sahip olabilir ve menenjit, sepsis, primer bakteriyemi, sepsis, endokardit, menenjitik olmayan merkezi sinir sistemi enfeksiyonu ve grip gibi şiddetli semptomların başlaması ile karakterizedir (Lani vd., 2016).

1.3.4.6. *Proteus mirabilis* ve *Proteus vulgaris*

Enterobacteriaceae familyasında yer alan *Proteus* sp. cinsi bakteriler, Gram negatif, $1-3 \times 0,4-0,6 \mu\text{m}$ boyutlarına sahip, kapsülsüz ve sporsuz mikroorganizmalardır. Toprakta, suda ve dışkıyla kontamine ekipmanlarda bulunabilirler (Hakkı Bilgehan, 1996).

Ayrıca fırsatçı bir insan patojeni olarak *Proteus* sp., insan ve hayvan gastrointestinal sistemde, ciltte ve oral mukozada bulunur. *Proteus* sp. alt-türlerinin sebep olduğu idrar yolu enfeksiyonları uzun süreli ve inatçı enfeksiyonlar olup, böbrek taşı oluşumuna neden olabilirler (McClean vd., 1988).

Proteus sp.'nin neden olduğu üriner sistem infeksiyonları tedavisi güç bakteriyemiye neden olabilir. Böyle hastalarda ölüm oranı %15-88 arasında değışmekle birlikte, bu oran predispozan faktörlere bağılı olarak değışmektedir (Armbruster vd., 2018).

Bu bakteriler ayrıca; yara infeksiyonları, menenjit, organ apseleri, özellikle yenidoğanlarda göbek kordonu infeksiyonları ve bu infeksiyonlardan kaynaklanan epidemiler halinde görülebilen sepsis ve menenjitlere neden olabilmektedirler (Bozkurt vd., 2005).

1.3.4.7. *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae gram negatif, kendiliğinden hareketi olmayan, kapsül içerisinde, fermantasyon yapabilen bir bakteri türüdür. İnsan bağırsak florasının bir üyesi olan *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumniae*), sıklıkla hastane kaynaklı infeksiyonla ilişkilidir. Malignite, siroz, safra yolu bozuklukları, diyabetes mellitus (DM) ve alkolizm gibi altta yatan belirli hastalıklar kişinin savunmasını bozabilir ve *K. pneumoniae* enfeksiyonu riskini artırabilir. *K. pneumoniae*, gram negatif bakteriyeminin, *Escherichia coli*'den sonra ikinci en sık nedenidir. *K. pneumoniae* genel popülasyonlarda önemli morbidite ve mortaliteye neden olur. Piyojenik beyin apsesi, menenjit ve endoftalmi gibi metastatik enfeksiyonlar *K. pneumoniae* enfeksiyonlarının en önemli özellikleridir (J. H. Wang vd., 1998).

Klebsiella pneumoniae karaciğer apsesi, Gram negatif basiller menenjit, beyin apsesi, akciğer apsesi, torasik ampiyem, prostat apsesi, derin boyun enfeksiyonu ve komplike cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarının başlıca nedenidir (J. H. Wang vd., 1998).

1.3.4.8. *Yersinia enterocolitica*

Yersinia enterocolitica, *Yersiniaceae* familyasına ait Gram negatif, basil şeklinde bir bakteridir. 22-29°C sıcaklıkta hareketlidir, ancak normal insan vücut sıcaklığında hareketsiz hale gelir. *Y. enterocolitica* enfeksiyonu, insanlarda olduğu kadar sığır, geyik, domuz ve kuş gibi çok çeşitli hayvanlarda da görülen, zoonoz (hayvansal kökenli) bir hastalık olan yersiniosis hastalığına neden olur. Bu hayvanların çoğu hastalıktan kurtulur ve taşıyıcı olur; bunlar hiçbir hastalık belirtisi göstermemelerine rağmen potansiyel bulaşma kaynaklarıdır. Bu bakteri, trimerik ototransporter adezinleri kullanarak hedef hücrelere yapışarak konakçıyı enfekte eder (Collins, 1996).

Y. enterocolitica'nın kuluçka süresi 3-10 gün arasında olup, enfeksiyon süresi genellikle 2-3 haftadır. Yabani ve evcil memelilerdeki klinik belirtiler oldukça değişkendir ve suşa ve biyoserotipin yanı sıra konukçu türlere de bağlıdır (örneğin, insanlarda ishal hastalığı daha sık gelişir). *Y. enterocolitica*, makrofajlar içinde yaşayan hücre içi bir patojendir; enfeksiyonlar, lenf düğümlerinde ve diğer lenfoid dokularda uzun bir süre devam edebilir. Spesifik istila bölgeleri ve hayatta kalma süreleri, bir dizi virülans faktörüne bağlıdır. *Y. enterocolitica*, insanlar dahil memelilerde ishale neden olan, ısıya dayanıklı bir enterotoksin üretir (Fredriksson-Ahomaa & Korkeala, 2003).

1.3.4.9. *Candida albicans*:

Candida albicans, gastrointestinal ve genitoüriner yollarda insanların yaklaşık %70 'inde zararsız bir ortak olarak var olan fırsatçı patojenik bir maya türüdür. Kadınların yaklaşık %75 'inin ömürlerinde en az bir kez *Candida* enfeksiyonundan muzdarip olduğu rapor edilmiştir (Sobel, 1999).

Bununla birlikte, bağışıklığı baskılanmış hastalar için, hatta bazı durumlarda sağlıklı kişiler için fırsatçı patojen haline gelir. *C. albicans*'ın neden olduğu enfeksiyon genellikle kandidiyazis olarak bilinir. Kandidiyazis, hastalığın ciddiyetine bağlı olarak iki kategoriye ayrılabilir. İlk kategoride mukozal enfeksiyonlardır ve bu mukozal enfeksiyonlar arasında en iyi bilinen, enfekte olmuş zarlardaki beyaz lekeler ile karakterize edilen pamukçuktur. Bu enfeksiyonlar genellikle gastrointestinal epitel hücrelerini, vajinal veya orofarengeal mukozayı etkiler. Ayrıca, vulvo vajinal kandidiyazis (VVC) kadınlar arasında oldukça yaygındır ve bazıları tekrarlayan vulvo vajinal kandidiyazis (RVVC) olarak bilinen bu enfeksiyonun tekrar tekrar oluşumu yaşanır. Bununla birlikte, *C. albicans*'tan dolayı sistemik kandidiyazis hastaları için yüzde 40 civarında bir ölüm oranı bildirilmiştir (Kabir vd., 2012).

İnsanlarda ve hayvanlarda izole edilen farklı *Candida* türleri farklı parazit aktivitelerine sahiptir. En patojenik tür, *Candida albicans*'dır ve ardından *Candida Tropicalis*'dir.(Soll vd., 1988)

1.3.4.10. *Aspergillus flavus*:

Aspergillus flavus fırsatçı bir patojen, mikotoksin üreticisi ve hububat ve gıda ürünleri kontaminantı olarak bilinen çevresel bir mantardır. Diğerlerinin yanı sıra derileri,

kumaşları, boyaları, kırık diyaliz torbaları, yumuşak kontakt lensleri, açık ilaçları da kontamine edebilirler (Amaiike & Keller, 2011).

Doğada yaygın olarak bulunur ve diğer cins ve türlerle birlikte organik maddenin ayrışmasında önemlidir. Bunlar, karbon ve nitrojen döngüsünde temel bir rol oynarlar. Bu cins, büyük metabolik çok yönlülüğün yanı sıra, konidiyasını yaymak için büyük bir kapasiteye sahiptir, çünkü konidiyal kafası 500.000'den fazla conidia (spor) üretebilir. Conidiasporlar havada yayılır ve birçok alt tabakaya ulaşabilir. Hatta çöllerde ve atmosferde yüksek seviyelerde bulunabilirler. Bu sebeple, sürekli maruz kalma durumunda aşırı duyarlılık nedeniyle herkes alerjik reaksiyonlara neden olabilir (Amaiike & Keller, 2011).

Ayrıca, fırsatçı bir patojen gibi davranarak, bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda ciddi enfeksiyonlara neden olabilir. Öte yandan *A. Flavus*, mısır, pirinç ve yer fıstığı gibi tahıl taneleri üzerinde gelişir, bunlar üzerinde sekonder metabolit olan zehirli maddeler üretir. Bunların arasında hem insanları hem de hayvanları etkileyen kanserojen hepatotoksinler ve aflatoksinler bulunmaktadır (Klich, 2007)

Aspergillus cinsi genel olarak anamorfik mikroorganizmalar (*Deuteromycetes*) olarak karakterize edilir; yani sadece eşeysiz olarak ürerler. Bununla birlikte, bazı türlerde *A. flavus* Telemorfik forumunda (*Ascomycetes*) bulunur ve eşeyli olarak ürerler. Koloni morfolojileri, gelişim gösterdikleri besiyeri ortamına bağlı olarak farklılık gösterir, granül, yünlü veya toz halinde görülebilirler. Kolonilerin renkleri de değişebilir, önce sarımsı, sonra sarı-yeşil tonlara, zamanla kahverengi-sarımsı gibi daha koyu tonlara dönüşürler. Koloninin arka tarafı renksiz veya sarımsı kahverengi olabilir. Globose vezikülün bulunduğu alt bölgede mikroskobik olarak 400 ila 800 µm uzunluğunda, kalın cidarlı ve pürüzlü bir görünüme sahip renksiz konidiyoforlar görülebilir (Michailides & Thomidis, 2007).

Aspergillus flavus 'un bir diğer önemli özelliği ise, ikincil metabolitler üretebilmeleridir. Bu, mantarın fizyolojik metabolizmasında doğrudan bir işleve sahip olmadıkları, aksine düşman bir ortam için bir savunma faktörü olarak hareket ettikleri anlamına gelmektedir. (Amaiike & Keller, 2011)

Aspergillus flavus'un sentezlediği en önemli sekonder metabolitlerden biri Aflatoksinlerdir ve yaygın olarak çeşitli tahıl ürünleri başta olmak üzere süt ve süt ürünleri ile meyve sularında saptanmıştır.

Aflatoksinlerin insan ve hayvanlarda oluşturduğu akut ve kronik seyirli mikotoksikoza aflatoksikoz denir. Aflatoksinlerin toksik etkileri hepatotoksisite, hepatokarsinojenite, nefrotoksisite, teratojenite, immun sistemin bozulması ile hastalıklara karşı yatkınlık, büyümenin yavaşlaması besin maddelerinden yararlanmanın azalması olarak sayılabilir.

Aspergillus flavus'un koloni morfolojisi ve *Aspergillus flavus* konidiosporların mikroskopik görünümü şekil 11 ve 12'de gösterilmiştir.



Şekil 10. *Aspergillus flavus*'un koloni morfolojisi



Şekil 11. *Aspergillus flavus* konidiosporların mikroskopik görünümü

2. BÖLÜM

MATERYAL VE METOT

2.1. Materyaller

2.1.1. Bitkisel Materyaller

Bu çalışmada bitki materyali olarak seçilen kara kekik (*Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum*), bilye kekiği (*Origanum onites* L. subsp. *Labiatae*) ve tarçın (*Cinnamomum verum*) baharatları Kayseri’de bulunan aktarlardan temin edilmiştir.

Bitkiler serin ve nemli olmayan dolaplarda muhafaza edilmiştir. Analizler için istenen bitkiden 100g alınıp öğütülerek kullanılmıştır.

2.1.2. Kimyasallar

Bu çalışmada kullanılan kimyasal maddeler yerel firmalardan temin edilmiştir. Kullanılan kimyasallar tablo 1’de belirtilmiştir.

Tablo 1. Kullanılan Kimyasalları ile ilgili bilgiler

Kimyasal	Marka	Kullanım
Etil alkol	Merck-109171	Dezenfeksiyon işlemlerinde
Askorbik asit	Merck-	Antimikrobiyal madde üretiminde
Malik asidi	Merck-	Antimikrobiyal madde üretiminde
Nutrient Broth	Millipore-105443	Kültürlerin geliştirilmesinde
Nutrient Agar	Millipore-105450	Kültürlerin geliştirilmesinde
Malt Extract Agar	Merck-146151	Kültürlerin geliştirilmesinde
SMAC Agar	Merck-	<i>Escherichia coli</i> O157 sayımında
BPLS Agar	Merck-	<i>Salmonella enterica</i> sv. Typhimurium sayımında
Baird-Parker agar	Merck-	<i>Staphylococcus aureus</i> sayımında
DRBC agar	Millipore-100466	<i>Candida albicans</i> ve <i>Aspergillus flavus</i>
Maximum Recovery Diluent	Merck-146809	Mikrobiyal Analizlerde
2,2-difenil-1-pikrilhidrazil(DPPH)	Sigma-Aldrich-	DPPH Analizinde

2.2. Metot ve Analizler

2.2.1. Sulu ekstraksiyon

Her bir aromatik bitkiden 100 g, Clevenger tipi bir aparat ile hidro-damıtma işlemine tabi tutulmuştur ve 1 saat boyunca 1 L su ile ekstrakte edilmiştir. Daha sonra toplanan uçucu yağ kısmı ayrıştırıldıktan sonra altta kalan sulu kısım ayrı bir tüpe alınmıştır ve analizlerde kullanmak üzere +4°C'de saklanmıştır (Lucchesi vd., 2004).

Elde edilen hidrozoller:

Tarçın hidrozolu **TH**, kara kekik hidrozolu **KKH** ve izmir kekiği hidrozolu **İKH** olarak kodlandırılmıştır.

Tarçın hidrozolüne %3 askorbik asidin eklenmesiyle elde edilen antimikrobiyal maddeye **THC** ve %3 malik asidin eklenmesiyle elde edilen antimikrobiyal maddeye ise **THM** kodları verilmiştir.

2.2.2. Hidrozol bileşenlerin analizi

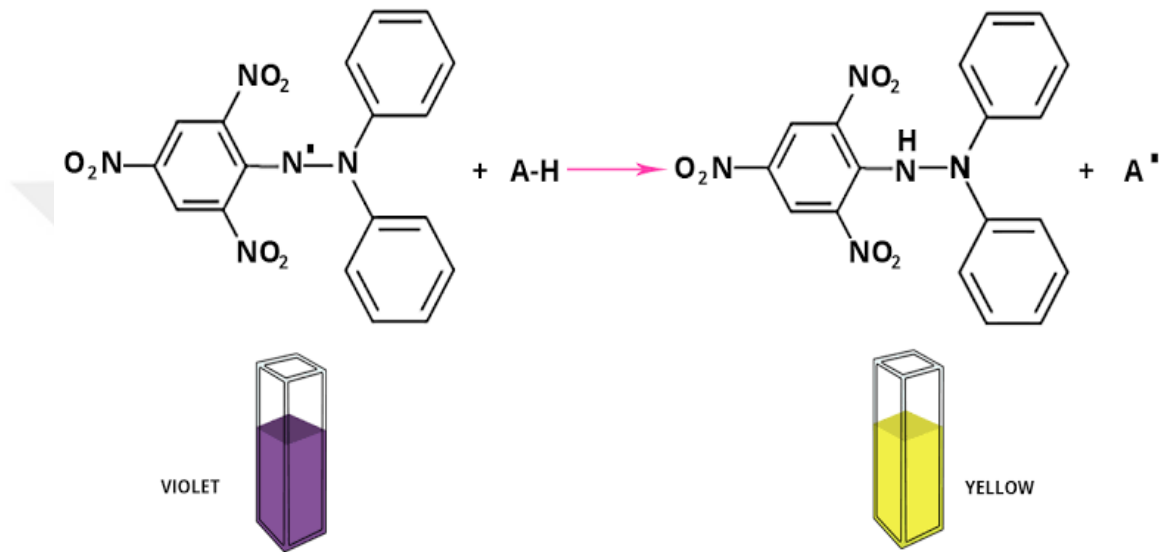
TH, KKH ve İKM örneklerinden 20 µl alarak 2ml hekzan içerisinde çözdürülmüş ve uçucu yağların kısmi bileşenleri belirlemek amacıyla Thermo Scientific marka GC-MS cihazında TG-5MS (düşük polarite, %5 difenil %95 dimetil polisiloksan, 0,25mm x 30m, 0,25µm film tabakası kalınlığı) kolonu kullanılarak test edilmiştir. Analizde taşıyıcı gaz olarak 1mL/dk akış hızındaki helyum kullanılmıştır. Kolon sıcaklığı 0.67 dk boyunca 3°C/dk artışla 50°C'tan 160°C'e kadar çıkacak sonra 5dk boyunca 5°C/dk artışla 160°C'tan 250°C'a kadar yükseltilecek şekilde programlanmıştır (Mesaros vd., 2009). Ayrılmış bileşenler WILEY-NIST (12th Edition, 2020) gaz kromatografisi kütle spektral kütüphanesindeki veriler ile kıyaslanarak tanımlanmıştır.

2.2.3. Antioksidan kapasite testi: DPPH Analizi

Antiradikal aktivite analizi 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikali kullanılarak yapılmıştır. DPPH radikal çözeltisi, %80 etanol ve %20 damıtılmış su ile hazırlanmıştır. 30 mL numune ve 270 mL DPPH solüsyonu karıştırılmıştır. 5 dakika kuvvetlice çalkalanacak ve karanlıkta oda sıcaklığında 55 dakika bekletilmiştir. Ardından mikro okuyucu (Multi-scan FC, Tehrmo Fisher, ABD) ile 520 nm'de absorbansı ölçülmüştür. Kontrol olarak %3'lük (v/v) askorbik asit kullanılmıştır (G. Öztürk vd., 2019). 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil'in oksidasyonu şekil 13'te gösterilmiştir.

TH, KKH, İKH, THC ve THM örnekleri için radikal süpürme aktivitesi, aşağıdaki denklem kullanılarak yüzde inhibisyon olarak ifade edilecektir:

$$\% \text{İnhibisyon} = ((\text{kontrol örneğin absorbansı} - \text{ekstraktın absorbansı}) / \text{kontrol örneğin absorbansı}) * 100$$



Şekil 12. 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil'in oksidasyonu

2.2.4. Antimikrobiyal testler

Antimikrobiyal maddenin etkinliğini test etmek amacıyla tablo 1'deki mikroorganizmalar kullanılmıştır:

Tablo 2. Çalışmada kullanılan test mikroorganizmaları

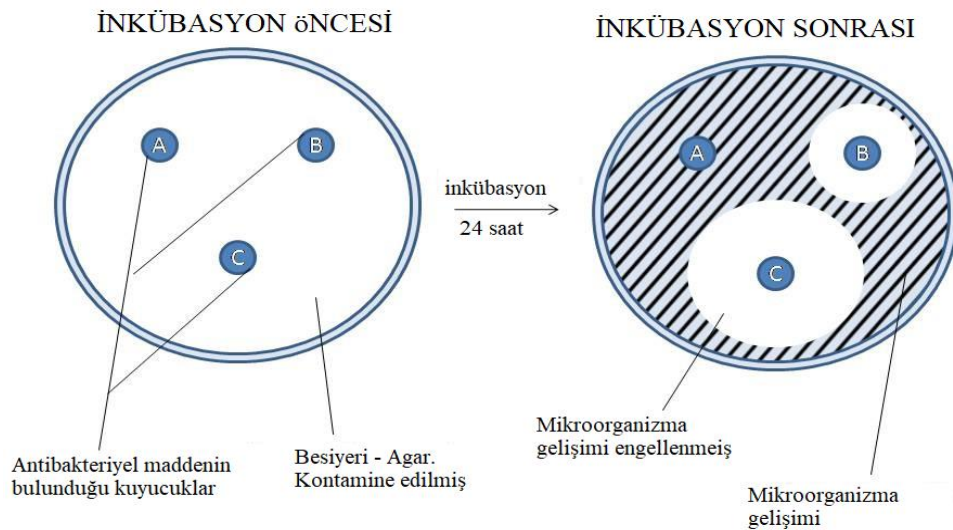
Mikroorganizma adı	Suş kodu
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	ATCC 43895
<i>Escherichia coli</i> 11230	ATTC 11230
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATTC 25923
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 33019
<i>Salmonella enterica</i> sv. Typhimurium	ATCC 14028
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC 7644

Tablo 3. Çalışmada kullanılan test mikroorganizmalarının devamı

<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 8427
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 29906
<i>Yersinia enterocolitica</i>	ATCC 9610
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 43816
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231
<i>Aspergillus flavus</i>	ATCC 9643

2.2.4.1 Agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile hidrozollerin antimikrobiyal etkinliğinin test edilmesi

Agar well difüzyon yöntemi, TH, KKH, İKH, THC ve THM örneklerin antimikrobiyal aktivitesini değerlendirmek için kullanılmıştır. Disk difüzyon yönteminde kullanılan prosedüre benzer şekilde, agar plaka yüzeyi, tüm agar yüzeyine 100 µL hacimde (yaklaşık 10^6 - 10^7 kob/mL) mikrobiyal inokulum yayılarak uygulanmıştır. Daha sonra, 4 mm çapında bir kuyucuk, steril bir mantar delici ile aseptik olarak açılmıştır ve istenen konsantrasyonda ekstrakt solüsyonundan belirli hacim (100 µL) de kuyucuğa aktarılmıştır. Daha sonra test mikroorganizmasına bağlı olarak uygun koşullarda petriler inkübe edilmiştir ve oluşan zon çapları (mm) ölçülmüştür (Balouiri vd., 2016). Agar kuyucuk difüzyon yöntem şeması şekil 14'te gösterilmiştir.



Şekil 13. Agar kuyucuk difüzyon yöntem şeması

2.2.4.2 Minimum İnhibitör Konsantrasyonu Analizi

Farklı konsantrasyonlarda denenen ve antimikrobiyal bileşenin mikrobiyal gelişimi tamamen durdurduğu en düşük konsantrasyon Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu 16 (MİK) olarak tanımlanmaktadır.

Bu çalışmada üç farklı örneğin (TH, THC, THM) minimum inhibisyon konsantrasyonu analizi, Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü'nün belirlediği broth mikrodilüsyon (96 kuyucuklu mikrodilüsyon plakları ile) yöntemi kullanılarak yapılmıştır (Wiegand vd., 2008).

-80°C'de bulunan stok mikroorganizma çözeltileri, oda sıcaklığına getirilerek çözölmeleri sağlanmıştır. Öze ile alınan örnekler Nutrient agar ve Malt ekstrat agar besiyerlerine ekilerek 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Ardından, bu besiyerlerinden bir pasaj yeni besiyerlerine aktarılmış ve aynı süre ve sıcaklıkta inkübe edilmiştir.

Gelişen mikroorganizmaların MRD (Maximum Recovery Diluent) çözeltilisinde süspansiyonu hazırlanmıştır. Bakteriyel süspansiyonun türbiditesi McFarland cihazı ile 0.5'e ayarlanmıştır (yaklaşık 10^7 - 10^8 kob/mL).

Hidrozollerin dimetil sülfoksit kullanarak dilüsyonları hazırlanmıştır. 96 kuyucuklu mikrodilüsyon plakların ilk iki sütunu sterilite kontrolü ve gelişme kontrolü için ayarlanmıştır ve kalan sütunlerde 7 konsantrasyon olacak şekilde (250 µg/mL, 187.5 µg/mL, 125 µg/mL, 62.5 µg/mL, 25 µg/mL, 12,5 µg/mL, 5 µg/L) örnek ve eşit miktarda mikroorganizma inokulum Muller Hinton broth'a eklenmiştir. 96 kuyucuklu plakların üzeri steril etiket ile kapatılarak 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (Wiegand vd., 2008).

Her mikroorganizma için MİK değeri, görünür gelişmeyi inhibe eden örnek konsantrasyonu olarak kaydedilmiştir.

Minimum inhibitör konsantrasyonu analizin şeması şekil 15'te gösterilmiştir.

2.2.7. Model bir gıda ürünü olan kaşar peynirinde antimikrobiyal madde uygulaması

Antimikrobiyal maddenin gıda örneklerine karşı koruyucu etkisinin araştırılması için 5 farklı patojen (*Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* sv. *Typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* ve *Aspergillus flavus*) mikroorganizma ile bulaştırılmış kaşar peyniri örnekleri TH, THC ve THM ile yıkama işlemi yapıp inhibisyon dereceleri ölçülmüştür.

2.2.7.1. Kaşar örneklerinin hazırlaması ve mikroorganizmaların inokülasyon aşaması

Kaşar peynir numuneleri, steril bir bıçakla parçalara (1 x 1 cm², yaklaşık 1 g) kesilmiştir. Bu çalışmada, ilk aşılama konsantrasyonu, kullanılan tüm test mikroorganizmalar için yaklaşık 10⁸ kob/mL olarak ayarlanmıştır. Her inokulum süspansiyonu, nutrient broth çözeltilisinden 20 mL alarak MRD çözeltilisine ekleyerek hazırlanmıştır (Merck, Darmstadt, Almanya). Rendelenmiş peynir parçaları (her biri 50 g) inokulum çözeltililerine batırılmıştır (örnek: inokulum oranı 1: 5, kütle / hacim). İnokulumu homojen bir şekilde dağıtmak için 22 ± 2°C.'de 1 dakika boyunca çalkalanıp buzdolabında muhafaza edilmiştir.

2.2.7.2. Kaşar örneklerinin yıkanması

Aşılanan peynir kesilmiş parçalarının yıkanması, numuneleri (50 g), 0, 15, 30 ve 45 dakika boyunca her bir antimikrobiyal madde (TH, THC, THM) içeren steril şişelerde batırılarak gerçekleştirilmiştir. Kontrol örnekleri steril musluk suyuna batırılmıştır. Şişeler, numunelerin eklenmesinden sonra kapatılmış ve inkübasyon süresi boyunca 5 dakikalık aralıklarla nazikçe çalkalamaya tabi tutulmuştur.

2.2.7.3. Mikrobiyal sayımlar ve inhibisyon düzeylerin belirlenmesi

Her test mikroorganizması için yapılan hidrozol muamelesinin sonunda, her biri için 10 g kaşar peynir numunesi steril şişelere aktarılmıştır, 90 ml steril pepton su çözeltisi ile birleştirilmiştir ve 1 dakika boyunca kuvvetlice vorteksenmiştir. Çözelti (1 mL), 9 ml steril maximum recovery dilüent (MRD) çözeltisi (Merck, Darmstadt, Almanya) içeren test tüplerinde seri olarak dilüsyonlar hazırlanmıştır ve her mikroorganizma için uygun şekilde ekim ve sayım işleri gerçekleştirilmiştir.

2.2.7.3.1. *Escheriachia coli* O157 sayımı

Escheriachia coli O157:H7 sayımı için, içerisinde daha önceden dökülmüş katı SMAC (sorbitol MacConkey) Agar bulunan petrilere uygun dilüsyonlardan yayma plak yöntemi ile ekim yapılmıştır. Daha petriler anaerobik ortamda 37°C’de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası gelişen koloniler sayılıp not alınmıştır (Aytaç & Ye, 2001).

2.2.7.3.2. *Salmonella enterica* sv. *Typhimurium* sayımı

Salmonella enterica sv. *Typhimurium* sayımı için, uygun dilüsyonlarda steril petri kutularına yayma plak yöntemi ile ekim yapılmıştır. Besiyeri olarak BPLS Agar (Brilliant-green Phenol-red Lactose Sucrose Agar) kullanılmış olup, petriler 37°C’de 24 saat süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası besiyerinde gelişen tipik koloniler sayılmıştır (Nikbakht & Sani, 2016).

2.2.7.3.3. *Staphylococcus aureus* sayımı

Staphylococcus aureus sayımı için, uygun dilüsyonlarda steril petri kutularına yayma plak yöntemi ile ekim yapılmıştır. Besiyeri olarak Baird-Parker Agar kullanılmış olup, petriler 37°C’de 24 saat süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası besiyerinde gelişen siyah renkli ve etrafında berrak zon olan koloniler sayılmıştır (Bingöl & Özmen Toğay, 2017).

2.2.7.3.4. *Candida albicans* sayımı

Candida albicans sayımı için önceden besiyeri dökülmüş petrilere desimal dilüsyonlardan yayma plak yöntemiyle ekim yapılmıştır. *Candida albicans* sayımında Rose Bengal Chloramphenicol (RBC) Agar (Merck) besiyeri kullanılmıştır. Ekim yapılan petriler 28°C’de 5 gün inkübe edilmiştir. Gelişen tipik beyaz kolonilerin sayımı yapılmıştır (King vd., 1979).

2.2.7.3.5. *Aspergillus flavus* sayımı

Aspergillus flavus sayımı için *Candida albicans* sayımında kullanılan aynı yöntem kullanılmıştır (King vd., 1979).

2.2.8. İstatistiksel analizler

Araştırma sırasında elde edilen mikrobiyolojik ve duyuşal özelliklerde meydana gelen değişmeler tekrarlanan ölçümler Varyans Analiz Tekniği (ANOVA) uygulanarak değerlendirilmiştir. Sonuçlara ait farklılıklar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile analiz edilmiştir. Analizlerde SPSS programı kullanılmıştır. Çalışma iki tekerrür ve analizler her tekerrürde iki paralel şekilde gerçekleştirilmiştir (Düzgüneş vd., 1987).



3. BÖLÜM

BULGULAR

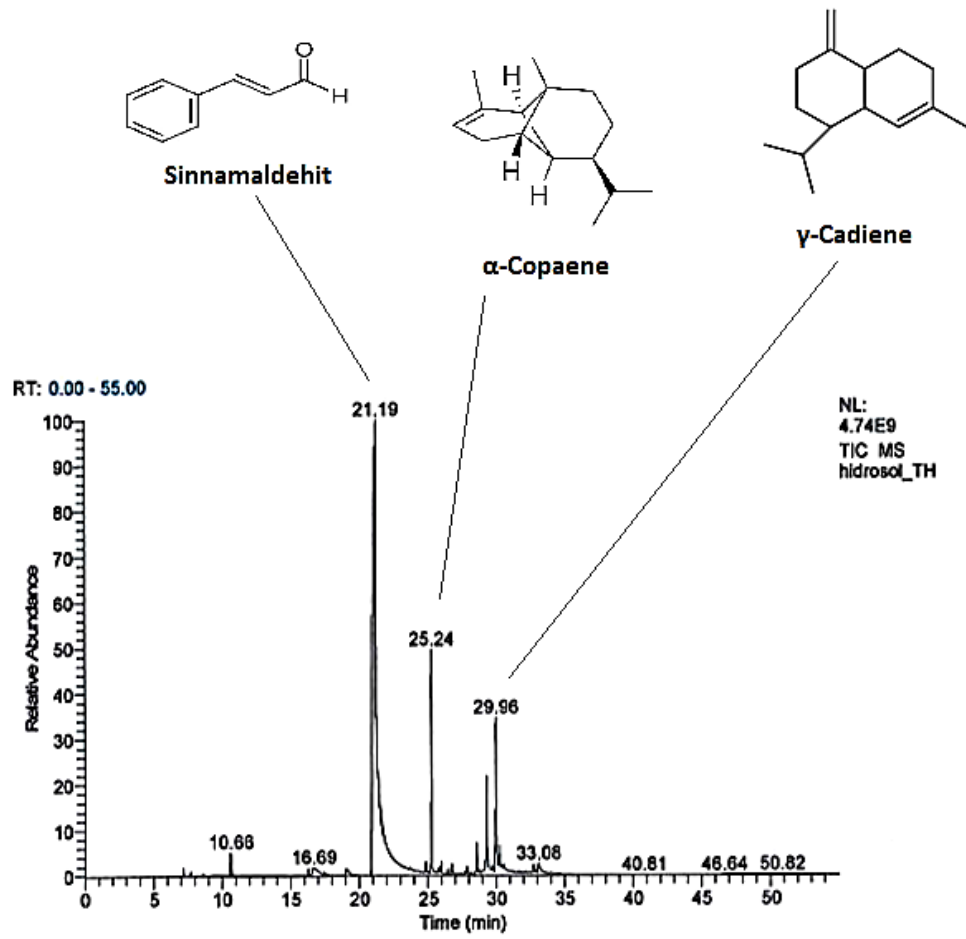
3.1. GC-MS Uçucu Yağ Analizi Sonuçları

3.1.1. Tarçın Hidrozolün GC-MS Analiz Sonuçları

Tarçın hidrosolünde, GC-MS kromatografi yöntemiyle tespit edilen 18 adet bileşen tablo 3'ta, kromatogram ise şekil 16'da gösterilmiştir.

Tablo 4. GC-MS analizi sonucunda tespit edilen Tarçın hidrozolünün bileşenleri

RT	Bileşen ismi	% Alan
7.21	α -Pinene	0.29
7.70	Camphene	0.17
8.66	2- β -Pinene	0.09
9.66	Benzaldehyde	0.23
10.67	1,8-Cineole	1.00
15.96	2-Metylbenzofurane	0.10
16.32	Borneol	0.30
16.71	Benzenepropanal	1.90
21.19	Cinnamaldehyde	76.66
25.24	α -Copaene	9.71
25.96	Sativen	1.04
26.46	İsosativene	0.26
26.77	Caryophyllene	0.45
27.09	Germacrene-D	0.02
27.41	Aromadendrene	0.08
27.86	α -Humulene	0.49
28.09	α -Muurolene	0.13
29.96	γ -Cadiene	7.08



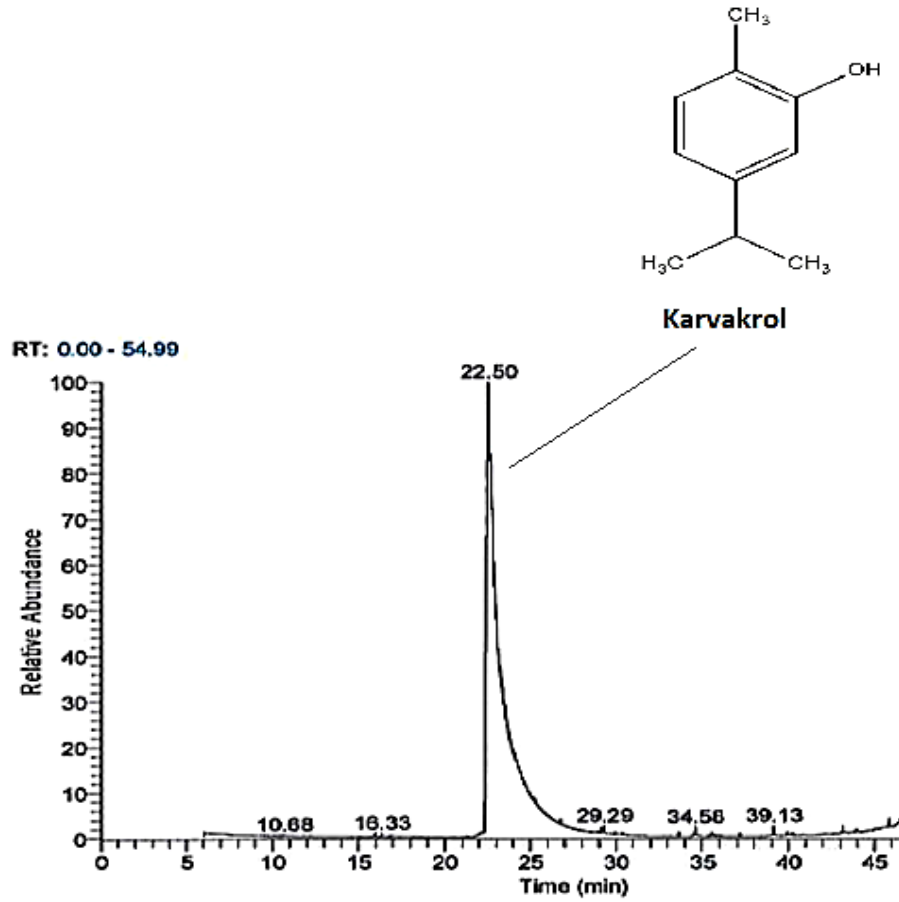
Şekil 15. GC-MS analizi sonucunda elde edilen Tarçın hidrozoölüne ait kromatogramı

3.1.2. Kara kekik hidrozoölü GC-MS Analiz Sonuçları

Kara kekik hidrozoöl numunesi GC-MS test sonuçlarına göre % bileşen dağılımı tablo 4’te, kromatogram ise şekil 17’de sunulmuştur.

Tablo 5. GC-MS analizi sonucunda tespit edilen Kara kekik hidrozoölünün bileşenleri

RT	Bileşen İsmi	% Alan
16.35	Borneol	0.07
16.89	4-terpineol	0.04
21.31	Tetradecane 2,6,10-trimethyl	0.02
22.50	Karvakrol	99.67
39.13	Docosane	0.19



Şekil 16. GC-MS analizi sonucunda elde edilen Kara kekik hidrozolünün Kromatogramı

3.1.3 İzmir kekiği hidrozolü GC-MS Analiz Sonuçları

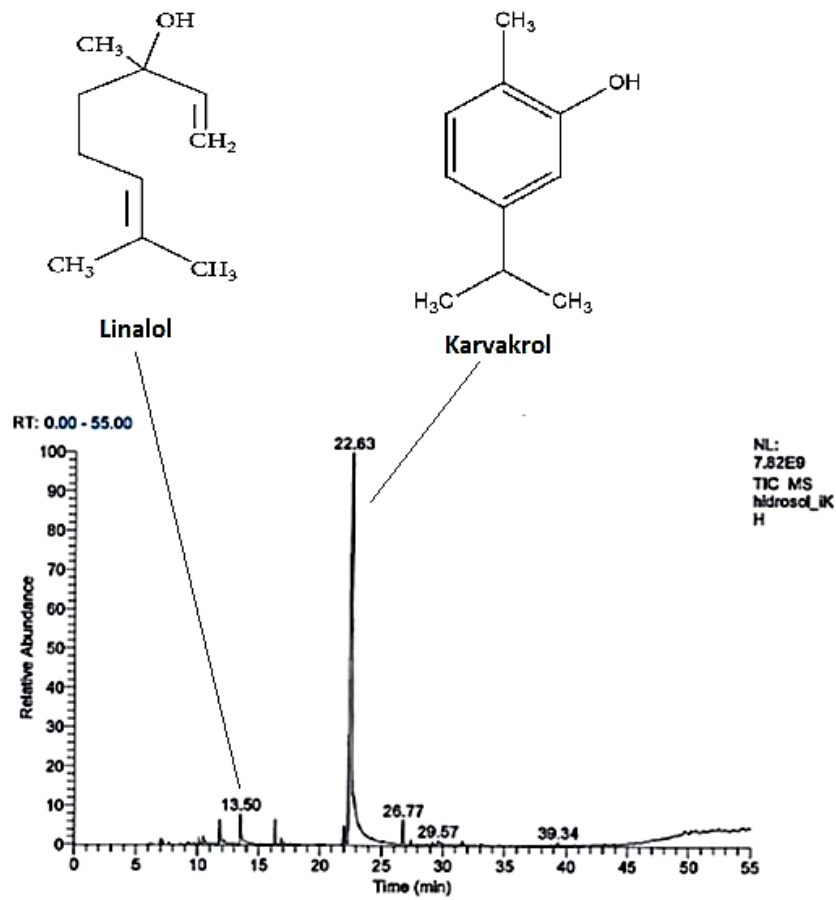
GC-MS analizi sonucunda İzmir kekiği hidrozol numunesine ait tespit edilen % bileşen tablosu tablo 5'te sunulurken, buna ait kromatogram ise, şekil 18'de gösterilmiştir.

Tablo 6. GC-MS analizi sonucunda tespit edilen İzmir kekiği hidrozolünün bileşenleri

RT	Bileşen ismi	% Alan
6.99	Thujene	0.27
7.21	α -Pienne	0.23
9.20	β -Myrcene	0.32
10.14	α -Humulene-	0.47
10.45	o-Cymene	0.99
11.82	γ -terpinen	2.33
13.52	Linalool	2.88
16.32	Borneol	2.06
16.86	4-Terpineol	0.87
17.55	α -Terpineol	0.17
19.97	Carvone	0.20
22.01	Thymol	1.88
22.63	Karvakrol	84.15

Tablo 7. GC-MS analizi sonucunda tespit edilen İzmir kekiği hidrozolünün bileşenlerin devamı

26.77	Trans-caryophyllene-	1.28
27.42	Aromadentrene	0.29
29.60	β -Bisabonene	0.82
31.60	Caryophyllene oxide	0.53
33.08	γ -Cadino	0.27



Şekil 17. GC-MS analizi sonucunda elde edilen İzmir kekiği hidrozolüne ait kromatogramı

3.2. DPPH Analiz Sonuçları

Hidrozollerin DPPH serbest radikalini temizleme veya (%) inhibisyon sonuçları, standart sapmalarıyla birlikte Tablo 6’da sunulmuştur.

Serbest radikal süpürücü aktivite yöntemi, maddelerin serbest radikal süpürücüler veya hidrojen verici olarak hareket etme kabiliyetini belirlemek için yaygın olarak kullanılmaktadır.

DPPH ilavesi üzerine bir kimyasal reaksiyonun hızındaki azalma, o reaksiyonun radikal doğasının bir göstergesi olarak kullanılır. 520 nm civarındaki güçlü bir absorpsiyon bandı nedeniyle, solüsyonda koyu mor bir renge sahip olan DPPH radikali nötralize edildiğinde renksiz veya soluk sarı bir renge dönüşür (G. Öztürk vd., 2019).

Örneklerin serbest radikalini temizleme kapasitesi %22,77-%94,56 aralığında değişiklik göstermiştir ve toplam sıralama bu şekilde verilebilmektedir: THC> kontrol (%3'luk askorbik asit)> İKH> KKH> THM> TH.

Tablo 8. DPPH Analizi sonucunda tez çalışması kapsamında çalışılan numunelere ait inhibisyon sonuçları (inhibisyon yüzdesi $\pm$ standart sapma).

Numune	İnhibisyon değeri
KKH (Kara kekik hidrozölü)	72.95 $\pm$ 0.40
İKH (İzmir kekiği hidrozölü)	73.21 $\pm$ 0.62
TH (Tarçın hidrozölü)	22.77 $\pm$ 0.54
THM (Tarçın hidrozölü + %3 malik asit)	30.54 $\pm$ 3.20
THC (Tarçın hidrozölü + %3 askorbik asit)	94.63 $\pm$ 0.42
Kontrol (%3 askorbik asit)	74.12 $\pm$ 0.13

Absorbans ortalama değerlerine göre defne (*Laurus nobilis*), karanfil (*Syzygium aromaticum*) ve tarçın (*Cinnamomum verum*) esansiyel yağlarının DPPH değerleri şu şekilde hesaplanmıştır:

$$\% \text{İnhibasyon Kara kekik hidrozölü} = \frac{(2.0158) - (0.5453) * 100}{2.0158} = \%72,95$$

$$\% \text{İnhibasyon İzmir kekiği hidrozölü} = \frac{(2.0158) - (0.5401) * 100}{2.0158} = \%73,21$$

$$\% \text{İnhibasyon Tarçın hidrozölü} = \frac{(2.0158) - (1.55036) * 100}{2.0158} = \%22,77$$

$$\% \text{İnhibasyon THM} = \frac{(2.0158) - (1.4002) * 100}{2.0158} = \%30,54$$

$$\% \text{İnhibasyon THC} = \frac{(2.0158) - (0.1076) * 100}{2.0158} = \%94,63$$

3.3. Hidrozollerin antimikrobiyal etkinliğinin test edilmesi

3.3.1. Agar kuyucuk difüzyon Analizin sonuçları

TH, İKH, KKH, THC ve THM örneklerinin test mikroorganizmalarına karşı inhibisyon çapları tablo 7’de gösterilmiştir. Ayrıca Agar kuyucuk difüzyon Analizin grafiksel sonuçları şekil 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, ve 30’da gösterilmiştir.

Tablodaki değerler 2 aşamada değerlendirilmiştir. Değerlendirmenin ilk kısmında, tarçın, izmir kekiği ve kara kekik hidrozollerinin antimikrobiyal kapasitesi incelenmiştir. İkinci aşamada ise, tarçın hidrozolü ve tarçın hidrozolünden üretilen THC ve THM karışımlarının antimikrobiyal kapasiteleri karşılaştırılmıştır.

Bu analizde hidrozollerin geniş spektrumlu antimikrobiyal etkisi 12 adet mikroorganizmaya karşı test edilmiştir.

Test mikroorganizmalar bu şekilde sınıflandırılmıştır:

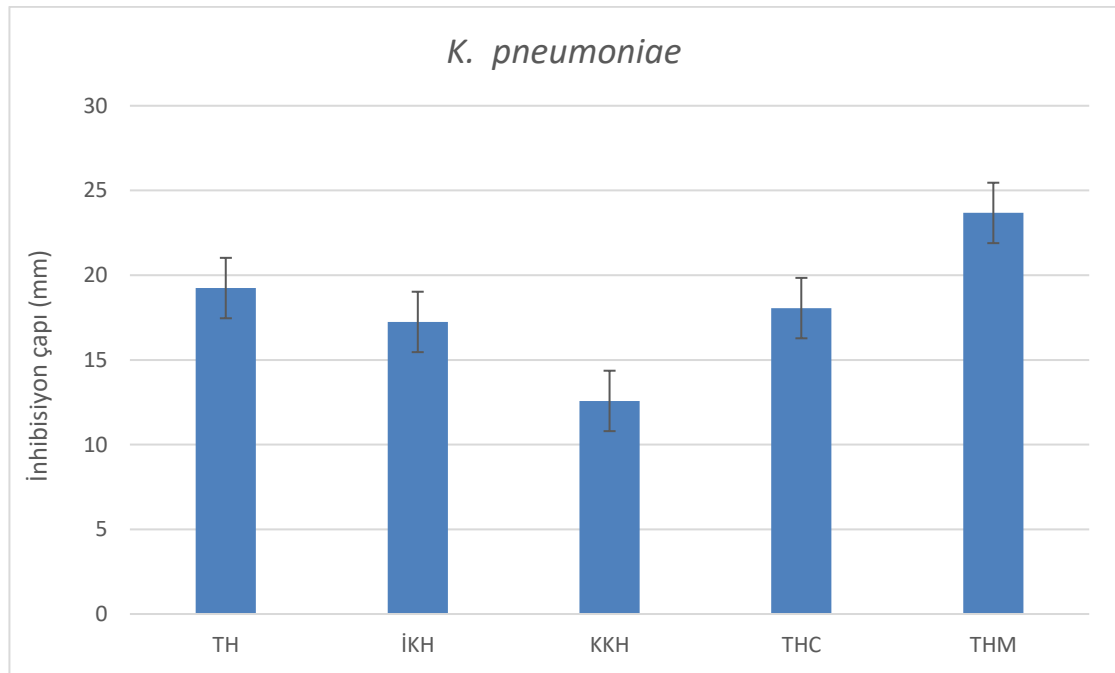
- Gram negatif bakteri: *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella enterica* sv. *Typhimurium*.
- Gram pozitif bakteri: *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* (sporlu), *Staphylococcus aureus*.
- Maya: *Candida albicans*
- Küf: *Aspergillus flavus*

CLSI standartlarına göre agar difiziyon testinde antimikrobiyal maddenin mikroorganizmaya karşı oluşturduğu inhibisyon çapı:

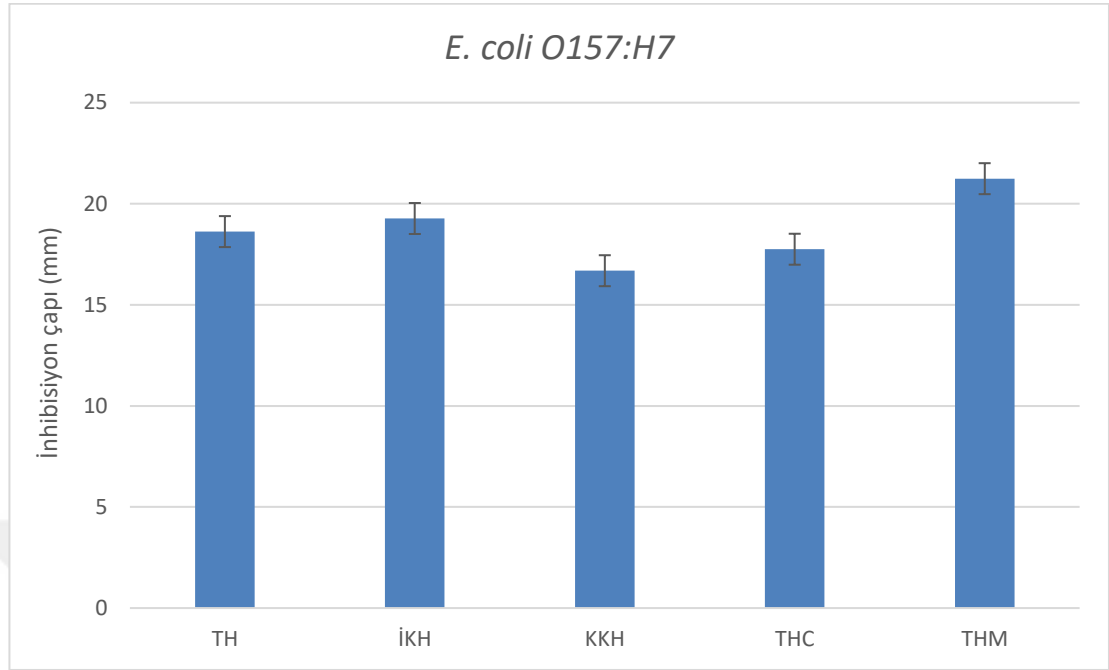
- $\leq 14\text{mm}$ ise mikroorganizma bu maddeye dirençlidir.
- 15–19mm arasında ise mikroorganizma bu maddeye orta seviyede duyarlıdır.
- $\geq 20\text{mm}$ ise mikroorganizma bu maddeye duyarlı olarak değerlendirilmektedir (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012).

Tablo 9. Hidrozol numunelerine ait antimikrobiyal etkinlik test sonuçları (inhibisyon zonu (mm) $\pm$ standart sapma)

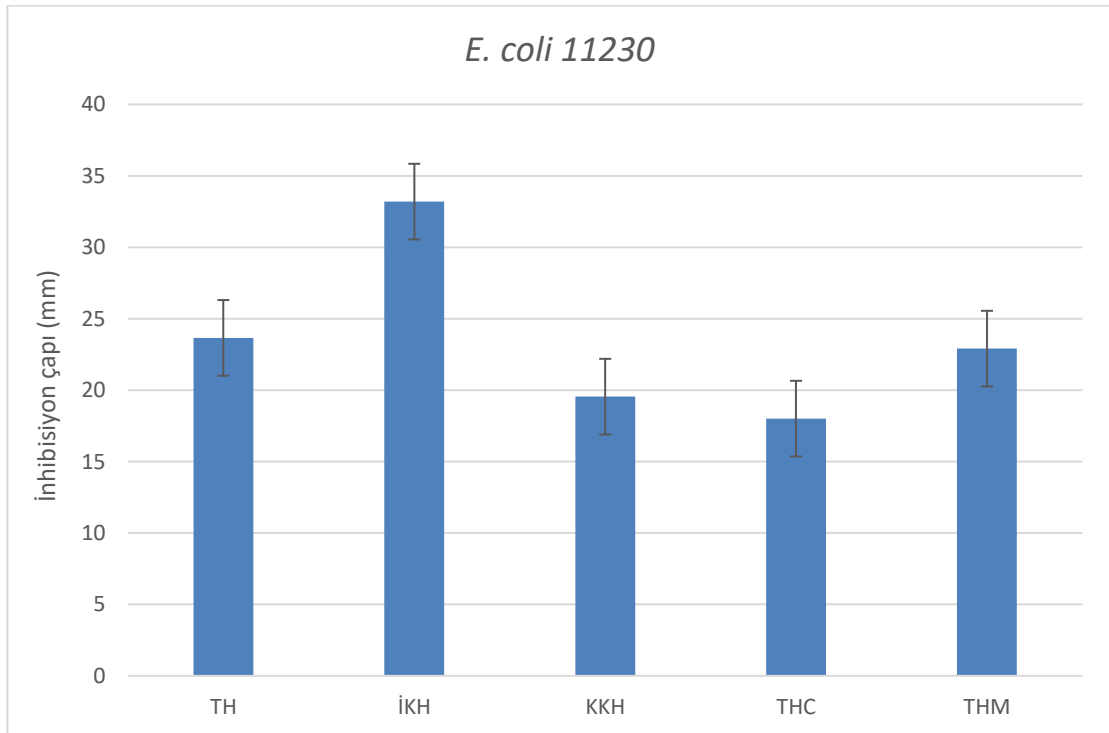
Mikroorganizma	İnhibisyon zonu (mm)				
	TH	İKH	KKH	THC	THM
<i>K. pneumoniae</i>	19.24 $\pm$ 1.7	17.24 $\pm$ 0.4	12.57 $\pm$ 0.1	18.05 $\pm$ 0.3	23.67 $\pm$ 0.6
<i>E. coli O157:H7</i>	18.62 $\pm$ 0.9	19.27 $\pm$ 2.2	16.68 $\pm$ 1.2	17.75 $\pm$ 0.5	21.24 $\pm$ 0.3
<i>E. coli 11230</i>	23.65 $\pm$ 1.5	33.19 $\pm$ 2.4	19.54 $\pm$ 1.9	18.00 $\pm$ 0.4	22.90 $\pm$ 0.7
<i>P. mirabilis</i>	16.97 $\pm$ 0.3	18.45 $\pm$ 0.9	17.97 $\pm$ 1.1	17.78 $\pm$ 0.1	16.61 $\pm$ 0.2
<i>P. vulgaris</i>	17.14 $\pm$ 1.1	17.23 $\pm$ 1.5	27.97 $\pm$ 0.5	16.93 $\pm$ 0.6	20.10 $\pm$ 0.4
<i>Salmonella enterica</i> sv. <i>Typhimurium</i>	17.19 $\pm$ 0.7	17.76 $\pm$ 0.8	15.53 $\pm$ 1.4	19.12 $\pm$ 0.3	20.58 $\pm$ 1.5
<i>Y. enterocolitica</i>	18.53 $\pm$ 0.5	18.14 $\pm$ 0.2	17.20 $\pm$ 0.3	17.76 $\pm$ 0.6	22.40 $\pm$ 0.4
<i>B. cereus</i>	20.11 $\pm$ 0.4	24.18 $\pm$ 1.1	10.59 $\pm$ 0.1	17.66 $\pm$ 0.5	22.06 $\pm$ 0.5
<i>S. aureus</i>	20.06 $\pm$ 1.2	28.14 $\pm$ 1.8	20.16 $\pm$ 1.6	20.00 $\pm$ 0.5	21.87 $\pm$ 1.1
<i>L. monocytogenes</i>	18.24 $\pm$ 0.8	22.67 $\pm$ 0.5	19.65 $\pm$ 0.3	24.25 $\pm$ 0.3	27.62 $\pm$ 0.5
<i>C. albicans</i>	34.06 $\pm$ 2.0	25.06 $\pm$ 2.2	23.98 $\pm$ 1.7	33.57 $\pm$ 1.1	34.17 $\pm$ 1.4
<i>A. flavus</i>	26.23 $\pm$ 0.5	17.44 $\pm$ 1.1	13.08 $\pm$ 0.3	22.20 $\pm$ 1.2	26.21 $\pm$ 0.5



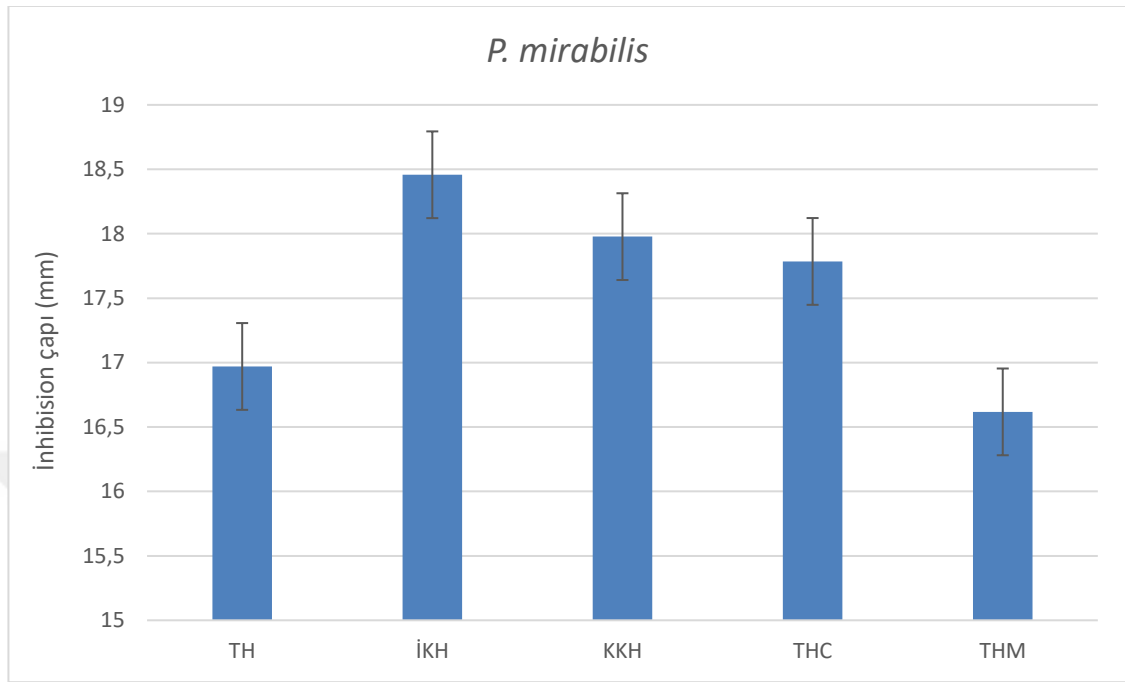
Şekil 18. *K. Pneumoniae* 'nin agar kuyucuk difüzyon Analizi sonuçları



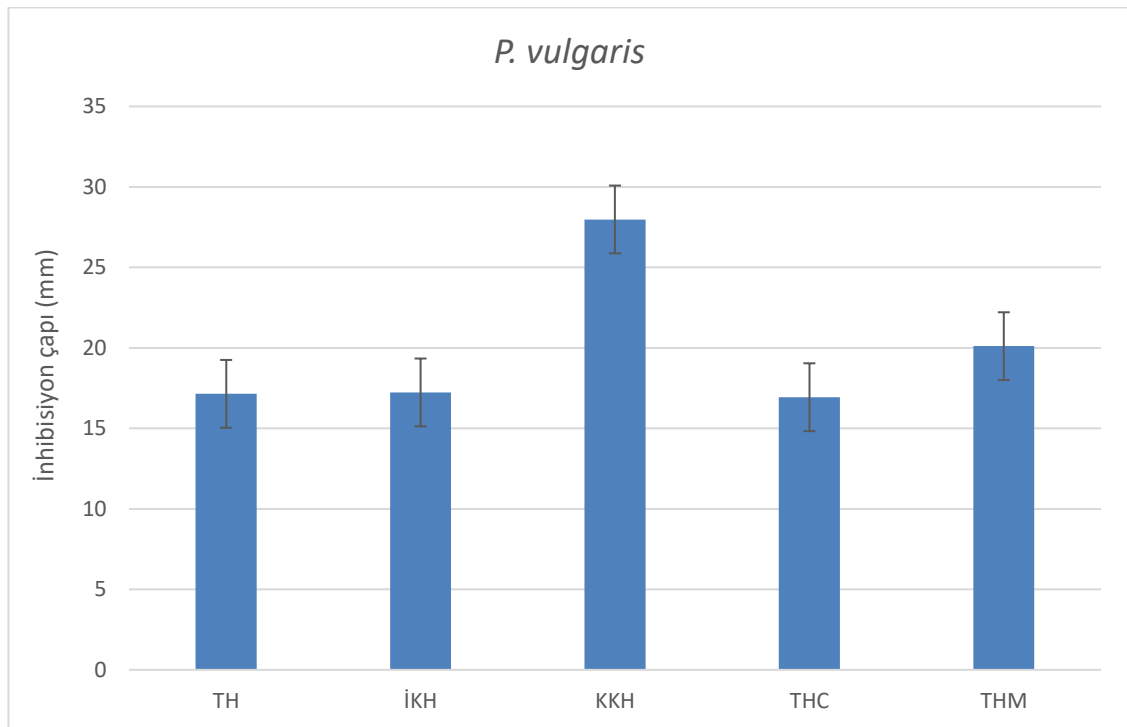
Şekil 19. *E. coli* O157:H7 'nin agar kuyucuk difüzyon Analizi sonuçları



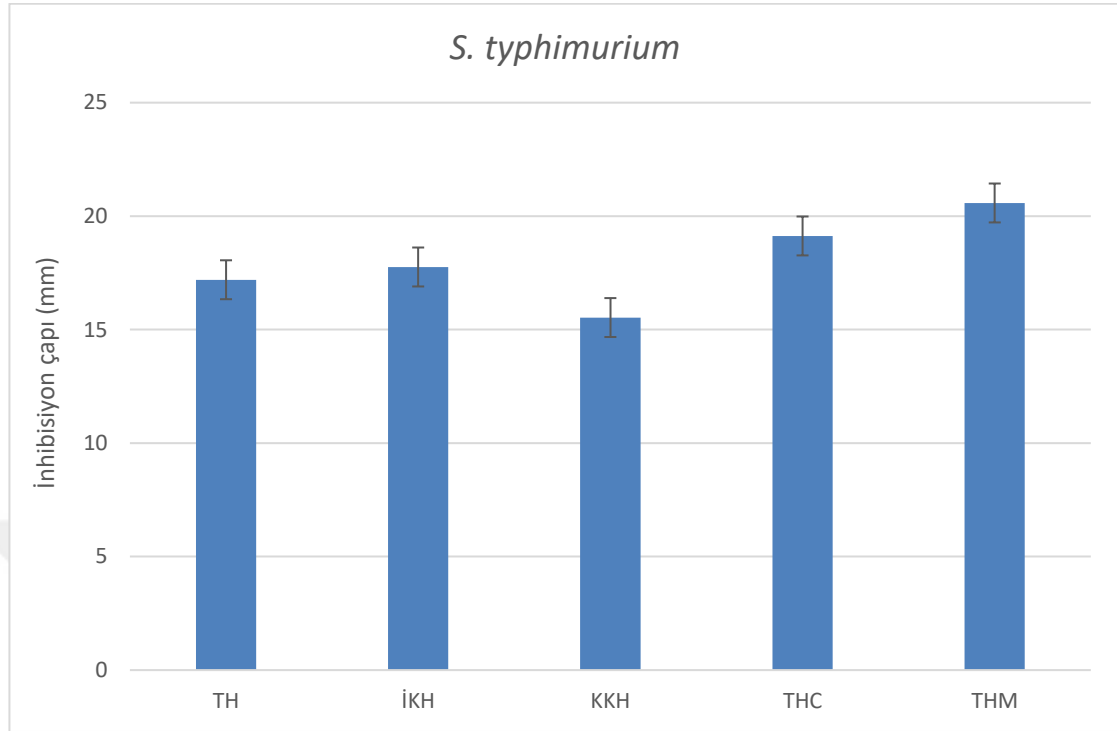
Şekil 20. *E. coli* 11230 'un agar kuyucuk difüzyon Analizi sonuçları



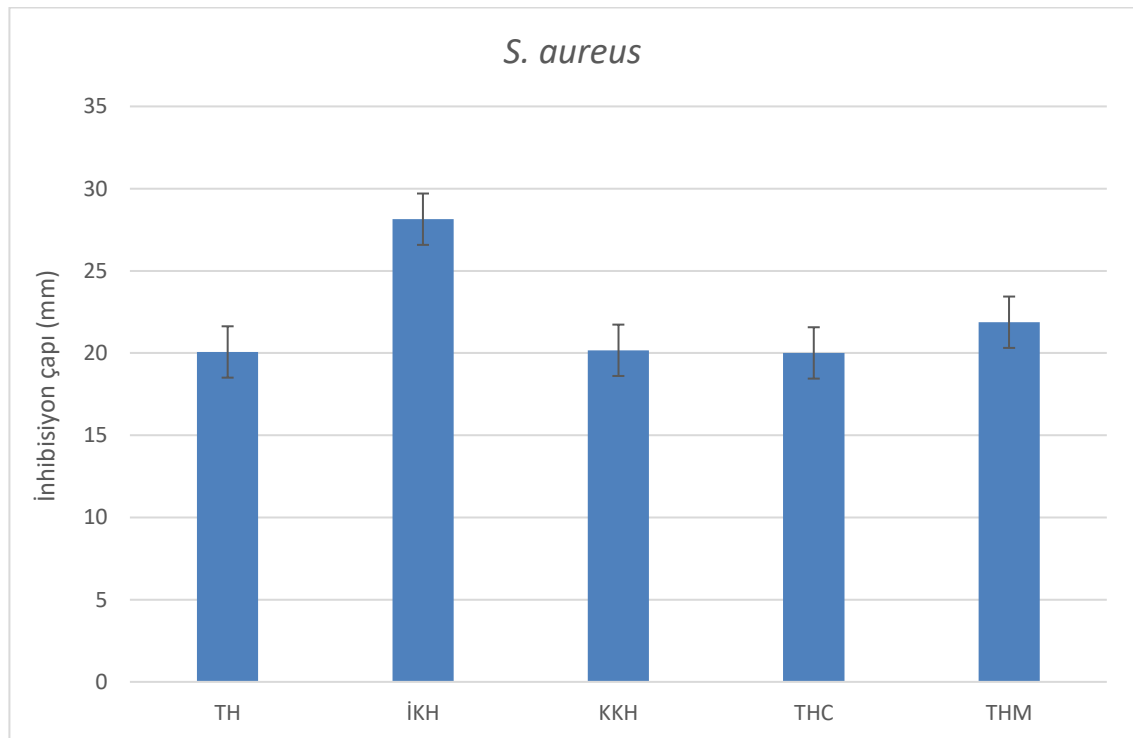
Şekil 21. *P. mirabilis* 'in agar kuyucuk difüzyon Analizi sonuçları



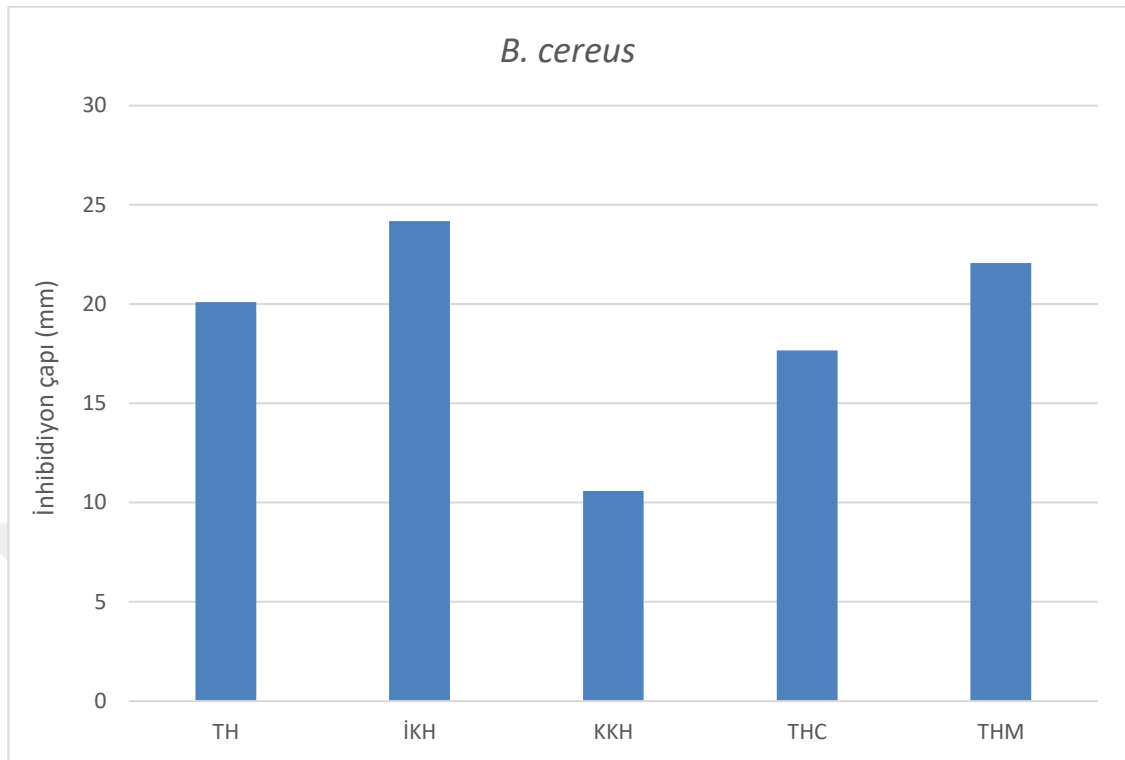
Şekil 22. *P. vulgaris* 'in agar kuyucuk difüzyon Analizi sonuçları



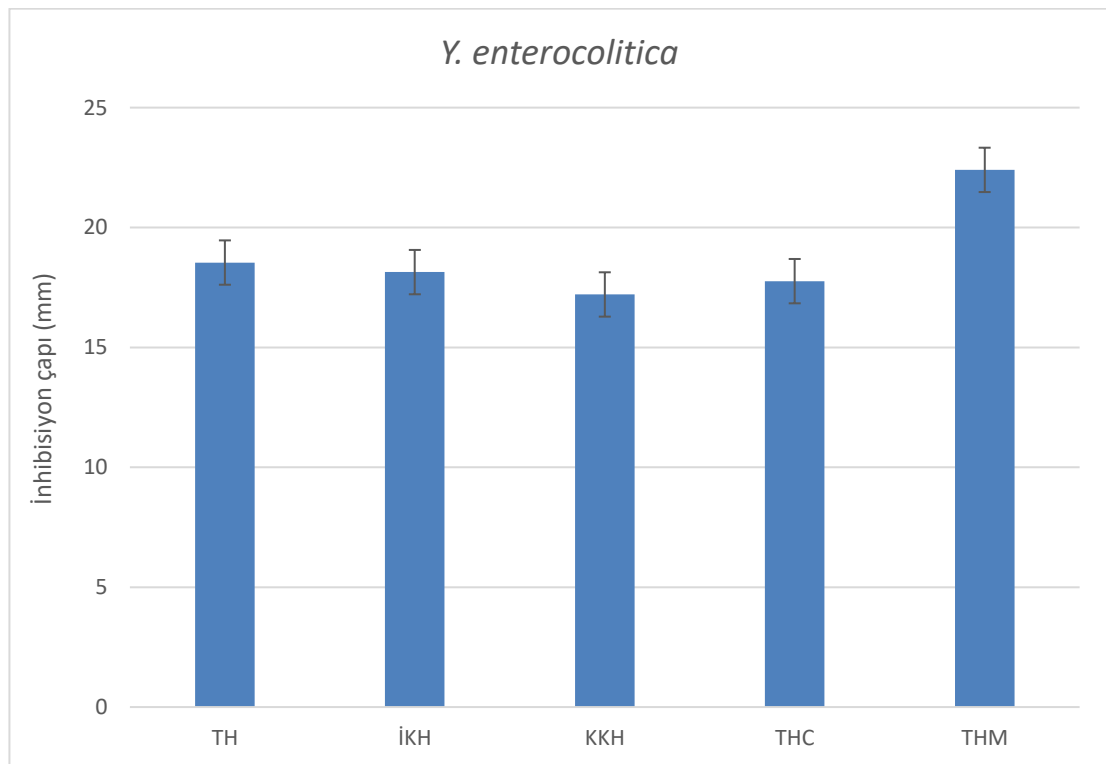
Şekil 23. *Salmonella enterica* sv. *Typhimurium* 'un agar kuyucuk difüzyon Analizi sonuçları



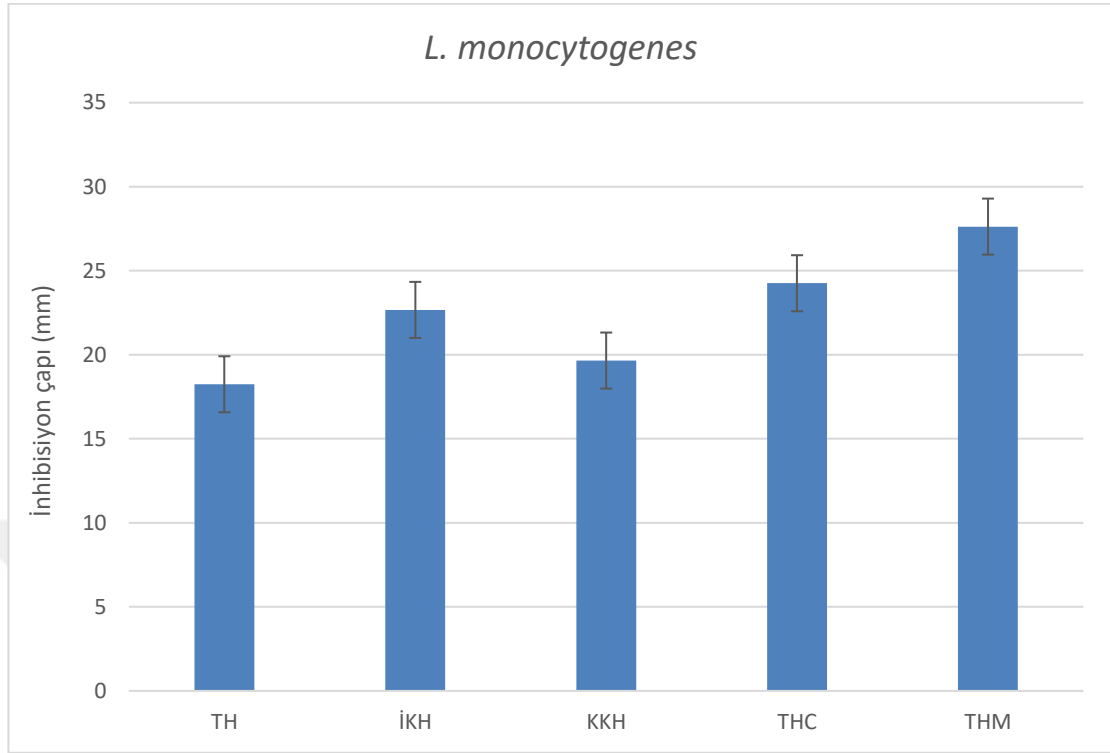
Şekil 24. *S. aureus* 'un agar kuyucuk difüzyon Analizi sonuçları



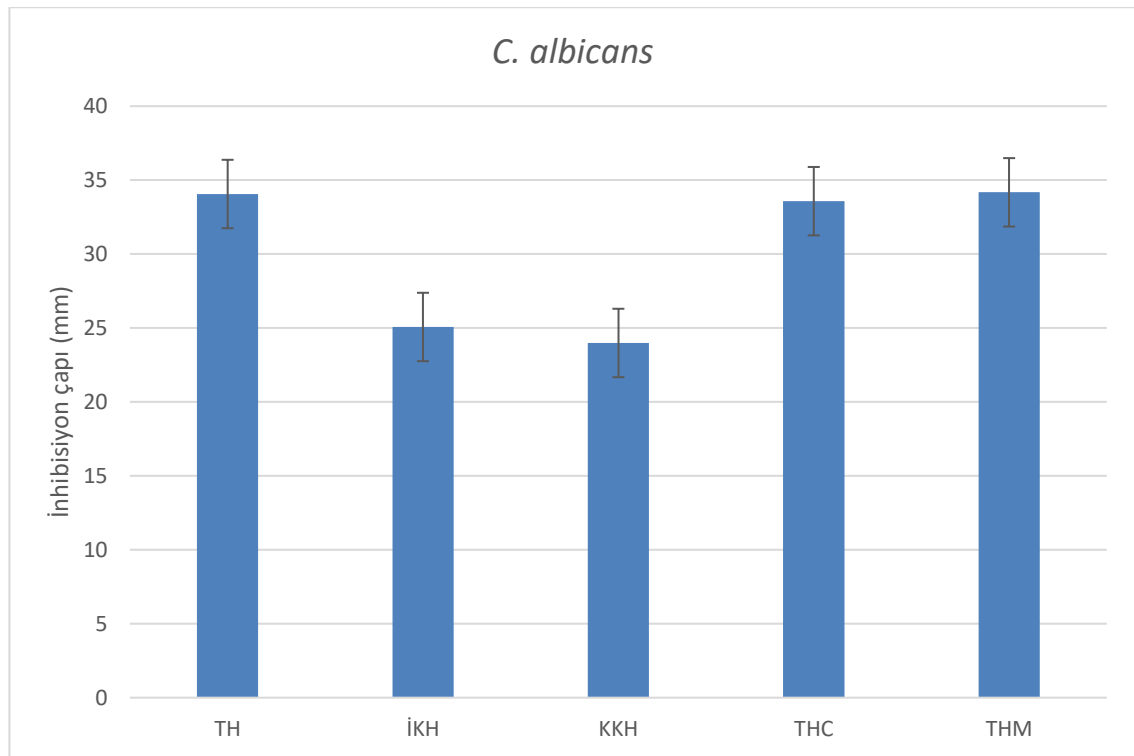
Şekil 25. *B. cereus* 'un agar kuyucuk difüzyon Analizi sonuçları



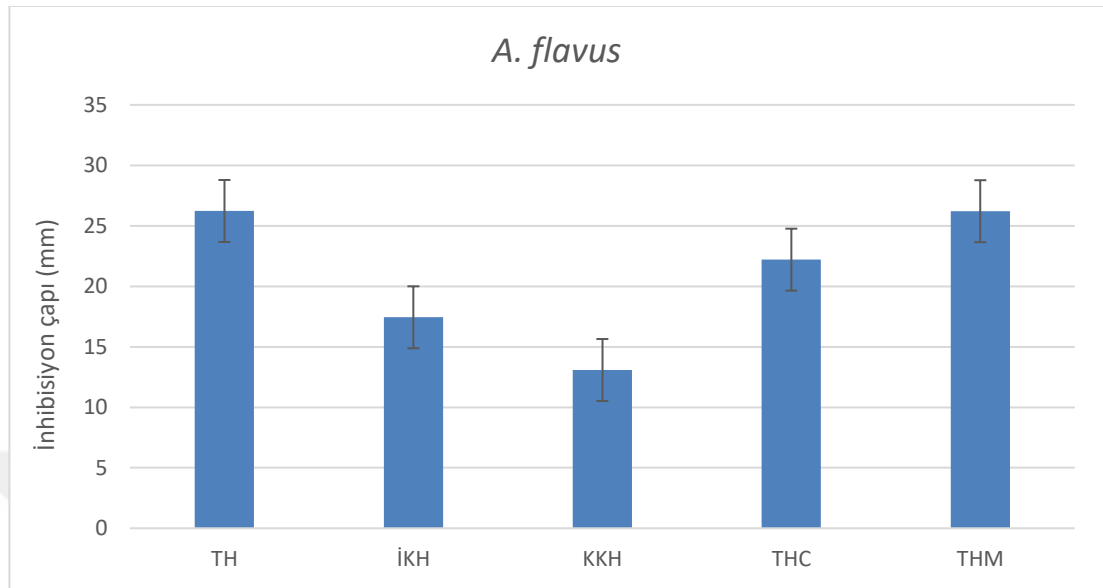
Şekil 26. *Y. enterocolitica* 'nın agar kuyucuk difüzyon Analizi sonuçları



Şekil 27. *L. monocytogenes* 'in agar kuyucuk difüzyon Analizi sonuçları



Şekil 28. *C. albicans* 'ın agar kuyucuk difüzyon Analizi sonuçlar



Şekil 29. *A. flavus* 'un agar kuyucuk difüzyon Analizi sonuçları

3.3.1. Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MİK) analizinin sonuçları

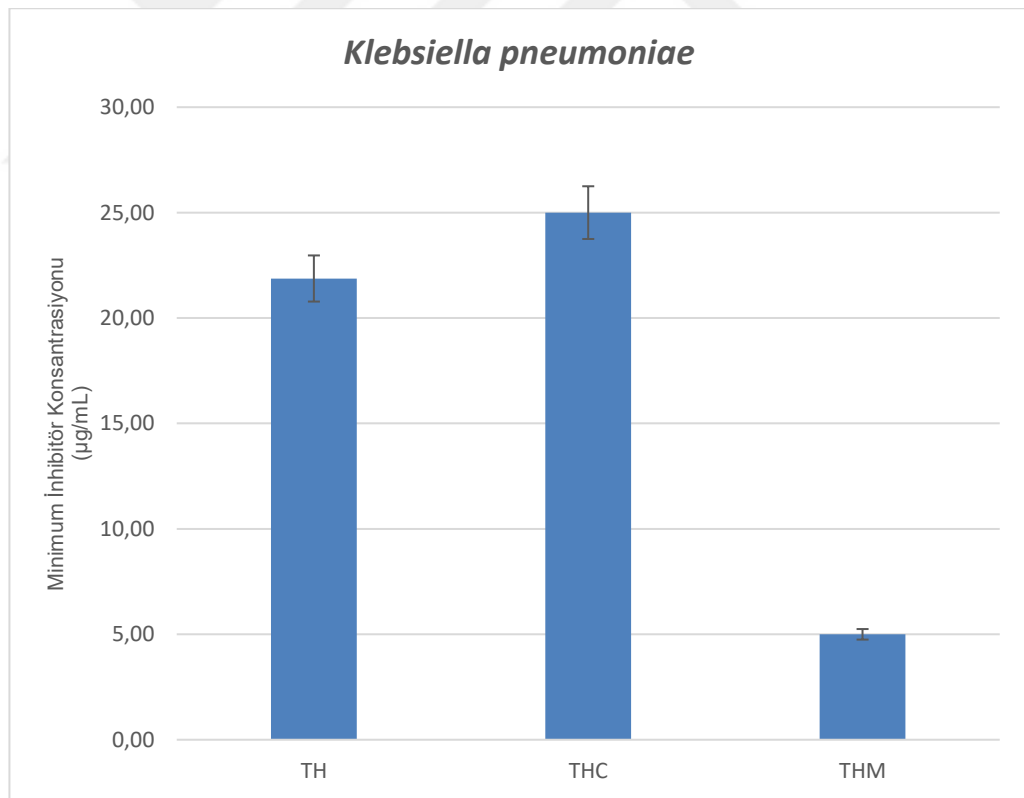
TH, THC ve THM örneklerinin 250 µg/mL, 187.5 µg/mL, 125 µg/mL, 62.5 µg/mL, 25 µg/mL, 12,5 µg/mL, 5 µg/L konsantrasyonları *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli* 11230, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella enterica* sv. *Typhimurium*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* mikroorganizmalarına karşı test edip sonuçları tablo 8 'de gösterilmiştir. Minimum İnhibitör Konsantrasyonu analizinin grafiksel sonuçları şekil 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40 ve 41'de gösterilmiştir.

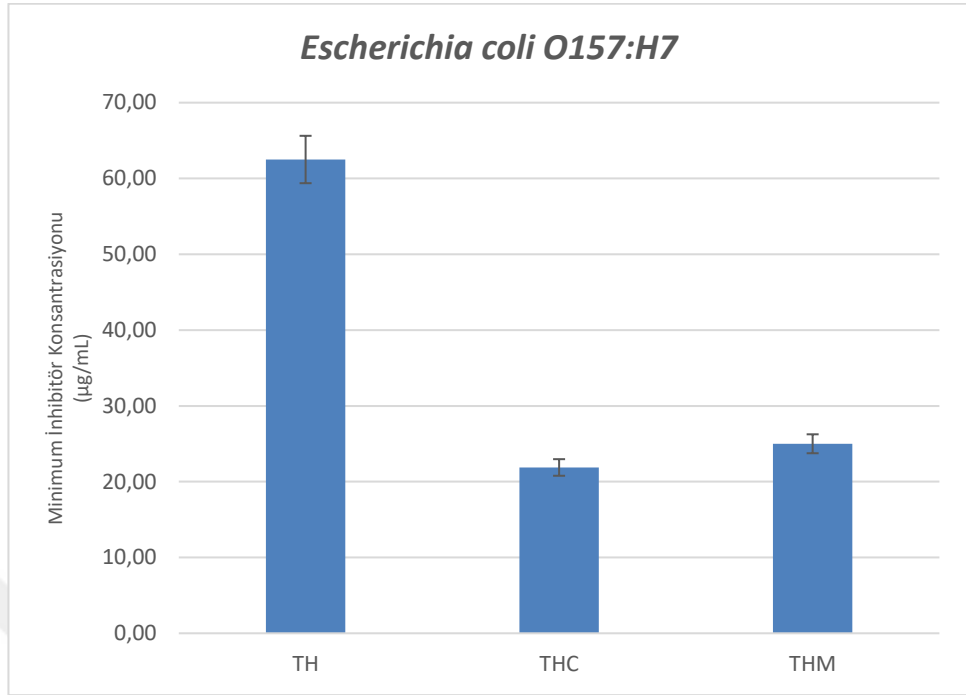
Tablo 10. Minimum inhibitör konsantrasyon Analizi sonuçları

Mikroorganizma	Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu (µg/mL)		
	Th	THC	THM
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	21.85 ±6.25	25.00 ±0.0	5.00 ±0,0
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	62.50 ±0.0	21.85 ±6.25	25.00 ±0,0
<i>Escherichia coli</i> 11230	62.50 ±0.0	21.85 ±6.25	25.00 ±0.0

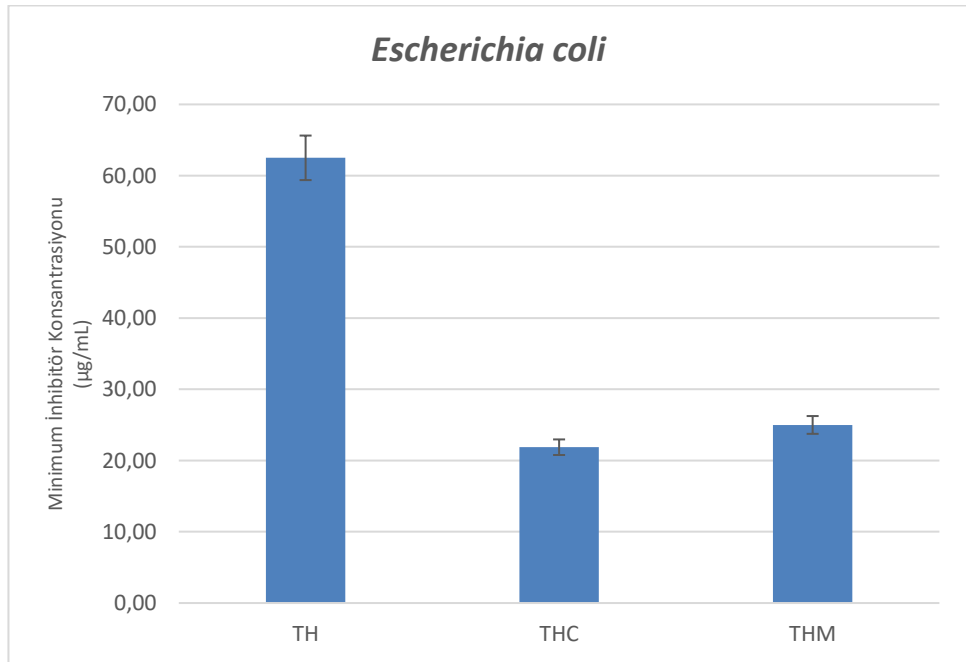
Tablo 11. Minimum inhibitör konsantrasyon Analizi sonuçların devamı

<i>Proteus mirabilis</i>	43.75 ±11.25	21.85 ±6.25	6.85 ±3.25
<i>Proteus vulgaris</i>	43.75 ±11.25	21.85 ±6.25	21.85 ±6.25
<i>Yersinia enterocolitica</i>	53.12 ±3.25	21.85 ±6.25	25.00 ±0.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	43.75 ±3.75	21.85 ±0.0	8.75 ±6.25
<i>Bacillus cereus</i>	53.12 ±12.25	25.00 ±3.75	6.85 ±0.0
<i>Salmonella enterica sv. Typhimurium</i>	62.50 ±0.0	25.00 ±0.0	6.85 ±0.0
<i>Listeria monocytogenes</i>	34.35 ±3.25	25.00 ±6.25	10.65 ±11.25
<i>Candida albicans</i>	62.50 ±0.0	125.00 ±0.0	109.35 ±13.75

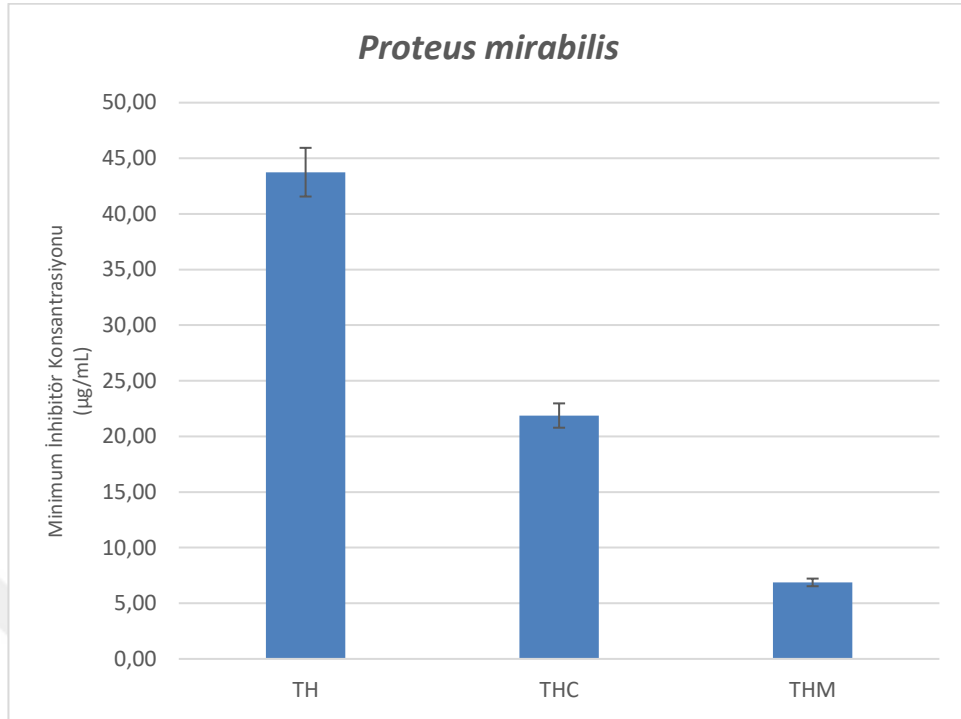
Şekil 30. *Klebsiella pneumoniae* 'nın minimum inhibitör konsantrasyon Analizi sonuçları



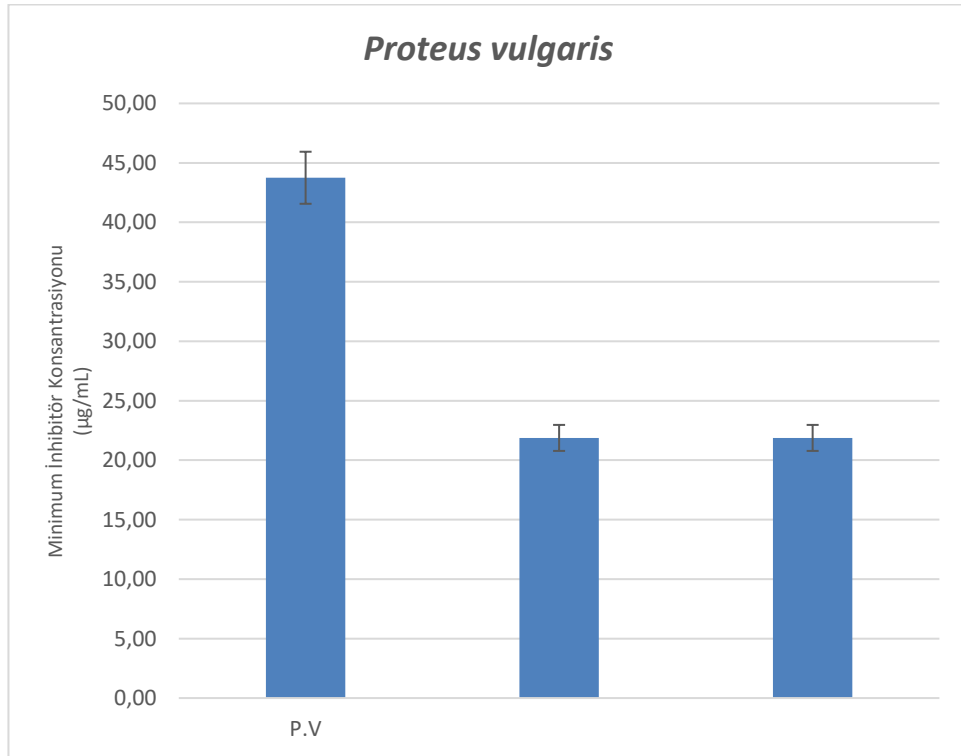
Şekil 31. *Escherichia coli O157:H7* 'nin minimum inhibitör konsantrasyon Analizi sonuçları



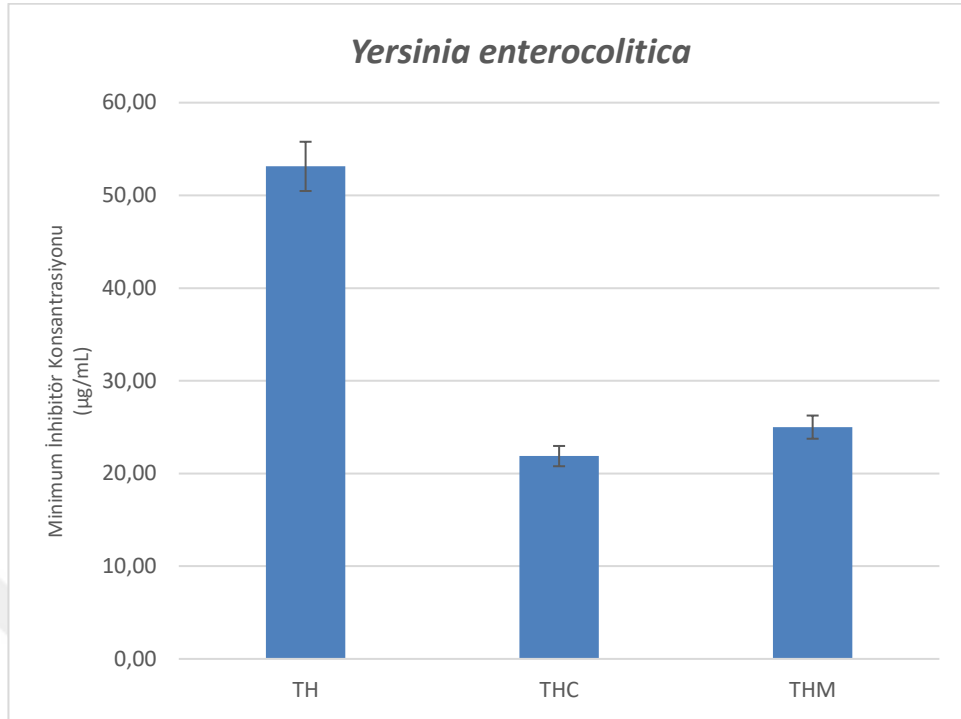
Şekil 32. *Escherichia coli 11230* 'un minimum inhibitör konsantrasyon Analizi sonuçları



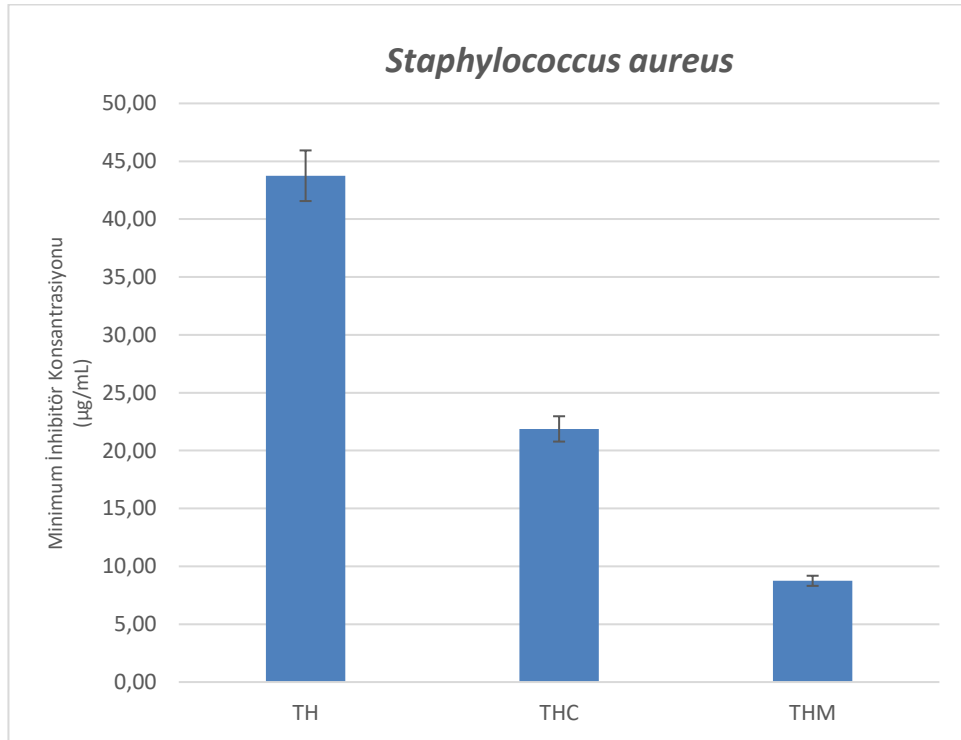
Şekil 33. *Proteus mirabilis* 'in minimum inhibitör konsantrasyon Analizi sonuçları



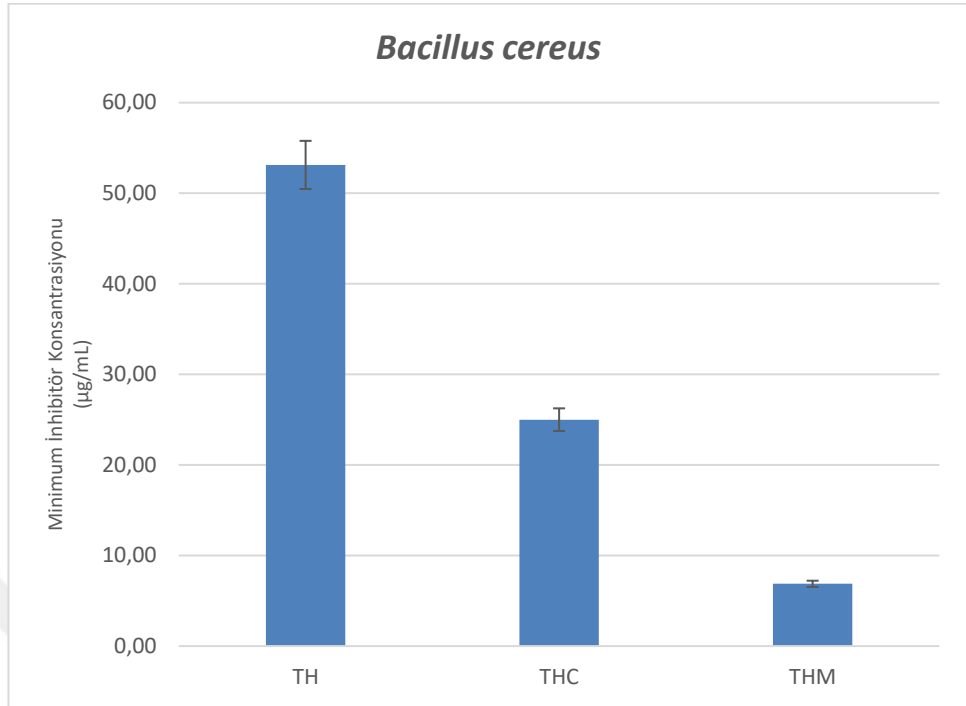
Şekil 34. *Proteus vulgaris* 'in minimum inhibitör konsantrasyon Analizi sonuçları



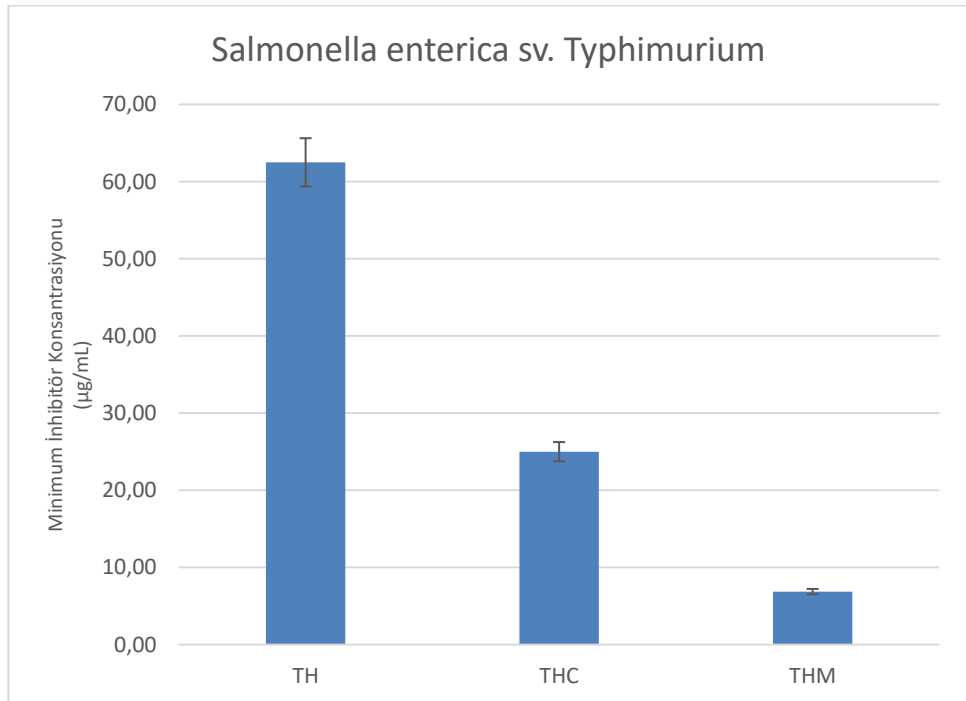
Şekil 35. *Yersinia enterocolitica* 'nın minimum inhibitör konsantrasyon Analizi sonuçları



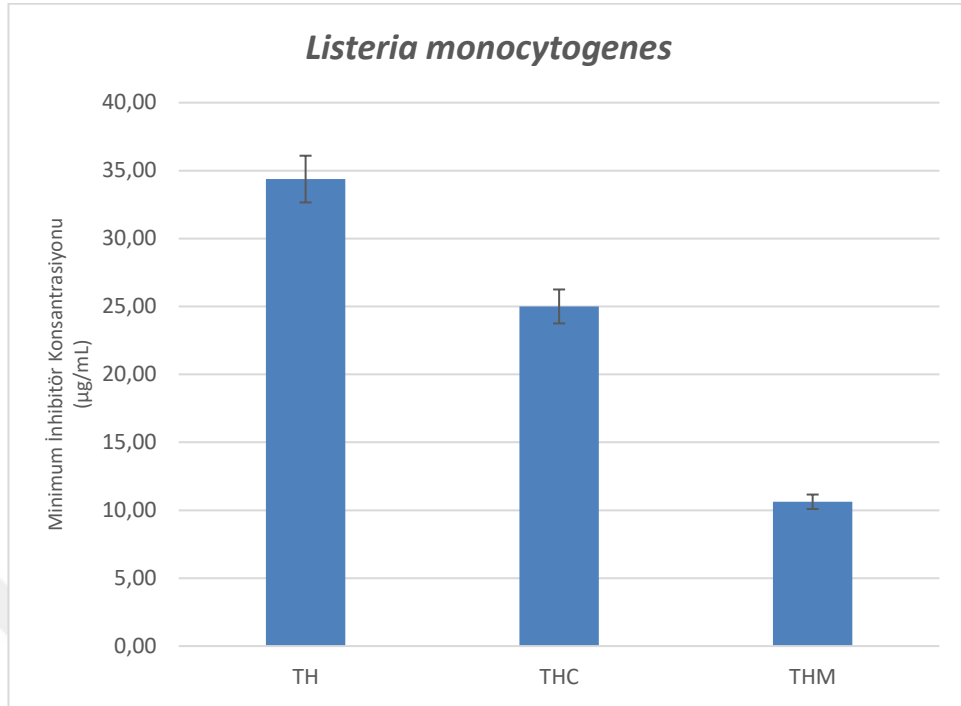
Şekil 36. *Staphylococcus aureus* 'un minimum inhibitör konsantrasyon Analizi sonuçları



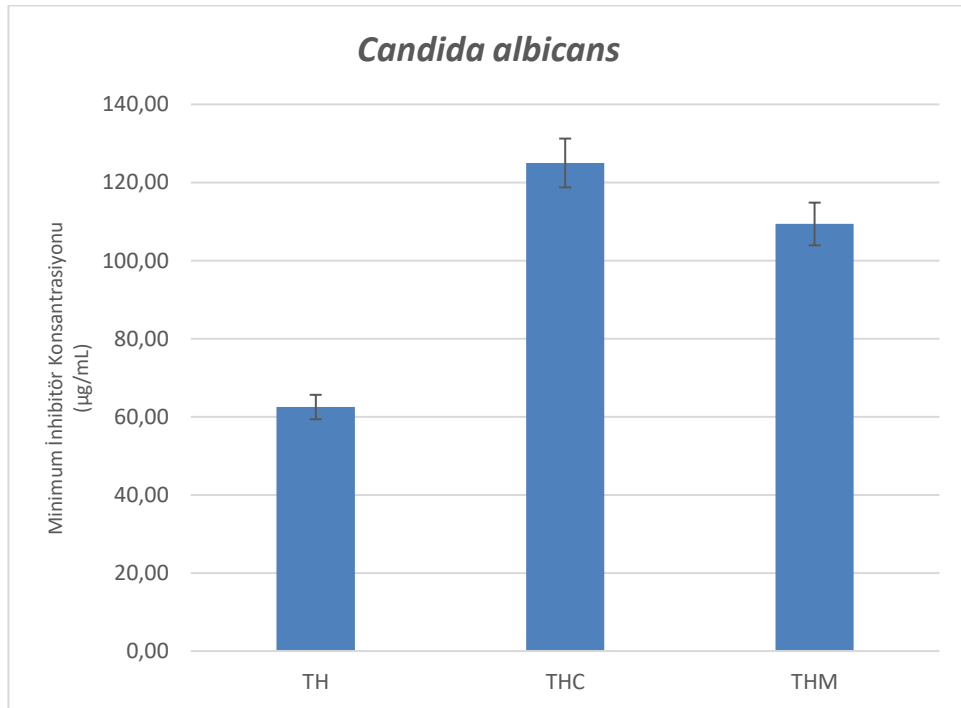
Şekil 37. *Bacillus cereus* 'un minimum inhibitör konsantrasyon Analizi sonuçları



Şekil 38. *Salmonella enterica sv. Typhimurium* 'un minimum inhibitör konsantrasyon Analizi sonuçları



Şekil 39. *Listeria monocytogenes* 'in minimum inhibitör konsantrasyon Analizi sonuçları



Şekil 40. *Candida albicans* 'un minimum inhibitör konsantrasyon Analizi sonuçları

3.5. Sitotoksosite Analiz Sonuçları

Üzerine TH, THC ve THM numuneleri doğrudan uygulanan ve 37°C, 24 saat inkübasyona bırakılan, fare subkutanöz bağdokusu hücreleri (L-929 hücre hattı) mikroskopik olarak incelenmiştir. Yapılan incelemeler sonucunda hücrelerin morfolojik yapılarında olumsuz bir etki görülmeyp sağlıklı ve stabil bir vaziyette kaldıkları gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak hem tarçın hidrozolün hem de onun %3'lük askorbik asit ve malik asidin takviyesiyle ile üretilen THC ve THM örneklerin toksik etkileri olmadığı ve gıdada güvenli bir şekilde kullanılabildiği kanıtlanmıştır.

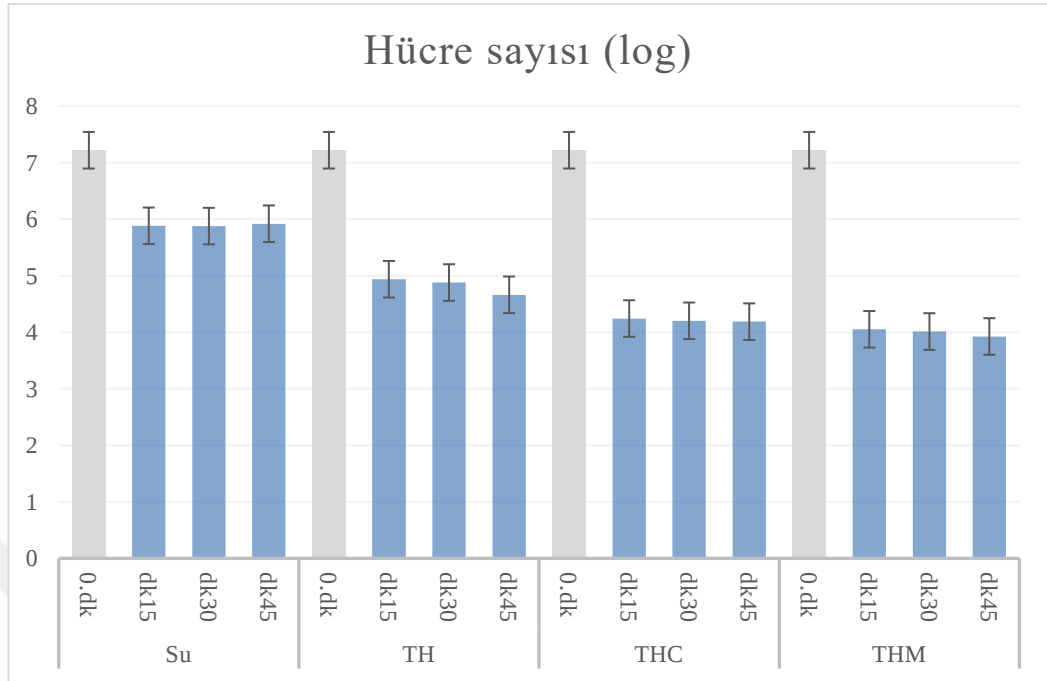
3.6. Model Gıdada gerçekleştirilen Analize ait bulgular

3.6.1. *Escherichia coli* O157:H7 sayımı

15, 30 ve 45 dk boyunca THM, THC, TH ve çeşme suyu (kontrol) kullanarak yıkanan kaşar peyniri numunlerinde *Escherichia coli* O157:H7'in sayım sonuçları Tablo 9 'da gösterilmiştir. Şekil 42'de *Escherichia coli* O157:H7 sayım sonuçları grafiksel olarak gösterilmiştir.

Tablo 12. *Escherichia coli* O157:H7 sayım sonuçları

Örnek	Log kob/g (koloni oluşturan birim)			
	Muamele	15. dakika	30. dakika	45. dakika
Kontrol	7.22±0.04	5.88±0.05	5.87±0.07	5.92±0,05
TH	7.22±0.04	4.93±0.03	4.88±0.01	4.66±0.04
THC	7.22±0.04	4.24±0.02	4.20±0.01	4.18±0,03
THM	7.22±0.04	4.05±0.02	4.01±0.01	3.92±0,01



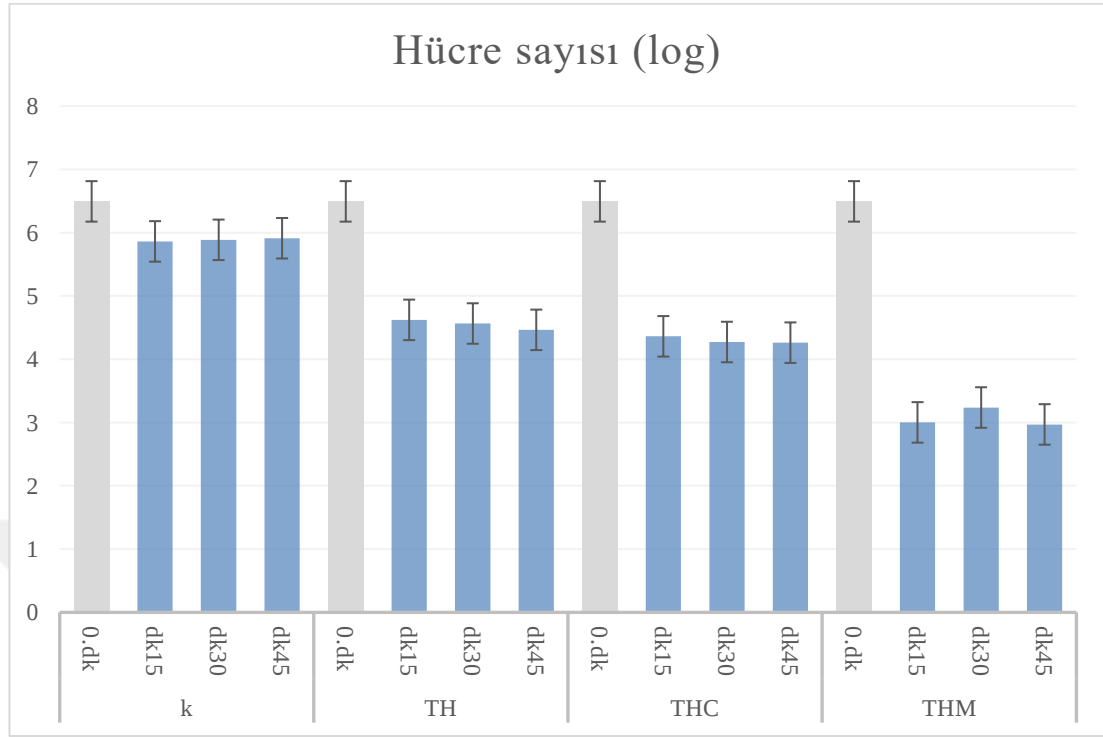
Şekil 41. *Escherichia coli* O157:H7 sayım sonuçları

3.6.2. *Salmonella enterica* sv. *Typhimurium* sayımı

15, 30 ve 45 dk boyunca THM, THC, TH ve çeşme suyu (kontrol) kullanarak yıkanan kaşar peyniri numularında *Salmonella Typhimurium*'ın sayım sonuçları Tablo 10 'da gösterilmiştir. Şekil 43'de *Salmonella enterica* sv. *Typhimurium* sayım sonuçları grafiksel olarak gösterilmiştir.

Tablo 13. *Salmonella enterica* sv. *Typhimurium* sayım sonuçları

Örnek	Log kob/g (koloni oluşturan birim)			
	Muamele	15. dakika	30. dakika	45. dakika
Kontrol	6.49±0.03	5.86±0.02	5.88±0.02	5.91±0.02
TH	6.49±0.03	4.62±0.01	4.56±0.02	4.46±0.01
THC	6.49±0.03	4.36±0.01	4.27±0.01	4.26±0.04
THM	6.49±0.03	3.00±0.01	3.23±0.01	2.97±0.02



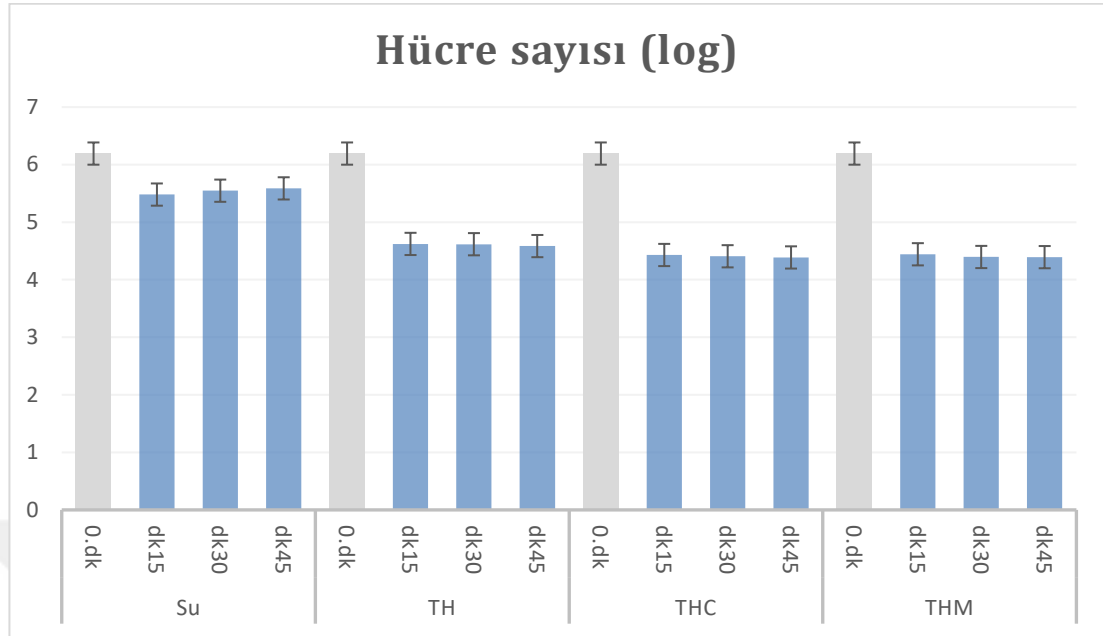
Şekil 42. *Salmonella enterica* sv. *Typhimurium* sayım sonuçları

3.6.3. *Staphylococcus aureus* sayımı

15, 30 ve 45 dk sürelerinde THM, THC, TH ve çeşme suyu (kontrol) kullanarak yıkanan kaşar peyniri numularında *staphylococcus aereus*'un sayım sonuçları Tablo 11 'de gösterilmiştir. Şekil 44'de *Staphylococcus aureus* sayım sonuçları grafiksel olarak gösterilmiştir.

Tablo 14. *Staphylococcus aureus* sayım sonuçları

Örnek	Log kob/g (koloni oluşturan birim)			
	Muamele	15. dakika	30. dakika	45. dakika
Kontrol	6.19±0.06	5.48±0.01	5.54±0.01	5.58±0.03
TH	6.19±0.01	4.62±0.01	4.61±0.02	4.58±0.02
THC	6.19±0.06	4.43±0.01	4.40±0.01	4.38±0.01
THM	6.19±0.06	4.44±0.02	4.39±0.01	4.39±0.01



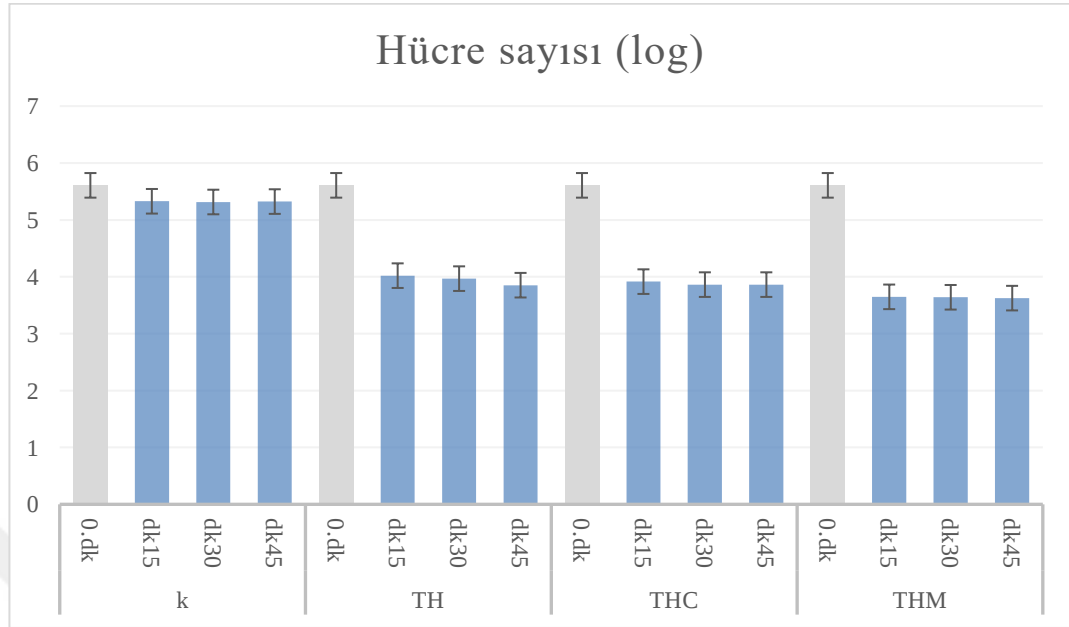
Şekil 43. *Staphylococcus aureus* sayım sonuçları

3.6.4. *Candida albicans* sayımı

15, 30 ve 45 dk sürelerinde THM, THC, TH ve suyu kullanarak yıkanan kaşar peyniri numulerinde *Candida albicans*'ın sayım sonuçları Tablo 12 'de gösterilmiştir. Şekil 45'de *Candida albicans* sayım sonuçları grafiksel olarak gösterilmiştir.

Tablo 15. *Candida albicans* sayım sonuçları

Örnek	Log kob/g (koloni oluşturan birim)			
	Muamele	15. dakika	30. dakika	45. dakika
Kontrol	5.60±0.02	5.32±0.01	5.31±0.01	5.32±0.02
TH	5.60±0.02	4.02±0.02	3.96±0.01	3.85±0.02
THC	5.60±0.02	3.91±0.02	3.86±0.01	3.86±0.01
THM	5.60±0.02	3.64±0.02	3.64±0.01	3.62±0.01



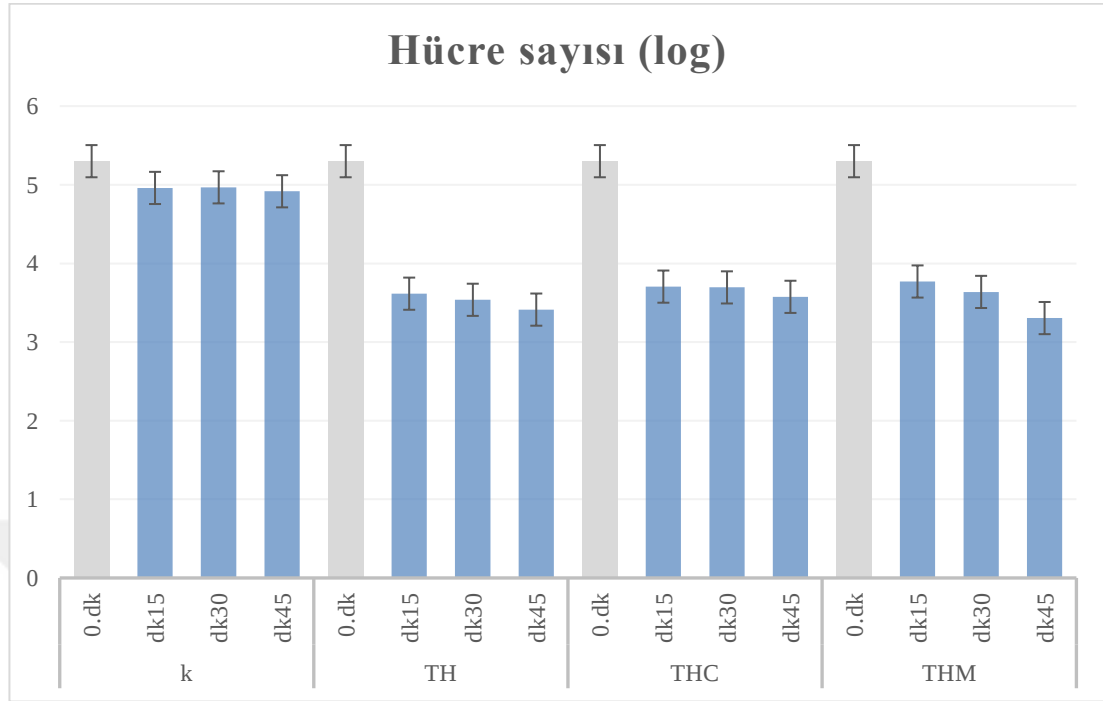
Şekil 44. *Candida albicans* sayım sonuçları

3.6.5. *Aspergillus flavus* sayımı

15, 30 ve 45 dk sürelerinde THM, THC, TH ve çeşme suyu kullanarak yıkanan kaşar peyniri numulerinde *Aspergillus flavus* 'un sayım sonuçları Tablo 13 'te gösterilmiştir. Şekil 46'de *Aspergillus flavus* sayım sonuçları grafiksel olarak gösterilmiştir.

Tablo 16. *Aspergillus flavus* sayım sonuçları

Örnek	Log kob/g (koloni oluşturan birim)			
	Muamele öncesi	15. dakika	30. dakika	45. dakika
Kontrol	5.30±0.02	4.96±0.02	4.96±0.03	4.91±0.02
TH	5.30±0.02	3.61±0.02	3.53±0.01	3.41±0.01
THC	5.30±0.02	3.70±0.01	3.69±0.02	3.57±0.02
THM	5.30±0.02	3.77±0.01	3.63±0.01	3.30±0.01



Şekil 45. *Aspergillus flavus* sayım sonuçları

3.7. Zeta Potansiyeli ve Parçacık Boyutu Analiz Sonuçları

3.7.1. Zeta Potansiyeli Analiz Sonuçları

Tablo 14 'te TH, THC, THM örneklerinin 4 hafta boyunca Zeta potansiyelindeki değişimleri gösterilmiştir.

Tablo 17. Zeta Potansiyeli Analiz Sonuçları

Süre	Zeta Potential (mV):		
	TH	THC	THM
1.hafta	-22.2	-6.14	-2.55
2. hafta	-20.9	-7.09	-3.98
3. hafta	-33	-7.95	-4.24
4. hafta	-23.5	-4.57	-3.52

3.7.2. Parçacık Boyutu Analiz Sonuçları

Tablo 15 ‘de TH, THC, THM örneklerinin 4 hafta boyunca Z-ortalamasındaki değişimleri gösterilmiştir;

Tablo 18. Parçacık Boyutu Analiz Sonuçları

Süre	Z-Ortalaması (nm):		
	TH	THC	THM
1.hafta	628.5	605.4	297.7
2. hafta	442.7	345.3	267.3
3. hafta	328.5	349.8	482.5
4. hafta	468	422.7	432.1

4. BÖLÜM

TARTIŞMA-SONUÇ VE ÖNERİLER

4.1. Sonuçların Tartışılması

4.1.1. GC-MS Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi

4.1.1.1. Tarçın Hidrozolü GC-MS Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Toplam bileşenlerin %76,66'ı oranıyla bulunan sinnamaldehit tarçın hidrozolünde miktarca en fazla bulunan bileşen olduğu görülmüştür. Diğer majör bileşen olarak α -Copaene ve γ -Cadiene sırasıyla, %9,71 ve %7,08 oranında tespit edilmiştir. Bunlarla birlikte toplam hidrozolün %0,1-%2 aralığında çeşitli monoterpen hidrokarbonlar, α -Pinene, karyofillen ve 1,8-Cineole bileşiklerini içerdiği belirlenmiştir.

Shahpar vd., (2016) yaptığı çalışmada, İran'da farklı marketlerden alınan 11 tarçın örneğin (S1-S11) bileşenleri GC-MS yöntemi ile çalışmışlardır. Analiz edilen tarçın örneklerin majör bileşeninin Cinnamaldehyde olduğu gözlemlenmiştir ve bu çalışmada olduğu gibi oranı ortalama olarak %70 civarında tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışmaya benzer şekilde Borneol, 1,8-Cineole ve Benzaldehide gibi bileşenler yakın oranlarla tespit edilmiştir.

Bu çalışmada 18 adet bileşen tespit edilirken, Shahpar vd., (2016)'nin çalışmasında analiz edilen 11 örnek arasında farklılıklar gözlenmiştir. Bir numunede 20 bileşen tespit edilirken bir başkasında ise sadece 3 adet volatil bileşik tespit edilmiştir. Bu bileşenlerin çoğu ise bu tez çalışmasıyla benzer olarak oksijenli monoterpenler ve hidrokarbon monoterpenler gruplarından oluşmaktadır.

Özet olarak bu iki çalışmada özellikle tarçın hidrozolün majör bileşeni olan sinnamaldehit miktarı bakımından benzerlik gösterirken minör bileşenlerde bazı farklılıklar

görülmüştür. Bu farklılıklar ise, tarçının cinsi ve yetiştirme koşulları gibi sebepler ile açıklanabilmektedir (A. Figueiredo vd., 2008).

Yu vd., (2020) yaptığı çalışmada, tarçın esansiyel yağı buhar distilasyonu, ultrason destekli buhar distilasyonu ve mikrodalga destekli buhar distilasyonu yöntemleriyle ekstrakte edilmiştir. Tarçın esansiyel yağın uçucu madde içeriği gaz kromatografi yöntemiyle (GC-MS) tanımlanmıştır.

Bu çalışmaya benzer olarak, yukarıda bahsedilen üç yöntemle ekstrakte edilen tarçın esansiyel yağında majör bileşen %73.34, %72.37 ve %67.21 oranlarında cinnamaldehit bulunduğu tespit edilmiştir.

4.1.1.2. Kara Kekik Hidrozolün GC-MS Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Kara kekik hidrozolünde GC-MS yöntemiyle tespit edilen bileşenler tablo 4' te sunulmuştur. Bu sonuçlardan kara kekik hidrozölü hemen hemen tamamen karvakrol'dan meydana geldiği anlaşılabilmektedir. Bunun dışında kara kekik hidrozölü eser miktarda Docosane gibi alkan hidrokarbonlar ve 4-terpineol gibi monoterpenoid bileşenleri içermektedir.

Khan vd., 2018 kara kekik hidrozölün bileşenleri GC-MS yöntemiyle analiz etmiştir. Miktarca en fazla bulunan bileşen %92,5 oranı ile karvakrol olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, Borneol ve 4-terpineol bileşenleri bu tez çalışmasına yakın bir oranla tespit edilmiştir.

Khan vd., bu tez çalışmasından farklı olarak kekik hidrozölünde %2,5 thymol tespit etmişlerdir.

R. Verma vd., (2012), gerçekleştirdikleri bir çalışmada, *Origanium vulgare*'nın esansiyel yağı ve hidrozölü için volatil içeriği analizi yapmıştır. *Origanium vulgare*'un esansiyel yağında %42.3 oranında bulunan karvakrol, *Origanium vulgare*'un hidrozölünde %94.7 oranında tespit edilerek bu çalışmadaki bulgulara yakın değerler bulmuştur.

4.1.1.3. İzmir Kekiği Hidrozölü GC-MS Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Toplamda 18 bileşen tespit edilmiş olup, Karvakrol'un, %84,15 oranıyla miktarca en fazla bulunan (majör) bileşen olduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan, çok daha az miktarda bulunan önemli bileşenlerden olan linalool, γ -terpinen ve thymol sırasıyla; %2,88, %2.33 ve %1,88 oranlarıyla tespit edilmiştir. Kalan bileşenler ise 0.27%-1% oranları arasında oksijenlenmiş monoterpenler ve Seskiterpen Hidrokarbonlar gruplarından oluşmaktadır.

Öztürk vd., (2016) GC-MS yöntemiyle İzmir kekiği hidrozolünün uçucu bileşen içeriğini incelemiştir. Tespit edilen toplam 5 bileşenden en önemli orana sahip bileşenler sırasıyla %51,18 ve %44,10 oranlarıyla, Timol ve Karvakrol olduğu bildirilmiştir.

Öztürk vd.'nin çalışmasında analiz edilen bileşenlerin tümü (Thymol, Karvakrol, Linalool, p-cymene ve trans-caryophyllene) bu çalışmadaki sonuçlarında da tespit edilmiştir. İki çalışmada hidrozollerin bileşen sayısı aynı olsa da, oranlarında bazı farklılıklar görülmüştür. Bu çalışmada majör bileşen olarak karvakrol bulunurken, Öztürk vd.'nin gerçekleştirdikleri çalışmada karvakrol ile beraber thymol da majör bileşen olarak bulunmuştur. Kalan bileşenler ise, %6,07 oranıyla tespit edilen p-cymene bileşeni hariç her iki çalışmada yakın bir oranda bulunmuştur.

Kutlular, (2007) yürüttüğü bir araştırmada, bazı kekik türlerinin uçucu yağ kompozisyonu GC-MS yöntemi kullanarak incelemiştir. Üç farklı tarihte hasat edilen kekiklerden elde edilen hidrozollerde majör bileşen olarak %92.66, %86.71 ve %84.33 oranlarında karvakrol olduğu bulunmuştur. Ayrıca, linalool ve Timol bileşenleri %1-2 konsantrasyonlar arasında tespit edilmiştir.

4.1.2. DPPH Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Serbest radikal süpürücü aktivite yöntemi, maddelerin serbest radikal süpürücüler veya hidrojen verici olarak hareket etme kabiliyetini belirlemek için yaygın olarak kullanılmaktadır. (I. Okan vd., 2013)

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ticari olarak elde edilebilen stabil organik nitrojen radikalidir. DPPH radikali metanolik çözeltide okside formunda 520 nm'de maksimum absorbans gösteren bir kimyasaldır (Moğ vd., 2011).

Örneklerin serbest radikalini temizleme kapasitesi %22,77-%94,56 aralığında değişiklik göstermiştir ve toplam sıralama bu şekilde sunulabilir: THC> Kontrol (%3'luk askorbik asit)> İKH> KKH> THM> TH.

İKH ve KKH örnekleri, kontrol numunesine yakın bir antioksidan aktivite göstermiştir ve istatistiksel olarak kontrol numunesinden farklı olmadıklarını bulunmuştur. Böylelikle, %70'in üstünde gösterdikleri inhibisyon değerleriyle önemli bir antioksidan kapasite sergilemiştir. Bunun kaynağı, İKH ve KKH örneklerin sahip olduğu yüksek karvakrol içeriğinden kaynaklanmaktadır. Daha önce bahsedildiği gibi karvakrol, monoterpen

bünyesinde bir fenolik bileşendir ve çeşitli eserlerde yüksek antioksidan aktivitesinden bahsedilmiştir (Yanishlieva vd., 1999; Ramos vd., 2014).

TH ise diğer örneklerle ve askorbik aside göre en düşük inhibisyon gücü göstermiştir. TH'nin %3'lük askorbik asit takviyesiyle üretilen THC ise, TH örneğine göre belirgin bir şekilde farklılık göstermiştir ve %94,56 inhibisyon oranıyla analizin en yüksek indirgeyici kapasitesi göstermiştir. Bu sonuçlardan anlaşılır ki, yüksek indirgen özellikleri ile bilinen askorbik asit, tarçın hidrozolün antioksidatif kapasitesini önemli ölçüde iyileştirebilmektedir (Yavaşca, 2009).

TH'nin %3'lük malik asit eklenmesiyle üretilen THM örneği, %33 inhibisyon kaydederek TH'den daha yüksek antioksidant aktivite göstermişse de yine askorbik asitten çok daha düşük bir aktivite göstermiştir. Böylece, Malik asidin tarçın hidrozolün antioksidan kapasitesi üstüne takviye edici özelliği askorbik asitten daha düşük olduğu anlaşılmaktadır.

Sonuç olarak askorbik asit örneğine göre İKH ve KKH, benzer bir antioksidan kapasite gösterirken, TH düşük bir aktivite sergilemiştir. Ancak askorbik asit takviyesiyle üretilen THC kuvvetli antoksidatif güç göstererek, TH'nin antioksidan gücü konusundaki zaafiyeti düzelttiği için antioksidan aktivitenin öncelikli olduğu durumlarda katkı maddesi olarak kullanılması önerilebilmektedir.

Sarıkurkcu vd., (2015) yaptığı bir çalışmada, Timol ve karvakrolün DPPH serbest radikallerinin yüksek inhibe edici kapasitelerini bildirmiştir. Bununla birlikte Sarıkurkcu düşük miktarlarda bulunan diğer bileşenlerin antioksidan kapasite üzerine etkili olduklarından bahsetmiştir. Örneğin, aynı Timol ve karvakrol içeriğine sahip olan, fakat farklı antioksidan aktivite gösteren O. Onites örnekleri farklı minör bileşen profilinden kaynaklandığını öne sürmüştür.

Quiroga vd., (2014) yürüttüğü çalışmada ise, γ -terpinen, β -phellandrene ve terpinolene'nin yüksek antioksidan aktivitelerini bildirmiştir ve minör bileşikler uçucu yağların antioksidan aktivitesine katkıda bulunduğunu göstermiştir.

4.1.3. Hidrozollerin Antimikrobiyal Etkinlik Analiz Sonuçların Değerlendirilmesi

4.2.3.1. Agar Kuyucuk Analiz sonuçların değerlendirilmesi

TH, İKH ve KKH örneklerin inhibisyon çapların incelenmesi: KKH tüm test mikroorganizmalarına karşı farklı verimlerle antimikrobiyal etki sergilemiştir ve farklı maya, küf ve bakterilere karşı 10.59mm-27,97mm arasında inhibisyon zonu oluşturmuştur. *K. pneumoniae*, *B. cereus* ve *A. flavus* KKH'ye karşı dirençli (≤ 14 mm) iken, *E. coli*, *E. coli* O157:H7, *P. mirabilis*, *S. typhirium*, *L. monocytogenes* ve *Y. enterocolitica*'ye karşı orta seviyede (15–19mm) duyarlılık göstermiştir ve *P. vulgaris*, *S. aureus* ve *C. albicans* ise KKH'ye karşı duyarlı (≥ 20 mm) oldukları görülmüştür. KKH'nin en büyük inhibisyon çapları (sırasıyla 27.97mm, 23.98mm ve 20.16mm) *P. vulgaris*, *C. albicans* ve *S. aureus*'e karşı göstererek hem gram pozitif hem gram negatif bakterilere hem de mayalara karşı etkili olduğu görülmüştür.

Ancak KKH, *B. cereus* ve *A. flavus*'e karşı 10.59mm ve 13.08mm inhibisyon zonu oluşturarak düşük antimikrobiyal etki göstermiştir. Dolayısıyla, bu analiz için, KKH sporlu bakterilere ve küflere karşı yüksek antimikrobiyal etki göstermediği sonucuna varılmıştır. TH ve İKH test mikroorganizmalarına karşı birbirine yakın antimikrobiyal etki gösterirken KKH onlara kıyasla çoğu zaman daha düşük antimikrobiyal etki göstermiştir. Tablo 7 'de gösterildiği gibi KKH'nin *K. pneumoniae*, *E. coli* O157:H7, *E. coli*, *S. typhirium*, *Y. enterocolitica*, *B. cereus* ve *A. flavus* mikroorganizmalarına karşı TH ve İKH örneklerine göre istatistiksel olarak daha düşük inhibisyon zonu oluşturmuştur. Bununla beraber KKH, *P. mirabilis*, *L. monocytogenes* ve *S. aureus*' a karşı TH ve İKH' ye yakın inhibisyon değerler gösterip bu mikroorganizmalar için 3 örnek arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır. *P. vulgaris*'e karşı ise, 27.97mm inhibisyon zonu ile TH ve İKH geçerek bu bakteriye karşı KKH en yüksek antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

İKH ise bu analizde güçlü bir antimikrobiyal kapasite göstermiştir ve 12 adet mikroorganizmaya karşı 20.73mm ortalamayla, 17.23mm-33.19mm genişliği arasında inhibisyon zonlar oluşturmuştur. KKH aksine, İKH tüm mikroorganizma gruplarına karşı önemli antimikrobiyal etki göstermiştir ve gram pozitif bakteriler başta olmak üzere bakteri, maya ve küfe karşı geniş spektrumlu etkisini sergilemiştir. İKH özellikle *E. coli* O157:H7, *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus*, *L. monocytogenes* ve *C. albicans* mikroorganizmalara güçlü antimikrobiyal etki göstermesi ile beraber kalan mikroorganizmalara orta seviyede antimikrobiyal etki göstermiştir. İKH'nin en yüksek antimikrobiyal aktivitesi 33.19mm ve 28mm inhibisyon çapları ile *E. coli* ve *S. aureus*'e

karşı göstermiştir. İKH'nin en düşük antimikrobiyal etki ise *P. vulgaris* ve *K. pneumoniae*'e karşı göstermiştir ve sırasıyla 17,23mm ve 17.24mm inhibisyon zonu oluşturmuştur.

TH bu analizde geniş spektrumlu antimikrobiyal kapasite sergileyen diğer bir örnektir. TH tüm test mikroorganizmalara karşı 20.33mm ortalamasıyla 16.97mm-34.03mm aralığında etkisini göstermiştir. İKH örneğinde olduğu gibi test mikroorganizmaların hiçbirisi TH'ye karşı dayanıklılık gösterememiştir. TH örneği *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus*, *C. albicans* ve *A. flavus*'ye karşı 20mm aşan inhibisyon zonu oluşturarak bu mikroorganizmalara karşı önemli antimikrobiyal etki göstermiştir. TH en yüksek antimikrobiyal aktivitesi *C. albicans* ve *A. flavus*'e karşı göstermiştir ve *C. albicans*'e karşı 34.03mm inhibisyon zonu oluştururken *A. flavus*'e karşı 26.23mm'lik bir çap oluşturmuştur. Bakteriler için ise TH'nin en yüksek antimikrobiyal aktivitesi *E. coli* -'e karşı 23.65mm'lik inhibisyon zonu ile göstermiştir. Bu analizin sonuçlarına göre, gram pozitif ve gram pozitif bakterilere karşı etkili olmasıyla beraber, TH'nin en yüksek etkisi maya ve küfe karşı ortaya çıkmıştır.

Yukarıda belirlendiği gibi TH ve İKH örnekleri bu analiz kapsamından birbirine yakın inhibisyon kapasitesi sergilemiştir. Test mikroorganizmalarına karşı inhibisyon çapların ortalaması iki örnek arasında birbirine yakın olsa da bazı test mikroorganizmalar için TH ve İKH arasında anlamlı farklar bulunmuştur. Gram pozitif bakteriler değerlendirildiğinde, İKH bu bakterilere karşı TH'ye göre daha kuvvetli antimikrobiyal etki gösterdiği görülmektedir. *P. vulgaris*'e karşı TH ve İKH arasında istatistiksel fark yok iken *S. aureus*, *B. cereus* ve *L. monocytogenes*'ye karşı İKH daha yüksek antimikrobiyal etki göstermiştir. Gram negatif bakterilere karşı ise TH ve İKH birbirine yakın antimikrobiyal aktivite göstermiştir. *E. Coli* ATCC 11230'e karşı İKH TH'den daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterirken *K. pneumoniae*'ye karşı TH daha yüksek aktivite göstermiştir. *E. coli* O157:H7, *P. mirabilis*, *P. vulgaris* ve *S. Typhimurium* bakterilere karşı iki örnek arasında istatistik olarak bir fark kaydedilmemiştir. Tablo 7'de gösterildiği gibi, maya ve küfler için ise bu analizde test edilen *C. albicans* ve *A. flavus* en fazla TH'ye karşı daha duyarlı oldukları gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak TH ve İKH tüm test mikroorganizmalarına antimikrobiyal etki göstermeleriyle birlikte bu iki örneğin arasında mikroorganizma cinsine göre farklılık görülmüştür. İKH gram negatif grup bakterilerine daha etkili iken TH özellikle maya ve

küflere güçlü antimikrobiyal etki göstermiştir. Gram negatif bakterilerine karşı TH ve İKH çoğu zamanda yakın antimikrobiyal kapasite göstermişlerdir.

TH, THC ve THM arasında antimikrobiyal etkilerinin karşılaştırılması

THM'nin özellikle *K. pneumoniae*, *E. coli* O157:H7, *P. vulgaris*, *S. typhirium*, *Y. enterocolitica* ve *L. monocytogenes*'e karşı yüksek mikrobiyosidal kapasitegöstererek bu mikroorganizmalara karşı TH'ye göre istatistiksel olarak daha yüksek antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Ayrıca yukarıda bahsedilen mikroorganizmalar, TH'ye karşı orta seviyede duyarlılık göstermelerine karşın THM bu mikroorganizmalara karşı 20mm'yi aşan inhibisyon zonu oluşturarak bu mikroorganizmalara karşı TH ile kıyasla daha yüksek bir kapasite sergilemiştir. TH'nin gram pozitiflere karşı nisbeten daha düşük etkisi THM örneklerinde, malik asidin etkisi sayesinde, önemli ölçüde takviye edilmiştir. Ayrıca gıdalarda yüksek bir risk oluşturabilen *K. pneumoniae* ve *S. Typhimurium* gibi gram negatif bakterilere karşı daha yüksek inhibisyon göstererek, THM'in geniş spektrumlu antimikrobiyal kapasitesini vurgulamaktadır. THM, *C. albicans* ve *A. flavus*'a karşı ise TH'ye göre ekstra bir etki yaratmayıp bu mikroorganizmalara karşı iki antimikrobiyal madde arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır.

THC'nin oluşturduğu antimikrobiyal aktivite, THM'den daha düşük olduğu görülmüştür. Fakat bununla birlikte askorbik asidin takviyesi, TH için bazı mikroorganizmalara karşı ekstra bir kapasite kazandırmıştır. Özellikle *S. Typhimurium* ve *L. monocytogenes*'e karşı; THC, TH'den daha yüksek bir antimikrobiyal aktivite göstermiş olup, bu mikroorganizmalar için iki örnek arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark ($p<0.05$) bulunmuştur.

Sağdıç, (2003), iki kekik (*Thymus vulgaris* L. ve *Thymus serpyllum* L.) ve üç oregano türünün hidrozolleri (*Origanum vulgare* L., *Origanum onites* L. ve *Origanum majorana* L.) gıdalarda patojen olarak karşılaşılan *E. coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus* ve *Yersinia enterocolitica* bakterileri enhibe etme kabiliyetini disk difüzyon yöntemi kullanarak incelemiştir.

Analizlerde test edilen *Origanum onites* L., *E. coli* O157:H7 ve *S. aureus*'a karşı yüksek inhibitör aktivite göstermiştir. Bu çalışma kapsamında, *Origanum onites* L.'nin *E. coli* O157:H7 ve *S. aureus*'a karşı sırasıyla 19.17mm ve 28.14mm inhibisyon çapı oluşturarak Sağdıç, (2003)'ın bulguları desteklemiştir.

Hussien vd., (2011), hardal, kakule, fesleğen, kekik, karanfil ve tarçın hidrozollerinin dört patojenik bakterinin (*S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *S. typhimurium*) büyümesini engelleme kapasitesini araştırmıştır.

Hidrozollerin antimikrobiyal etkileri, hidrozol ile muamele edilmiş agar plakaları ve kontrol agar (hidrozol ile muamele edilmemiş agar) plakaları üzerinde mikrobiyal büyüme bölgesi ölçülerek ve ardından büyüme inhibisyon yüzdesi hesaplayarak belirlenmiştir.

Analiz edilen hidrozoller arasında en etkili olanı kakule hidrozolü olduğu bulunmuştur ve sadece %15'lik (v/v) bir konsantrasyon ile tüm test bakterilerin üremesini engellediğini göstermiştir. Kakuleden sonra, %10 ile %100 arasında değişen inhibisyon kapasiteleri ile tarçın, karanfil ve kekik de en etkili hidrozoller olduğu bulunmuştur.

4.2.3.2. Minimum İnhibitör Konsantrasyonu Analiz sonuçların değerlendirilmesi

TH, THC ve THM örneklerinin 250 µg/mL, 187.5 µg/mL, 125 µg/mL, 62.5 µg/mL, 25 µg/mL, 12,5 µg/mL, 5 µg/L konsantrasyonları; *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella enterica* sv. *Typhimurium*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* mikroorganizmalarına karşı test edilmiş ve sonuçları tablo 8 'de gösterilmiştir.

Test mikroorganizmalarına karşı TH'nin MİK değerleri 42,33 µg/mL ortalamasıyla 21.87-62.50µg/mL aralığında değişirken, THM ise 22.83 µg/mL ortalamasıyla 5.00-109.37µg/mL aralığında değer göstermiştir. THC'nin MİK değerleri ise 32,38 µg/mL ortalamasında 21.87-125.00 µg/mL aralığında farklılık göstermiştir.

THM'nin MİK değerleri *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella enterica* sv. *Typhimurium*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* için TH'ye göre daha düşük olduğu ($p < 0.05$) bulunmuştur. Buna karşın *Candida albicans*'a karşı TH'nin MİK değeri THM'ye göre daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Dolayısıyla *Candida albicans*'a karşı THM'nin antimikrobiyal gücü TH'ye göre daha düşük iken diğer mikroorganizmalar için daha yüksek olduğu sonucuna varılmaktadır.

Bu sonuçlar agar difüzyon analizinin bulguları ile yüksek derecede uyumluluk göstermektedir ve böylece TH'ye yapılan malik asit takviyesi onun antimikrobiyal kapasitesini üzerine pozitif etki oluşturduğunu kanıtlamaktadır.

THM örneğinde olduğu gibi, askorbik asidin eklenmesi TH'nin antimikrobiyal kapasitesini önemli ölçüde iyileştirmiştir. THC özellikle, *E. coli* O157:H7, *E. coli*, *Y. enterocolitica*, *B. cereus* ve *S. Typhimurium* mikroorganizmalarına karşı TH'ye göre daha yüksek bir antimikrobiyal aktivite sergilemiştir. Yine THM maddesine benzer bir şekilde, THC karışımı *C. albicans*'a karşı TH'den daha düşük antimikrobiyal kapasite göstermiştir.

Sonuç olarak hem malik asidin hem de askorbik asidin eklenmesi TH'nin antimikrobiyal kapasitesini önemli ölçüde geliştirirse de yukarıdaki bulgulara göre TH için malik asit takviyesi daha büyük bir mikrobiyosidal kapasite kazandırmıştır.

Khalaf & Zahra (2020), Okaliptüs hidrozölü için 8 mikroorganizmaya karşı MİK analizi gerçekleştirmiştir. Bu deneyin sonucunda bulunan MİK değerleri bu çalışmadaki TH, THC ve TH örneklerin MİK değerlerine göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Örneğin Okaliptüs hidrozölün *K. pneumoniae* ve *P. vulgaris* bakterilere karşı oluşturduğu MİK değeri 100 µg/mL iken bu çalışmada tarçın hidrozölü bu bakterilere karşı oluşan MİK değeri sırasıyla 21.87 µg/mL ve 43.75 µg/mL'dir.

Yavuzer & Kuley Boğa (2020) çalışmasında *Citrus sinensis* (portakal), *Punica granatum* (nar), *Citrus maxima* (pomelo) ve *Thymus vulgaris* (bahçe kekiği) bitki hidrozollerinin minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) 5 mikroorganizmaya karşı incelemiştir. *Thymus vulgaris* hidrozölünün *Staphylococcus aureus*'e karşı 50 µg/mL değerinde bir MİK değeri gösterirken bu çalışmada tarçın hidrozölü aynı bakteriye karşı 43.75 µg/mL MİK değeri kaydetmiştir.

4.1.4. Model Gıda Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi

4.1.4.1. *Escherichia coli* O157:H7 sayımı

15, 30 ve 45 dk boyunca THM, THC, TH ve suyu (kontrol) kullanarak yıkanan kaşar peyniri numularında *Escherichia coli* O157:H7'in sayım sonuçları Tablo 9'de gösterilmiştir.

Kaşar peynirinin 15 dk boyunca suyla yıkamansı muamele önceki peynirlere göre *O157:H7* sayılarında 1.34 log'luk bir indirmeye neden olmuştur. Bununla beraber su örneği için 15, 30 ve 45 dk'luk uygulamalar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

15 dk süren ve TH, THC ve THM maddeleri kullanarak yapılan yıkama işlemleri *O157:H7* 'nin, toplam mikrobiyal yükü üzerinde sırasıyla 2.29, 2.98 ve 3.17 log'luk bir azalmaya sebep olurken, su ile yapılan yıkama *O157:H7* 'nin sayıları üzerine daha düşük bir etkiye neden olup 1.34 log'luk bir azalmaya neden olmuştur ($p<0.05$).

TH, THC ve THM örneklerinin 15 ve 45dk'luk uygulamaları arasında fark bulunurken 15 ve 30 dk'luk muameleleri arasında istatistiksel olarak bir fark tespit edilmemiştir ($p>0.05$).

TH, THC ve THM örneklerinin tüm işlem süreleri için *E. coli O157:H7* 'e karşı antimikrobiyal etkileri birbirinden farklılık göstermiştir ve en zayıftan en kuvvetliye göre TH, THC ve THM olarak sıralanabilmektedir. Mesela 30dk süren yıkama işlemlerinde *E.coli O157:H7* 'ye karşı; THC, TH'ye göre 0.68 log kadar daha yüksek bir inhibisyon sağlarken; THM, TH'ye göre 0.87 log kadar bir yükselme sağlamıştır ($p<0.05$).

4.1.4.2. *Salmonella enterica* sv. *Typhimurium* sayımı

15, 30 ve 45 dk boyunca THM, THC, TH ve suyu (kontrol) kullanarak yıkanan kaşar peyniri numulerinde *Salmonella enterica* sv. *Typhimurium*'in sayım sonuçları Tablo 10 'da gösterilmiştir.

Çeşme suyu aracılığıyla gerçekleştirilen ve 15 dk süren yıkama işlemi kaşar peynirinin *Salmonella enterica* sv. *Typhimurium* mikrobiyal yükü üzerinde 0.63 log'luk bir azalmaya neden olmuştur. Kontrol olarak kullanılan suyun etkisiyle kıyaslandığında, TH, THC ve THM'nin tüm yıkama süreleri için sağlanan antimikrobiyal etkisinin daha kuvvetli olduğu gözlemlenmiştir. Örneğin kaşar peynirinin 15 dk boyunca THM kullanarak gerçekleştirilen yıkama işlemi sonrasında *Salmonella enterica* sv. *Typhimurium* önceki uygulamalara göre 3.49 log kadar azalma sağlamış olup, kontrolün aynı sürede gösterdiği etkinin 5,54 katı kadar bir etki gösterdiği tespit edilmiştir.

15 dk süren yıkama işlemleri sırasında TH, THC ve THM örneklerinin *Salmonella enterica* sv. *Typhimurium* 'un mikrobiyal yükü üzerine sırasıyla; 1.87, 2.13 ve 3.49 log'luk bir azalmaya sebep olmuştur. Böylece *Salmonella enterica* sv. *Typhimurium*'a karşı, test

edilen üç farklı antimikrobiyal madde arasında en yüksek antimikrobiyal etki gösterenler sırasıyla THM, THC ve daha sonra TH olduğu gözlenmiştir.

Uygulama zamanının artmasıyla beraber TH'nin kaşar peynirlerinin *Salmonella enterica* sv. *Typhimurium* yükü üzerine etkisi artmıştır ve diğer örneklerin aksine, 15, 30 ve 45dk'lık uygulamaların arasında istatistiksel olarak farklılıklar olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$).

4.1.4.3. *Staphylococcus aureus* sayımı

15, 30 ve 45 dk sürelerinde THM, THC, TH ve steril şebeke suyu (kontrol) kullanarak yıkanan kaşar peyniri numulerinde *Staphylococcus aureus* için gerçekleştirilen sayım sonuçları Tablo 11'de gösterilmiştir.

Kontrol ile yapılan ve 15 dk süren yıkama işlemi sonucunda kaşar peynirin *Staphylococcus aureus* yükü 0.63 log kadar düşmüştür. TH, THC ve THM'nin tüm uygulama süreleri boyunca sağlanan mikrobiyosidal etkilerinin kontrol numunesinden daha kuvvetli olduğu gözlemlenmiştir. Örneğin, THC 30 dk'lık uygulamada *Staphylococcus aureus* mikrobiyal yükünü, öncekine kıyasla 3.49 log kadar azalttığı anlaşılmıştır ve bu etkinin kontrol numunesinin aynı sürede gösterdiğinin 5,54 katı kadar olduğu anlaşılmıştır.

30 dk süren yıkama işlemleri için; TH, THC ve THM numunelerinin *Staphylococcus aureus* mikrobiyal yükü üzerinde sırasıyla 1.58, 1.79 ve 1.80 log'luk bir azalmaya sebep olmuştur. Bu sayede, *Staphylococcus aureus*'e karşı, test edilen üç antimikrobiyal madde arasında en yüksek antimikrobiyal etki gösterenlerin THC ve THM antimikrobiyal maddeleri olduğu anlaşılmıştır.

Uygulama zamanının artmasıyla beraber TH'nin kaşar peynirlerin *Staphylococcus aureus* yükü üzerine etkisinde bir artış gözlenmemiş olup, 15, 30 ve 45dk'lık uygulamaları arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır ($p<0.05$).

4.1.4.4. *Candida albicans* sayımı

15, 30 ve 45 dk sürelerinde THM, THC, TH ve kontrol kullanarak yıkanan kaşar peyniri numulerinde *Candida albicans*'a ait sayım sonuçları Tablo 12'de gösterilmiştir.

Bu analizde *Candida albicans*'a karşı test edilen tüm antimikrobiyal maddelerin, 15, 30 ve 45 dk uygulama süreleri için kontrolden daha etkili oldukları tespit edilmiştir. Mesela,

kontrol ile gerçekleştirilen ve 15dk süren yıkama işlemi *Candida albicans*'ın sayısında 0.28 log düşmeye neden olurken, TH aynı süre içinde 1.58 log azalmaya sebep olmuş olup, kontrole göre 5.6 kat daha yüksek bir antimikrobiyal kapasite göstermiştir.

TH, THC ve THM örneklerinin tüm işlem süreleri için *Candida albicans*' a karşı antimikrobiyal etkilerinin istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğu gözlemlenmiştir ($p<0.05$).

Hidrokol karışımlarının etkinlik kapasiteleri THM>THC>TH şeklinde sıralanabilmektedir. Örneğin 15 dk süren yıkama uygulamalarında, TH, kaşar numunesinin mikrobiyal yükünde 1.58 log kadar düşürme sağlarken, THC 1.69 log kadar düşürme sağlamıştır. THM ise, aynı koşullarda *Candida albicans* 'ın sayılarında 1.96 log kadar bir düşürme gerçekleştirerek en yüksek antimikrobiyal etki göstermiştir ($p<0.05$).

4.1.4.5. *Aspergillus flavus* sayımı

15, 30 ve 45 dk sürelerinde THM, THC, TH ve kontrol kullanarak yıkanan kaşar peyniri numulerinde *Aspergillus flavus*'un sayım sonuçları Tablo 13 'te sunulmuştur.

Test edilen antimikrobiyal maddelerin *Aspergillus flavus*'a karşı birbirinden farklı antimikrobiyal kapasite gösterdiği anlaşılmıştır. 15 ve 30 dk'lık yıkama işlemlerinde *Aspergillus flavus*'un sayılarında en fazla azalmaya neden olan antimikrobiyal madde TH iken, 45 dk'lık işlemde en büyük azalma sağlayan karışımın THM olduğu gözlenmiştir.

TH, THC ve THM'nin *Aspergillus flavus* 'a karşı tüm uygulama sürelerinde kontrolden daha etkili oldukları tespit edilmiştir. Örneğin, kontrolün 45dk süren yıkama işleminden sonra, *Aspergillus flavus*'ın sayısında 0.34 log kadar bir azalma meydana gelirken, THM aynı süre içinde 1.53 log azalmaya sebep olup, kontrole göre 4,5 kat daha yüksek bir antimikrobiyal kapasite göstermiştir ($p<0.05$).

4.1.4.5. Model Gıda Analizinin Genel Sonuçları

Kaşar peynirinde test edilen TH, THC ve THM maddelerinin kontrol ile kıyasla model gıda için önemli sayılabilecek bir seviyede antimikrobiyal koruma sağladığı anlaşılmıştır.

Bu analizlerde, *Aspergillus flavus* dışında test edilen tüm mikroorganizmaların yükünü en fazla düşürme kabiliyeti taşıyan ve dolayısıyla en yüksek antimikrobiyal etki sergileyen, antimikrobiyal maddenin THM olduğu kanıtlanmıştır. *Aspergillus Flavus* 'a

karşı ise TH'nün en yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bununla birlikte, özellikle test bakterilerine karşı, THC'nin TH'ye göre daha yüksek bir antimikrobiyal etki gösterdiği gözlenmiştir.

Yıkama süresinin artması bazen antimikrobiyal maddelerin etkisini arttırırken, çoğunlukla kayda değer bir etki göstermemiştir ($p>0.05$).

Tornuk vd., (2011), *E. coli O157:H7* ve *S. Typhimurium* ile bulaştırılmış ve daha sonra 4 farklı bitki hidrozolu ile yıkanmış elma ve havuç numunelerinde *E. coli O157:H7* ve *S. Typhimurium* sayılarını analiz etmişlerdir. Tornuk vd, (2011)'in çalışması kapsamında *Thymus vulgaris* L. (bahçe kekiği) ile 20dk'lık yıkama işlemi geçiren elma örneklerinde *E. coli O157:H7* sayılarında 1.42 log kadar azalma sağlanırken, bu tez çalışmasında, TH ile yapılan 15dk süren uygulamada *O157:H7* sayılarında 2.29 log azalma meydana gelmiştir.

Öztürk vd., (2012), defne yaprağı, çörek otu, biberiye, adaçayı ve kekik bitki hidrosollerinin, taze kesilmiş elma üzerinde inoküle edilen *Listeria monocytogenes* üzerindeki inhibisyon etkisi araştırmıştır.

20 dakika süren hidrosol uygulama işlemi sonucunda, *L. monocytogenes* sayılarında 1-1.5 log kob arasında azalma kaydedilmiştir. Tedavi süresini 60 dakikaya uzatıldığında ekstra antimikrobiyal etki görülmemiştir.

Bu çalışmada test edilen antimikrobiyal karışımlardan THC karışımı, *S. Aureus*'ın sayılarında (*L. Monocytogenes* gibi gram pozitif bir bakteri) 3.49 log kadar azalma oluşturarak daha yüksek antimikrobiyal etki göstermiştir.

Karampoula vd., (2016), *Thymbra capitata*'nın (Acı kekik) hidrozolu *Salmonella enterica* sv. *Typhimurium*'a karşı antimikrobiyal aktivitesini değerlendirmiştir ve etkisini yaygın olarak kullanılan bir endüstriyel biyosit olan benzalkonyum klorür ile karşılaştırmıştır.

Thymbra capitata hidrozolu, sırasıyla %37.5, %40 ve 42 (v/v) konsantrasyonları uygulanarak elde edilen 1.2, 2.8 ve 4.7 log azalma olarak yüksek bakterisidal etki göstermiştir.

4.1.5. Zeta Potansiyeli ve Parçacık Boyutu Analiz Sonuçları

Parçacık Boyutu Analiz Sonuçları tablo 15 'te gösterilmiştir. 4 hafta boyunca oda sıcaklığında depolanan TH ve THC örneklerin parçacık boyutlarında bir artış görülmemiştir. Bu bulgular kümeleşme veya topaklanma olayların meydana gelmediği

göstermektedir ve bu örneklerin depolamaya süresi boyunca stabil kaldıklarını vurgulamaktadır. 3. Haftadan sonra, THM örneğinin parçacık boyutunda bir artış görülmüştür. Dolayısıyla THM örneği diğer örneklerden daha az stabil olup 2 hafta boyunca stabilitesini koruduğunu görülmüştür.

Zeta Potansiyeli Analiz Sonuçları tablo 14'te gösterilmiştir. Depolama süresi boyunca, en yüksek zeta potansiyeline sahip örnek TH olduğu görülmüştür. THC ve THM örnekleri ise birbirlerine yakın bir potansiyel sergilemişlerdir. Bu bulgulara dayanarak en yüksek depolama stabilitesine sahip örnek TH olduğu kanıtlanmıştır.

4.2. Öneriler

- Bu tez çalışmasında, bazı bitkilerin hidrodistilasyon işleminin atık ürünü olarak bilinen hidrozollerin önemli antimikrobiyal özelliklere sahip oldukları bir kez daha ispatlanmıştır.
- Test edilen bitki hidrozolleri arasında en geniş spektrumlu antimikrobiyal aktivite gösterenin tarçın hidrozolu olduğu belirlenmiştir. %3'luk malik asit takviyesi, tarçın hidrozolünün antimikrobiyal aktivitesini daha fazla yükseltmiştir.
- Tarçın Hidrozolünün düşük antioksidatif aktivite göstermesine karşın, Kara kekik ve İzmir kekiği hidrozolleri daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Fakat, tarçın hidrozolu üzerine yapılan %3'luk askorbik asit takviyesi, tarçın hidrozolün antioksidan aktivitesi önemli ölçüde yükselterek kara kekik ve izmir kekiğin antioksidan kapasitelerini geçmiştir.
- Bu çalışmada kullanılan Bitki hidrozollerinin hiçbir sitotoksik etkisi tespit edilmemiştir. Gıda uygulamaları için güvenli oldukları anlaşılmıştır. Literatürde geçen hidrozollerin GRAS statüsü, bu çalışmada yapılan sitotoksikite testi ile tarçın hidrozolünün ve kullanılan diğer kombinasyonların güvenlik durumları bir kez daha ispatlanmıştır.
- Ekstrakte edilen hidrozollerin oda sıcaklığında 4 haftalık depolama işlemi boyunca stabil kaldığı gözlenmiştir.

- Tarçın hidrozolü ve tarçın hidrozolünün malik ve askorbik asitler ile üretilen karışımlarının model gıdanın yüzeysel yıkma işleminde kontrol numunesinden yani steril şebeke suyundan daha etkili olduğu gözlenmiştir.



KAYNAKÇA

1. Cristina Figueiredo, José G. Barroso, Luis G. Pedro., 2008. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. April, 152–163. <https://doi.org/10.1002/ffj>
2. Adabiardakani, A., Hakimi, M., & Kargar, H., 2012. Cinnamaldehyde Schiff Base Derivatives: A Short Review. **World Applied Programming**, **211**, 472–476.
3. Agrawal, P. K. (2014). Natural Product Communications: Editorial. **Natural Product Communications**, **9**(8).
4. Al-Mariri, A., Saour, G., & Hamoud, R., 2012. In vitro antibacterial effects of five volatile oil extracts against intramacrophage Brucella abortus 544. **Iranian Journal of Medical Sciences**, **37**(2), 119–125.
5. Amaike, S., & Keller, N. P., 2011. Aspergillus flavus. **Annual Review of Phytopathology**, **49**, 107–133. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-072910-095221>
6. Aprotosoai, A. C., Hăncianu, M., Costache, I.-I., & Miron, A., 2014. Linalool: a review on a key odorant molecule with valuable biological properties. **Flavour and Fragrance Journal**, **29**(4), 193–219. <https://doi.org/10.1002/ffj.3197>
7. Armbruster, C. E., Mobley, H. L. T., & Pearson, M. M., 2018. Pathogenesis of Proteus mirabilis Infection . **EcoSal Plus**, **8**(1). <https://doi.org/10.1128/ecosalplus.esp-0009-2017>
8. Aytaç, S. A., & Ye, Z., 2001. Araştırmada ATP biyoluminesans Deneme planı : Önce Tryptic Soy Broth. **58**(2), 49–52.
9. Bajer, T., Šilha, D., Ventura, K., & Bajerová, P., 2017. Composition and antimicrobial activity of the essential oil, distilled aromatic water and herbal infusion from Epilobium parviflorum Schreb. **Industrial Crops and Products**, **100**, 95–105. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.02.016>
10. Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K., 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity : A review. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, **6**(2), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>

11. Bilişli, A. (2011). Gıda kimyası. Sidas yayınları. İzmir. 125-129.
12. Bingöl, K. K., & Özmen Toğay, S., 2017. Urfa Peynirlerinden İzole Edilen *Staphylococcus aureus* Suşlarında Enterotoksin Üretim Potansiyeli ve Metisilin Dirençliliği. **Akademik Gıda**, **15**(1), 29–29. <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.305772>
13. Boutekedjiret, C., Bentahar, F., Belabbes, R., & Bessiere, J. M., 2003. Extraction of rosemary essential oil by steam distillation and hydrodistillation. **Flavour and Fragrance Journal**, **18**(6), 481–484. <https://doi.org/10.1002/ffj.1226>
14. Bozkurt, H., Güdücüoğlu, H., Güzel Kurtoğlu, M., Körkoca, H., Hakkı Çiftçi, İ., Aygül, K., & Berktaş, M., 2005. *Proteus Vulgaris*'in Antimikrobiyal Duyarlılığı Klinik Örneklerden İzole Edilen *Proteus Vulgaris* Suşlarının Antimikrobiyal Ajanlara Duyarlılıkları. **12**(2), 145–148.
15. Çakır, A., 2004. Essential oil and fatty acid composition of the fruits of *Hippophae rhamnoides* L. (Sea Buckthorn) and *Myrtus communis* L. from Turkey. **Biochemical Systematics and Ecology**, **32**(9), 809–816. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2003.11.010>
16. Cavanagh, H. M. A., & Wilkinson, J. M., 2002. Biological activities of lavender essential oil. **Phytotherapy Research**, **16**(4), 301–308. <https://doi.org/10.1002/ptr.1103>
17. Çelik, S., & Özkaya, A., 2002. Effects of intraperitoneally administered lipoic acid, vitamin E, and linalool on the level of total lipid and fatty acids in guinea pig brain with oxidative stress induced by H₂O₂. **Journal of Biochemistry and Molecular Biology**, **35**(6), 547–552. <https://doi.org/10.5483/bmbrep.2002.35.6.547>
18. Chavan, P. S., & Tupe, S. G., 2014. Antifungal activity and mechanism of action of carvacrol and thymol against vineyard and wine spoilage yeasts. **Food Control**, **46**, 115–120. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.05.007>
19. Cleff, M. B., Meinerz, A. R., Xavier, M., Schuch, L. F., Meireles, M. C. A., Rodrigues, M. R. A., & de Mello, J. R. B., 2010. In Vitro activity of *Origanum vulgare* essential oil against *Candida* species. **Brazilian Journal of Microbiology**, **41**(1), 116–123. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822010000100018>

20. Clinical and Laboratory Standards Institute., 2012. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: Approved standard - Eleventh edition (C. 32, Sayı 1). <https://doi.org/M02-A11>
21. Collins, F. M., 1996. *Pasteurella, Yersinia, and Francisella*. Medical Microbiology. 123- 358.
22. D'Amato, S., Serio, A., López, C. C., & Paparella, A., 2018. Hydrosols: Biological activity and potential as antimicrobials for food applications. **Food Control**, **86**, 126–137. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.10.030>
23. Deng, L. L., Taxipalati, M., Que, F., & Zhang, H., 2016. Physical characterization and antioxidant activity of thymol solubilized Tween 80 micelles. **Scientific Reports**, **6**(7), 1–8. <https://doi.org/10.1038/srep38160>
24. Doyle, A. A., & Stephens, J. C., 2019. A review of cinnamaldehyde and its derivatives as antibacterial agents. **Fitoterapia**, **139**(11), 104405. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2019.104405>
25. Düzgüneş, Orhan, Kesici, Tahsin, Kavuncu, Orhan, Gürbüz, F., 1987. Araştırma Ve Deneme Metodları (İstatistik Metodları-II). 253-318
26. Ehuwa, O., Jaiswal, A. K., & Jaiswal, S., 2021. Salmonella, **Food Safety and Food Handling Practices. Foods**, **10**(5), 907. <https://doi.org/10.3390/foods10050907>
27. Eng, S.-K., Pusparajah, P., Ab Mutalib, N.-S., Ser, H.-L., Chan, K.-G., & Lee, L.-H., 2015. Salmonella : A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. **Frontiers in Life Science**, **8**(3), 284–293. <https://doi.org/10.1080/21553769.2015.1051243>
28. Evirgen, Ö., 2005. *Listeria monocytogenes* Enfeksiyonu ; Klini i , Tanı ve Tedavi Özellikleri. **12**(1), 32–35.
29. Fachini-Queiroz, F. C., Kummer, R., Estevão-Silva, C. F., Carvalho, Cunha Grespan, R., Bersani-Amado, & Cuman, R. K. N., 2012. Effects of thymol and carvacrol, constituents of thymus vulgaris L. essential oil, on the inflammatory response. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/657026>
30. Fredriksson-Ahomaa, M., & Korkeala, H., 2003. Low Occurrence of Pathogenic.

- Clinical Microbiology Reviews**, **16**(2), 220–229.
<https://doi.org/10.1128/CMR.16.2.220>
31. Garneau, F.-X., Collin, G., Gagnon, H., & Pichette, A., 2012. Chemical Composition of the Hydrosol and the Essential Oil of Three Different Species of the Pinaceae Family : *Picea glauca* (Moench) Voss., *Picea mariana* (Mill.) B.S.P., and *Abies balsamea* (L.) Mill. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, **15**(2), 227–236. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2012.10644040>
 32. Gharib, A. A., El-Hamid, El-Aziz, N. K. A., Yonan, E. Y., & Allam, M. O., 2020. *Bacillus cereus*: Pathogenicity, Viability and Adaptation. **Advances in Animal and Veterinary Sciences**, **8**(1). <https://doi.org/10.17582/journal.aavs/2020/8.s1.34.40>
 33. Giannuzzi, L., & Zaritzky, N. E., 1996. Effect of Ascorbic Acid in Comparison to Citric and Lactic Acid on *Listeria monocytogenes* Inhibition at Refrigeration Temperatures. **Food Science and Technology**, **29**(3), 278–285. <https://doi.org/10.1006/fstl.1996.0041>
 34. Golmakani, M. T., & Rezaei, K., 2008. Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. **Food Chemistry**, **109**(4), 925–930. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.084>
 35. Gönüz, A., & Özörgücü, B., 1999. An investigation on the morphology, anatomy and ecology of *Origanum onites* L. **Turkish Journal of Botany**, **23**(1), 19–32.
 36. Gowder, S., & Devaraj, H., 2010. A Review of the Nephrotoxicity of the Food Flavor Cinnamaldehyde. **Current Bioactive Compounds**, **6**(2), 106–117. <https://doi.org/10.2174/157340710791184877>
 37. Gruenwald, J., Freder, J., & Armbruster, N., 2010. Cinnamon and health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **50**(9), 822–834. <https://doi.org/10.1080/10408390902773052>
 38. Hakkı Bilgehan., 1996. Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakterioloji ve Bakteri Enfeksiyonları (9. baskı). Fakülteler Kitabevi. 381-708.
 39. Harris, L. G., Foster, S. J., Richards, R. G., Lambert, P., Stickler, D., & Eley, A., 2002. An introduction to *Staphylococcus aureus*, and techniques for identifying and

- quantifying *S. aureus* adhesins in relation to adhesion to biomaterials: Review. **European Cells and Materials**, **4**, 39–60. <https://doi.org/10.22203/ecm.v004a04>
40. Helander, I. M., Alakomi, H. L., Latva-Kala, K., Mattila-Sandholm, T., Pol, I., Smid, E. J., Gorris, L. G. M., & Von Wright, A., 1998. Characterization of the Action of Selected Essential Oil Components on Gram-Negative Bacteria. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **46**(9), 3590–3595. <https://doi.org/10.1021/jf980154m>
 41. Hili, P., Evans, C. S., & Veness, R. G., 1997. Antimicrobial action of essential oils: The effect of dimethylsulphoxide on the activity of cinnamon oil. **Letters in Applied Microbiology**, **24**(4), 269–275. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.1997.00073.x>
 42. Hossain, M. B., Brunton, N. P., Barry-Ryan, C., Martin-Diana, A. B., & Wilkinson, M., 2008. Antioxidant activity of spice extracts and phenolics in comparison to synthetic antioxidants. **Rasayan Journal of Chemistry**, **1**(4), 751–756.
 43. Hussien, J., Teshale, C., & Mohammed, J., 2011. Assessment of the antimicrobial effects of some Ethiopian aromatic spice and herb hydrosols. **International Journal of Pharmacology** (5), 635–640. <https://doi.org/10.3923/ijp.2011.635.640>
 44. Idrees, M., Sawant, S., Karodia, N., & Rahman, A., 2021. Staphylococcus aureus Biofilm: Morphology, Genetics, Pathogenesis and Treatment Strategies. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, **18**(14), 7602. <https://doi.org/10.3390/ijerph18147602>
 45. Iqbal Mujtaba., 2004. Batch distillation: design and operation (World Scientific Publishing Company). Imperial college press. 85-396.
 46. Juven, B. J., Kanner, J., Schved, F., & Weisslowicz, H., 1994. Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. **Journal of Applied Bacteriology**, **76**(6), 626–631. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1994.tb01661.x>
 47. Kabir, M. A., Hussain, M. A., & Ahmad, Z., 2012. Candida albicans : A Model Organism for Studying Fungal Pathogens. **ISRN Microbiology**, 2012, 1–15. <https://doi.org/10.5402/2012/538694>

48. Karampoula, F., Giaouris, E., Deschamps, J., Doulgeraki, A. I., Nychas, G.-J. E., & Dubois-Brissonnet, F. , 2016. Hydrosol of *Thymbra capitata* Is a Highly Efficient Biocide against *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Biofilms. **Applied and Environmental Microbiology**, **82**(17), 5309–5319. <https://doi.org/10.1128/AEM.01351-16>
49. Keskin, H., 1987. Besin Kimyası. İstanbul Üniversitesi Yayınları. 423-558
50. Khalaf, Z. Z., & Zahra, L. A., 2020. Evaluation of the activity of essential oil and hydrosol from *eucalyptus camaldulensis* against some bacterial species. **Iraqi Journal of Science**, **61**(6), 1282–1288. <https://doi.org/10.24996/ij.s.2020.61.6.5>
51. Khaledi, R., & Young, B. R., 2005. Modeling and model predictive control of composition and conversion in an ETBE reactive distillation column. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, **44**(9), 3134–3145. <https://doi.org/10.1021/ie049274b>
52. Khan, M., Khan, S. T., Khan, N. A., Mahmood, A., Al-Kedhairi, A. A., & Alkhathlan, H. Z., 2018. The composition of the essential oil and aqueous distillate of *Origanum vulgare* L. growing in Saudi Arabia and evaluation of their antibacterial activity. **Arabian Journal of Chemistry**, **11**(8), 1189–1200. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2018.02.008>
53. Kiliç, A., 2011. Enterohemorajik *Escherichia coli* (EHEC). **TAF Preventive Medicine Bulletin**, **10**(4), 387–388. <https://doi.org/10.5455/pmb.20110823054010>
54. Kim, J. H., Kwon, K. H., & Oh, S. W., 2016. Effects of malic acid or/and grapefruit seed extract for the inactivation of common food pathogens on fresh-cut lettuce. **Food Science and Biotechnology**, **25**(6), 1801–1804. <https://doi.org/10.1007/s10068-016-0274-5>
55. King, A. D., Hocking, A. D., & Pitt, J. I., 1979. Dichloran-rose bengal medium for enumeration and isolation of molds from foods. **Applied and Environmental Microbiology**, **37**(5), 959–964. <https://doi.org/10.1128/aem.37.5.959-964.1979>
56. Kivanç, M., & Akgül, A., 1986. Antibacterial activities of essential oils from Turkish spices and citrus. **Flavour and Fragrance Journal**, **1**(4–5), 175–179. <https://doi.org/10.1002/ffj.2730010409>

57. Klich, M. A., 2007. *Aspergillus flavus*: The major producer of aflatoxin. **Molecular Plant Pathology**, **8**(6), 713–722. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00436.x>
58. Kloos, W. E., & Bannerman, T. L., 1994. Update on clinical significance of coagulase-negative staphylococci. **Clinical Microbiology Reviews**, **7**(1), 117–140. <https://doi.org/10.1128/CMR.7.1.117>
59. Kutlular, Ö., 2007. Bazı Adaçayı ve Kekik Türlerinin Uçucu Yağlarının Süper Isıtılmış Su İle Ekstraksiyonları ve GC-MS İle Karakterizasyonu. Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Denizli, 94 s.
60. Labadie, C., Ginies, C., Guinebretiere, M.-H., Renard, C. M. G. C., Cerutti, C., & Carlin, F., 2015. Hydrosols of orange blossom (*Citrus aurantium*), and rose flower (*Rosa damascena* and *Rosa centifolia*) support the growth of a heterogeneous spoilage microbiota. **Food Research International**, **76**, 576–586. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.014>
61. Lambert, R. J. W., Skandamis, P. N., Coote, P. J., & Nychas, G. J. E., 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal of Applied Microbiology**, **91**(3), 453–462. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2001.01428.x>
62. Lani, M. N., Hassan, Z., Nilai, B. B., & Inactivation, U., 2016. *Listeria monocytogenes* : General Overview and Its Significance to Food Safety (Sayı December 2017).
63. Lim, J. Y., Yoon, J. W., & Hovde, C. J., 2010. A brief overview of *Escherichia coli* O157:H7 and its plasmid O157. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, **20**(1), 1–10. <https://doi.org/10.4014/jmb.0908.08007>
64. Lis-Balchin, M., Steyrl, H., & Krenn, E., 2003. The comparative effect of novel *Pelargonium* essential oils and their corresponding hydrosols as antimicrobial agents in a model food system. **Phytotherapy Research**, **17**(1), 60–65. <https://doi.org/10.1002/ptr.1086>
65. Lucchesi, M. E., Chemat, F., & Smadja, J., 2004. Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional

- hydro-distillation. **Journal of Chromatography**, **1043**(2), 323–327.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.05.083>
66. Mandal, S., ve Deb Mandal, M., 2016. Thyme (*Thymus vulgaris* L.) Oils. İçinde Essential Oils in Food Preservation, **Flavor and Safety**. 825–834. Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00094-8>
 67. Marchese, A., Orhan, I. E., Daglia, M., Barbieri, R., Di Lorenzo, A., Nabavi, S. F., Gortzi, O., Izadi, M., & Nabavi, S. M., 2016. Antibacterial and antifungal activities of thymol: A brief review of the literature. **Food Chemistry**, **210**, 402–414.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.111>
 68. Masood, N., Chaudhry, A., Saeed, S., & Tariq, P., 2007. Antibacterial effects of oregano (*Origanum vulgare*) against gram negative bacilli. **Pakistan Journal of Botany**, **39**(2), 609–613.
 69. Mclean, R. J. C., Nickel, J. C., Cheng, K. J., Costerton, J. W., & Banwell, J. G., 1988. The ecology and pathogenicity of urease-producing bacteria in the urinary tract. **Critical Reviews in Microbiology**, **16**(1), 37–79.
<https://doi.org/10.3109/10408418809104467>
 70. Mesaros, C., Culea, M., & Maria, I. A., 2009. GC-MS characterization of the compounds in some essential oils. **Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca - Agriculture**, **66**(1), 111–116.
<https://doi.org/10.15835/buasvmcn-agr:3745>
 71. Michailides, T., & Thomidis, T., 2007. First report of *Aspergillus flavus* causing fruit rots of peaches in Greece. **Plant Pathology**, **56**(2), 352.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2007.01536.x>
 72. Moț, A. C., Silaghi-Dumitrescu, R., & Sârbu, C., 2011. Rapid and effective evaluation of the antioxidant capacity of propolis extracts using DPPH bleaching kinetic profiles, FT-IR and UV-vis spectroscopic data. **Journal of Food Composition and Analysis**, **24**(4–5), 516–522.
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2010.11.006>
 73. Muhoza, B., Qi, B., Harindintwali, J. D., Koko, M. Y. F., Zhang, S., & Li, Y. (2021). Encapsulation of cinnamaldehyde: an insight on delivery systems and food

- applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 0(0), 1–23. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1977236>
74. Nabavi, S. M., Marchese, A., Izadi, M., Curti, V., Daglia, M., & Nabavi, S. F., 2015. Plants belonging to the genus *Thymus* as antibacterial agents: From farm to pharmacy. **Food Chemistry**, 173, 339–347. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.042>
 75. Nagoor Meeran, M. F., Javed, H., Tae, H. Al, Azimullah, S., & Ojha, S. K., 2017. Pharmacological properties and molecular mechanisms of thymol: Prospects for its therapeutic potential and pharmaceutical development. **Frontiers in Pharmacology**, 8(6), 1–34. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00380>
 76. Nikbakht, B., & Sani, A. M., 2016. Identification of *Salmonella* sps. from contaminated meat samples by multiplex pcr-based assay. **Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences**, 4(5), 512–518. [https://doi.org/10.18006/2016.4\(5\).512.518](https://doi.org/10.18006/2016.4(5).512.518)
 77. Okan Onur, varlıbaş hülya, öz mehmet, deniz I., 2013. Okan Antioksidan. Orman Fakültesi Dergis, 13 (1)(Antioksidan Analiz Yöntemleri ve Doğu Karadeniz Bölgesinde Antioksidan Kaynağı Olarak Kullanılabilecek Odun Dışı Bazı Bitkisel Ürünler), 48–59.
 78. Okhuysen, P. C., & DuPont, H. L., 2010. Enterohaggative *Escherichia coli* (EHEC): A cause of acute and persistent diarrhea of worldwide importance. **Journal of Infectious Diseases**, 202(4), 503–505. <https://doi.org/10.1086/654895>
 79. Özbalkıç, G., 2011. Tarçının Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi. Yakın Doğu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Projesi, 1–5.
 80. Özkan, G., Baydar, H., & Erbas, S., 2010. The influence of harvest time on essential oil composition, phenolic constituents and antioxidant properties of Turkish oregano (*Origanum onites* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 90(2), 205–209. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3788>
 81. Öztürk, G., Yetiman, A. E., & Doğan, M., 2019. The bioactive efficiency of ultrasonic extracts from acorn leaves and green walnut husks against *Bacillus cereus*: a hybrid approach to PCA with the Taguchi method. **Journal of Food**

- Measurement and Characterization**, **13**(2), 1257–1268.
<https://doi.org/10.1007/s11694-019-00041-7>
82. Öztürk, I., Tornuk, F., Çalışkan-Aydoğan, O., Durak, M. Z., & Sağdıç, O., 2016. Decontamination of iceberg lettuce by some plant hydrosols. **LWT - Food Science and Technology**, **74**, 48–54. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.067>
 83. Öztürk, I., Tornuk, F., Sağdıç, O., & Kişi, O., 2012. Application of non-linear models to predict inhibition effects of various plant hydrosols on *Listeria monocytogenes* inoculated on fresh-cut apples. **Foodborne Pathogens and Disease**, **9**(7), 607–616. <https://doi.org/10.1089/fpd.2012.1138>
 84. Pasqua, M., Michelacci, V., Di Martino, M. L., Tozzoli, R., Grossi, M., Colonna, B., Morabito, S., & Prosseda, G., 2017. The intriguing evolutionary journey of enteroinvasive *E. coli* (EIEC) toward pathogenicity. **Frontiers in Microbiology**, **8**(12), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02390>
 85. Quiroga, P. R., Asensio, C. M., & Nepote, V., 2014. Antioxidant effects of the monoterpenes carvacrol, thymol and sabinene hydrate on chemical and sensory stability of roasted sunflower seeds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, **95**(3), 471–479. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6744>
 86. Rajeswara Rao., 2013. Hydrosols and water-soluble essential oils: Medicinal and biological properties. **Recent Progress in Medicinal Plants**, **36**, 119–140.
 87. Ram Swaroop Verma, Rajendra Chandra Padalia., 2012. Analysis of the Hydrosol Aroma of Indian Oregano. *Medicinal & Aromatic Plants*, **01**(07). <https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000112>
 88. Ramos, M., Beltrán, A., Peltzer, M., Valente, A. J. M., & Garrigós, M. del C., 2014. Release and antioxidant activity of carvacrol and thymol from polypropylene active packaging films. **LWT - Food Science and Technology**, **58**(2), 470–477. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.04.019>
 89. Rao, P. V., & Gan, S. H., 2014. Cinnamon: A multifaceted medicinal plant. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/642942>
 90. Rasooli, I., 2017. Food preservation – A biopreservative approach Food

Preservation – A Biopreservative Approach. January 2007.

91. Ribeiro-Santos, R., Andrade, M., Madella, D., Martinazzo, A. P., de Aquino Garcia Moura, L., de Melo, N. R., & Sanches-Silva, A., 2017. Revisiting an ancient spice with medicinal purposes: Cinnamon. **Trends in Food Science and Technology**, **62**, 154–169. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.02.011>
92. Sağdıç O., 2003. Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols. **LWT - Food Science and Technology**, **36**(5), 467–473. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(03\)00037-9](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00037-9)
93. Sağdıç, O., & Özcan, M., 2003. Antibacterial activity of Turkish spice hydrosols. **Food Control**, **14**(3), 141–143. [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(02\)00057-9](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(02)00057-9)
94. Şahin, F., Güllüce, M., Daferera, D., Sökmen, A., Sökmen, M., Polissiou, M., Agar, G., & Özer, H., 2004. Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. **Food Control**, **15**(7), 549–557. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2003.08.009>
95. Sarikurkcü, C., Zengin, G., Oskay, M., Uysal, S., Ceylan, R., & Aktümsek, A., 2015. Composition, antioxidant, antimicrobial and enzyme inhibition activities of two *Origanum vulgare* subspecies (subsp. *vulgare* and subsp. *hirtum*) essential oils. **Industrial Crops and Products**, **70**, 178–184. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.03.030>
96. Seladji, M., Bekhechi, C., Beddou, F., Dib, H., & Bendimerad, N., 2014. Antioxidant activity and phytochemical screening of *Nepeta nepetella* aqueous and methanolic extracts from Algeria. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, **4**(2), 12–16. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2014.40203>
97. Shahpar, B., Moein, M., & Zarshenas, M. M., 2016. Chemical comparison of eleven cinnamon aromatic water samples from Fars (Iran) local markets with a standard sample.
98. Shahverdi, A. R., Monsef-Esfahani, H. R., Tavasoli, F., Zaheri, A., & Mirjani, R., 2007. Trans-cinnamaldehyde from *Cinnamomum zeylanicum* bark essential oil reduces the clindamycin resistance of *Clostridium difficile* in vitro. **Journal of Food Science**, **72**(1), S055–S058. <https://doi.org/10.1111/j.1750->

3841.2006.00204.x

99. Sharifi-Rad, M., Varoni, E. M., Iriti, M., Martorell, M., Setzer, W. N., del Mar Contreras, M., Salehi, B., Soltani-Nejad, A., Rajabi, S., Tajbakhsh, M., & Sharifi-Rad, J., 2018. Carvacrol and human health: A comprehensive review. **Phytotherapy Research**, 32(9), 1675–1687. <https://doi.org/10.1002/ptr.6103>
100. Silva, L. V., Nelson, D. L., Drummond, M. F. B., Dufossé, L., & Glória, M. B. A. (2005). Comparison of hydrodistillation methods for the deodorization of turmeric. **Food Research International**, 38(8–9), 1087–1096. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.02.025>
101. Sobel, J. D., 1999. Vulvovaginitis in Healthy Women. 335–346.
102. Soll, D. R., Staebell, M., Langtimm, C., Pfaller, M., Hicks, J., & Rao, T. V. G., 1988. Multiple Candida strains in the course of a single systemic infection. **Journal of Clinical Microbiology**, 26(8), 1448–1459. <https://doi.org/10.1128/jcm.26.8.1448-1459.1988>
103. Souza, E. L., Stamford, T. L. M., Lima, E. O., & Trajano, V. N., 2007. Effectiveness of Origanum vulgare L. essential oil to inhibit the growth of food spoiling yeasts. **Food Control**, 18(5), 409–413. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.11.008>
104. Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Serrano, C., Matos, O., Neng, N. R., Nogueira, J. M. F., Saraiva, J. A., & Nunes, M. L., 2013. Chemical composition and bioactivity of different oregano (Origanum vulgare) extracts and essential oil. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 93(11), 2707–2714. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6089>
105. Tepe, B., Çakır, A., & Sihoğlu Tepe, A., 2016. Medicinal Uses, Phytochemistry, and Pharmacology of Origanum onites (L.): A Review. **Chemistry and Biodiversity**, 13(5), 504–520. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201500069>
106. Tornuk, F., Cankurt, H., Öztürk, I., Sağdıç, O., Bayram, O., & Yetim, H., 2011. Efficacy of various plant hydrosols as natural food sanitizers in reducing Escherichia coli O157:H7 and Salmonella enterica sv. Typhimurium on fresh cut carrots and apples. **International Journal of Food Microbiology**, 148(1), 30–35. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.04.022>

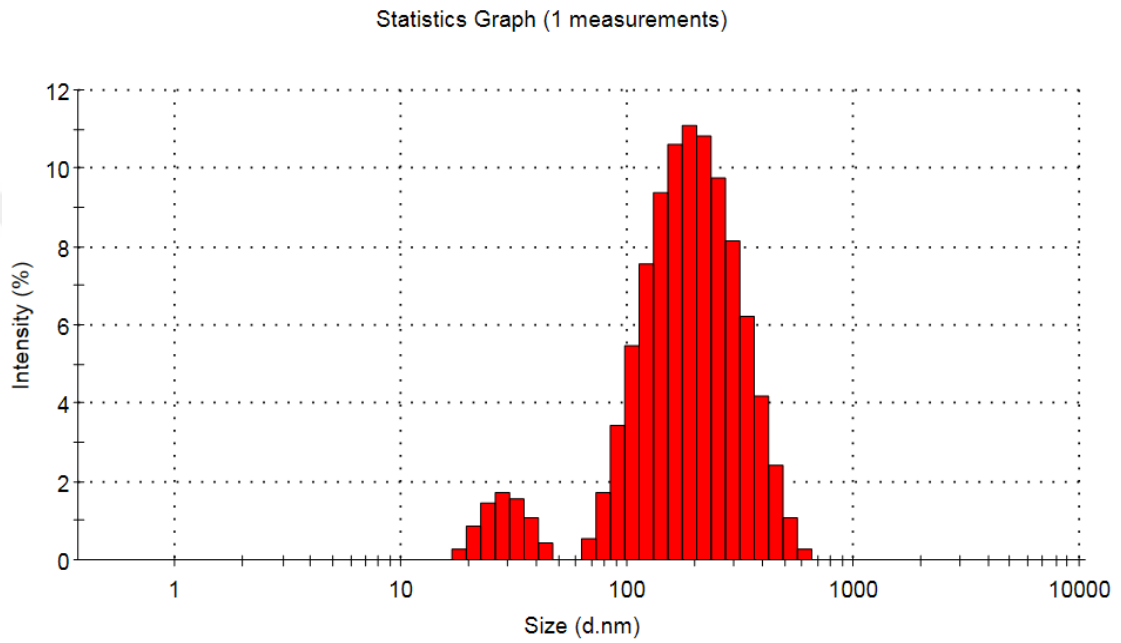
107. Vasconcelos, N. G., Croda, J., & Simionatto, S., 2018. Antibacterial mechanisms of cinnamon and its constituents: A review. **Microbial Pathogenesis**, **120**(4), 198–203. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.04.036>
108. Wang, J. H., Liu, Y. C., Lee, S. S. J., Yen, M. Y., Chen, Y. S., Wang, J. H., Wann, S. R., & Lin, H. H., 1998. Primary liver abscess due to *Klebsiella pneumoniae* in Taiwan. **Clinical Infectious Diseases**, **26**(6), 1434–1438. <https://doi.org/10.1086/516369>
109. Wang, R., Wang, R., & Yang, B., 2009. Extraction of essential oils from five cinnamon leaves and identification of their volatile compound compositions. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, **10**(2), 289–292. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2008.12.002>
110. Wiegand, I., Hilpert, K., & Hancock, R. E. W., 2008. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. **3**(2), 163–175. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.521>
111. Yadav, G. D., & Kamble, S. B., 2009. Synthesis of carvacrol by Friedel-Crafts alkylation of o-cresol with isopropanol using superacidic catalyst. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, **84**(10), 1499–1508. <https://doi.org/10.1002/jctb.2210>
112. Yanishlieva, N. V, Marinova, E. M., Gordon, M. H., & Raneva, V. G., 1999. Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. **Food Chemistry**, **64**(1), 59–66. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00086-7](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00086-7)
113. Yavaşca, T., 2009. Bakır(II)-Katalizli C Vitamini Oksidatif Bozunumunun Koruyucu Meyve Asitleri Varlığında Kinetik İncelenmesi.
114. Yavuzer, E., & Kuley Boğa, E., 2020. Testing the Antimicrobial Effects of Some Hydrosols on Food Borne-Pathogens and Spoilage Bacteria. **Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research**, **6**(1), 47–51. <https://doi.org/10.17216/limnofish.618101>
115. Youdim, K. A., & Deans, S. G., 2000. Effect of thyme oil and thymol dietary supplementation on the antioxidant status and fatty acid composition of the ageing

- rat brain. **British Journal of Nutrition**, 83(1), 87–93.
<https://doi.org/10.1017/s000711450000012x>
116. Yu, T., Yao, H., Qi, S., & Wang, J. 2020. GC-MS analysis of volatiles in cinnamon essential oil extracted by different methods. **Grasas y Aceites journal**, 71(3).
<https://doi.org/10.3989/gya.0462191>
117. Zhu, L., Olsen, C., McHugh, T., Friedman, M., Jaroni, D., & Ravishankar, S., 2014. Apple, Carrot, and Hibiscus Edible Films Containing the Plant Antimicrobials Carvacrol and Cinnamaldehyde Inactivate Salmonella Newport on Organic Leafy Greens in Sealed Plastic Bags. **Journal of Food Science**, 79(1), M61–M66.
<https://doi.org/10.1111/1750-3841.12318>

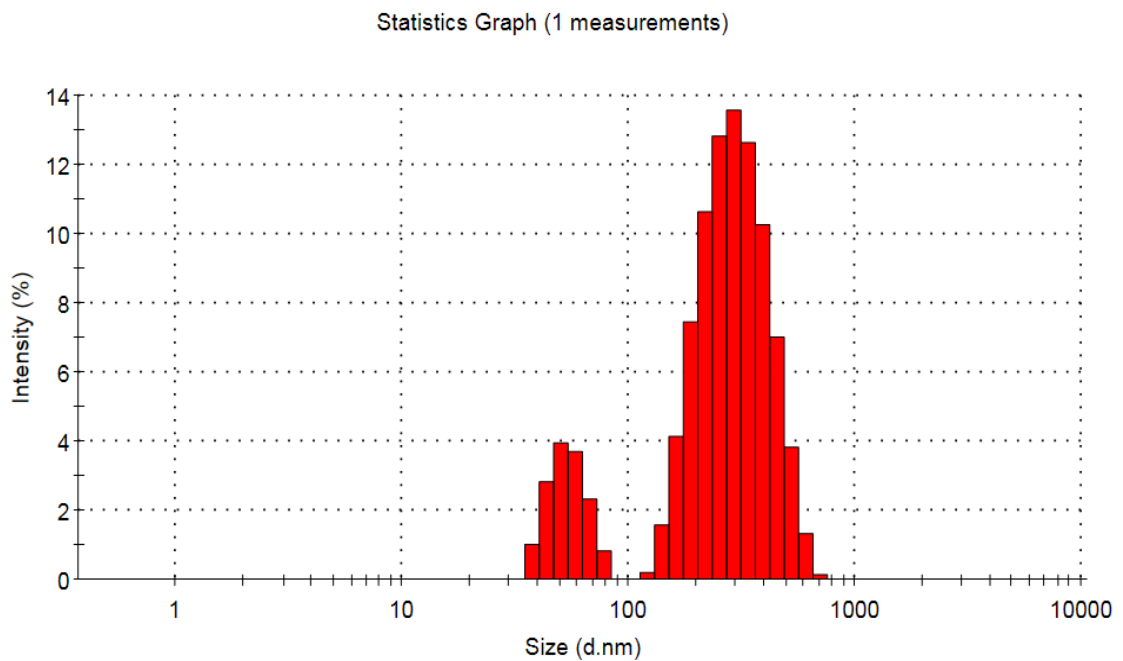
EKLER

Parçacık Boyutu Analizleri Dağılım Grafikleri

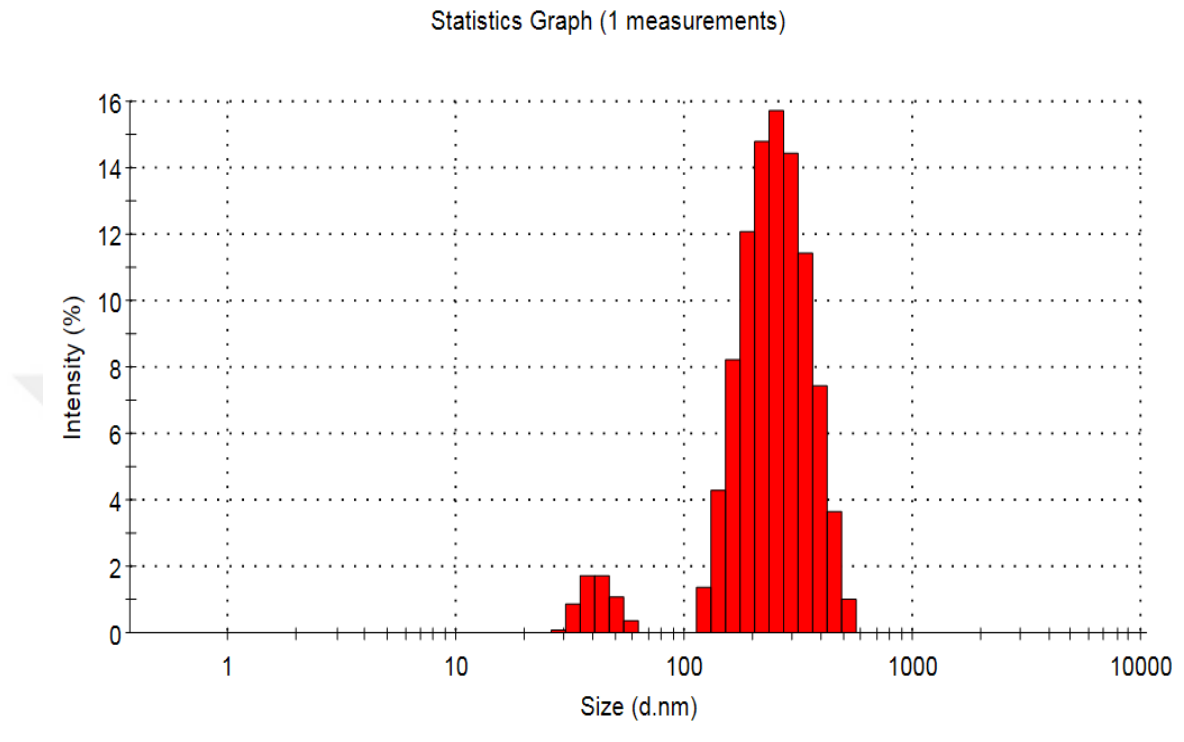
EK 1. TH için 1. Ölçüme ait partikül boyutu dağılım grafiği.



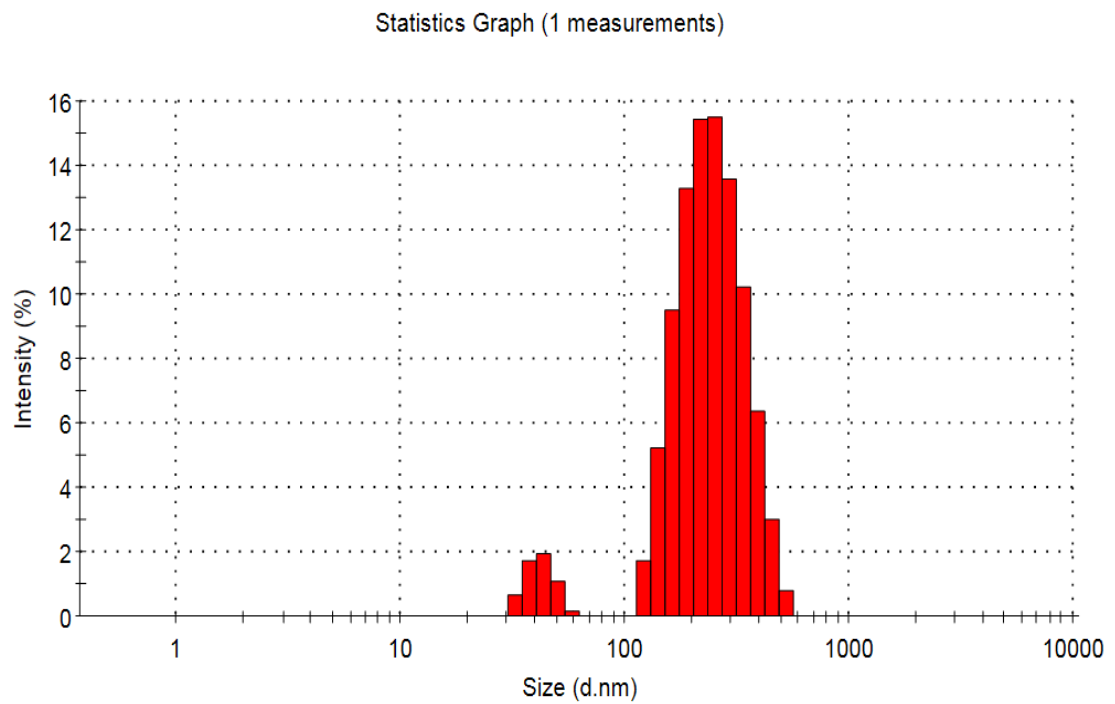
EK 2. TH için 2. Ölçüme ait partikül boyutu dağılım grafiği.



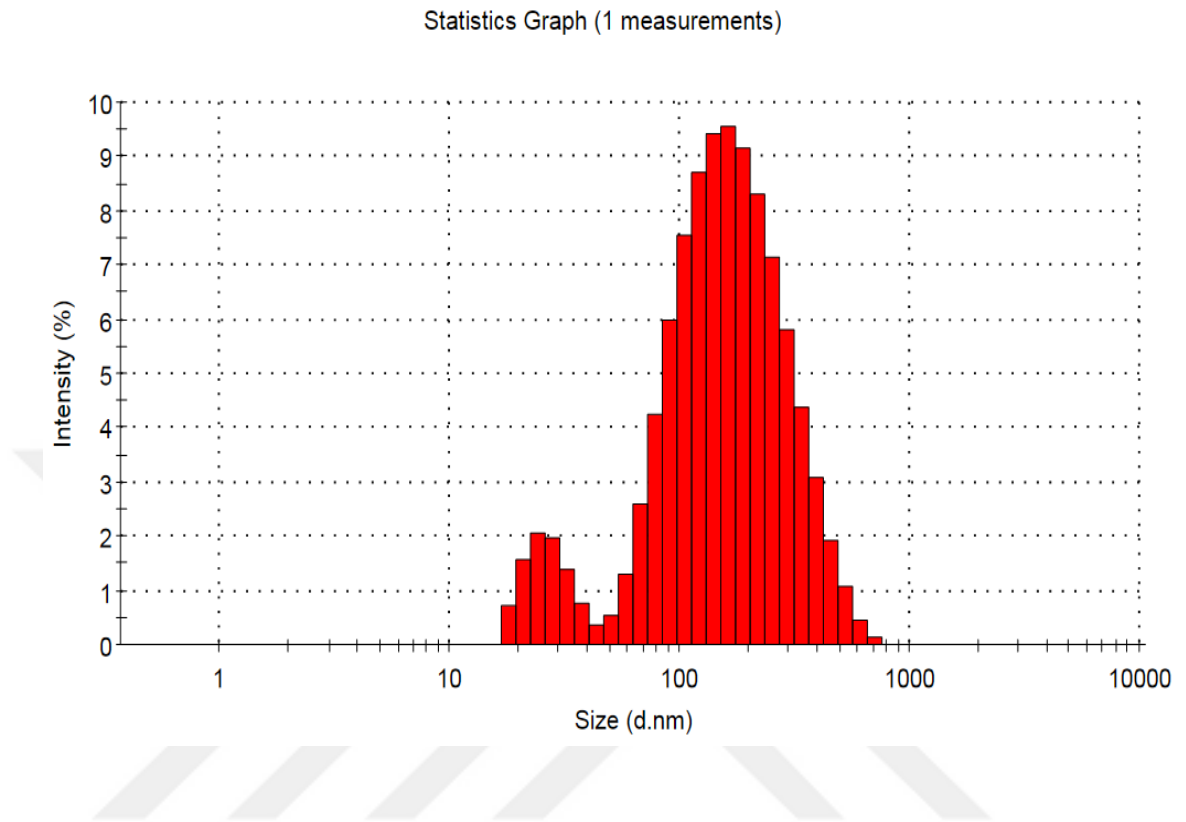
EK 3.TH için 3. Ölçüme ait partikül boyutu dağılım grafiği.



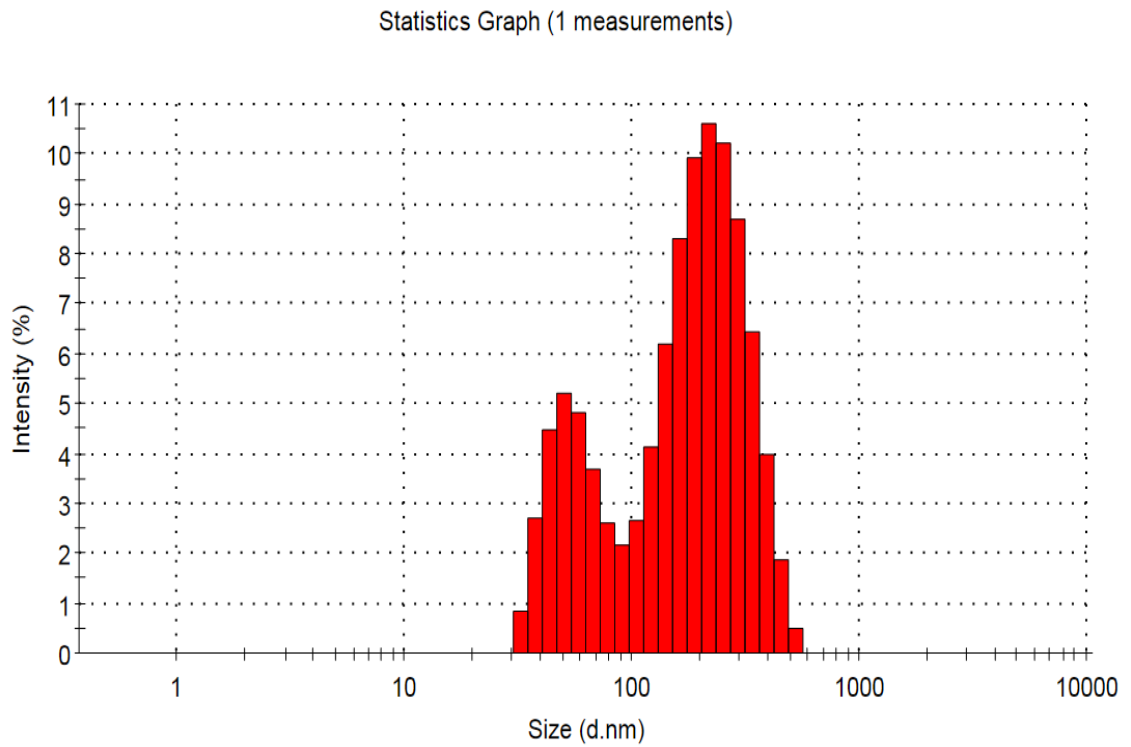
EK 4. TH için 4. Ölçüme ait partikül boyutu dağılım grafiği.



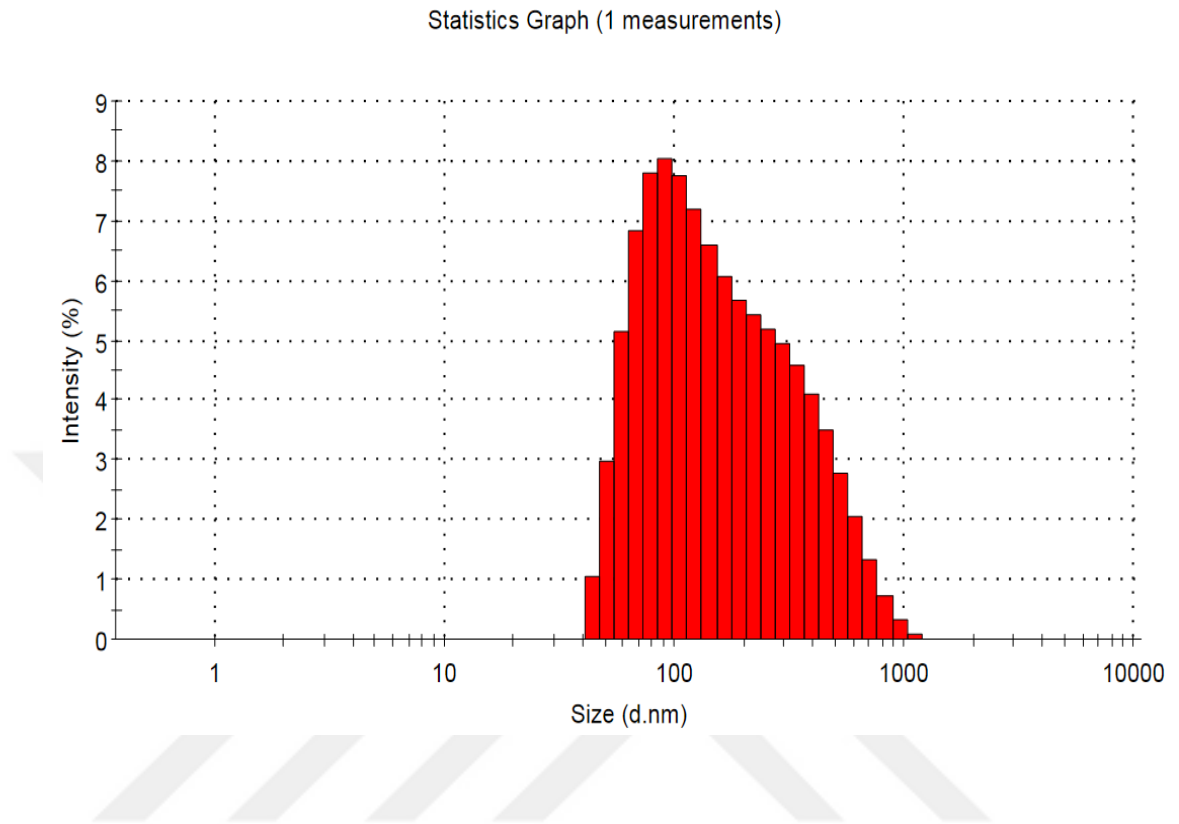
EK 5. THC için 1. Ölçüme ait partikül boyutu dağılım grafiği.



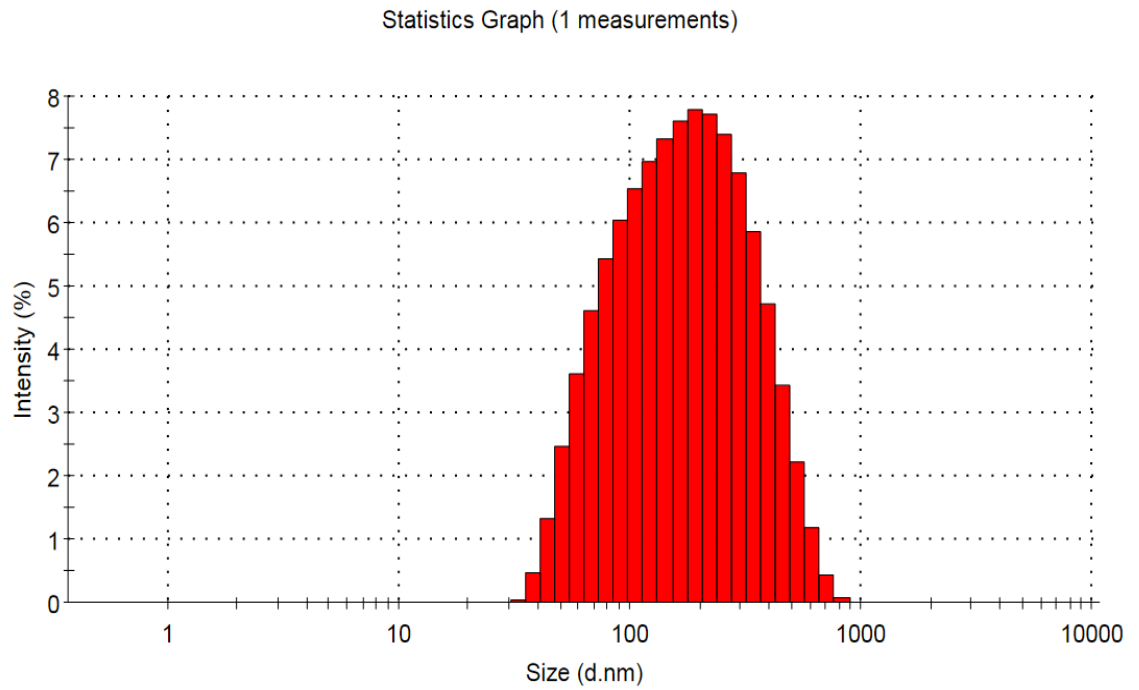
EK 6. THC için 2. Ölçüme ait partikül boyutu dağılım grafiği.

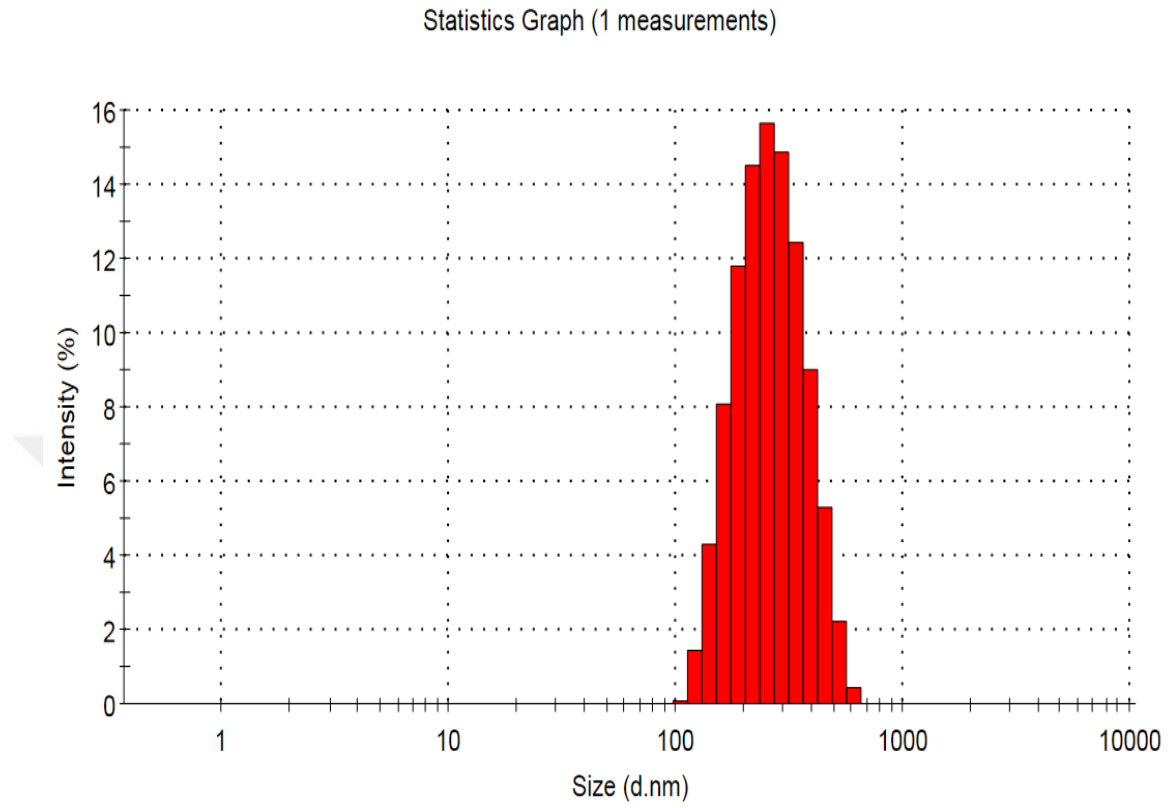
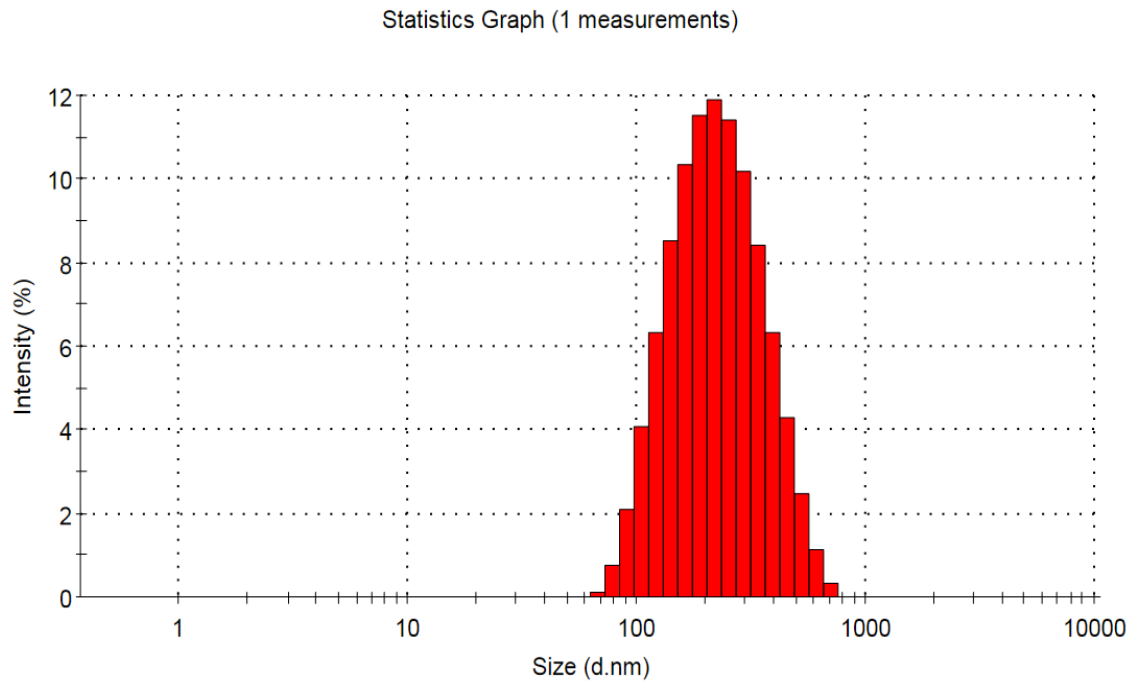


EK 7. THC için 3. Ölçüme ait partikül boyutu dağılım grafiği.

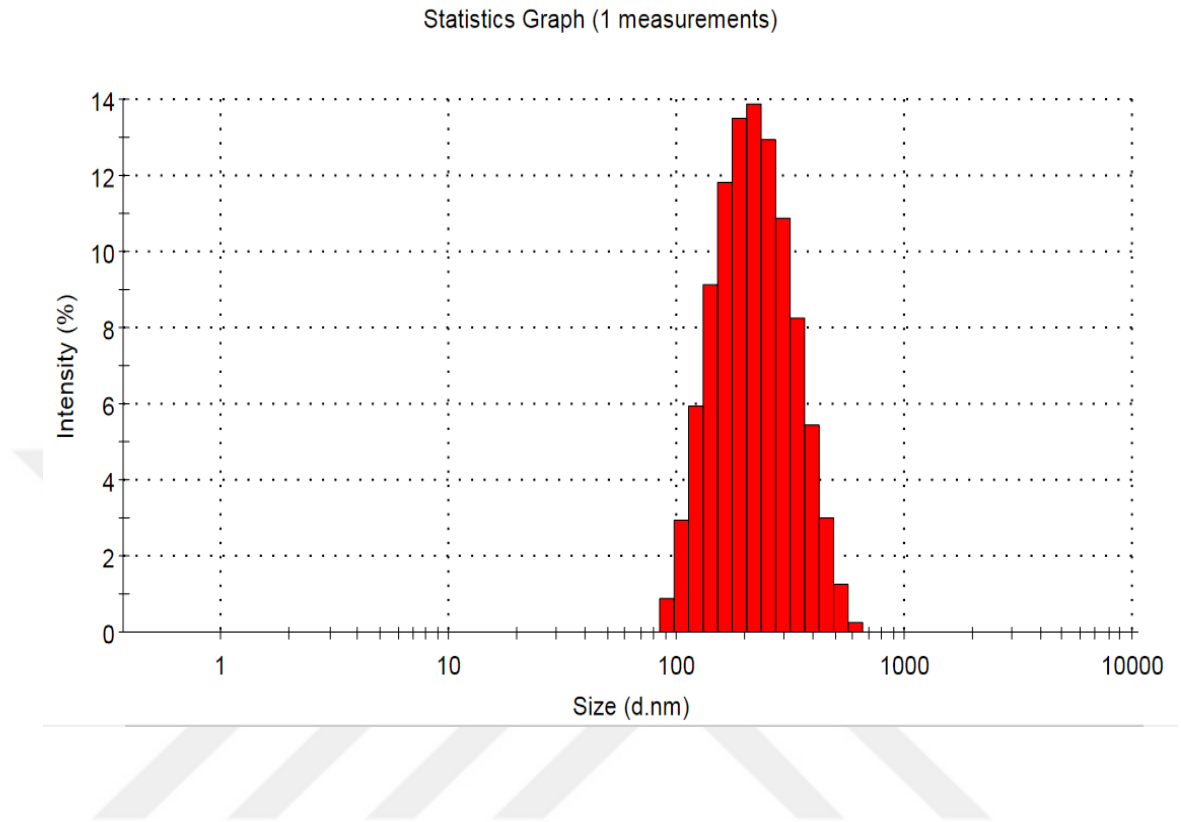


EK 8. THC için 4. Ölçüme ait partikül boyutu dağılım grafiği.

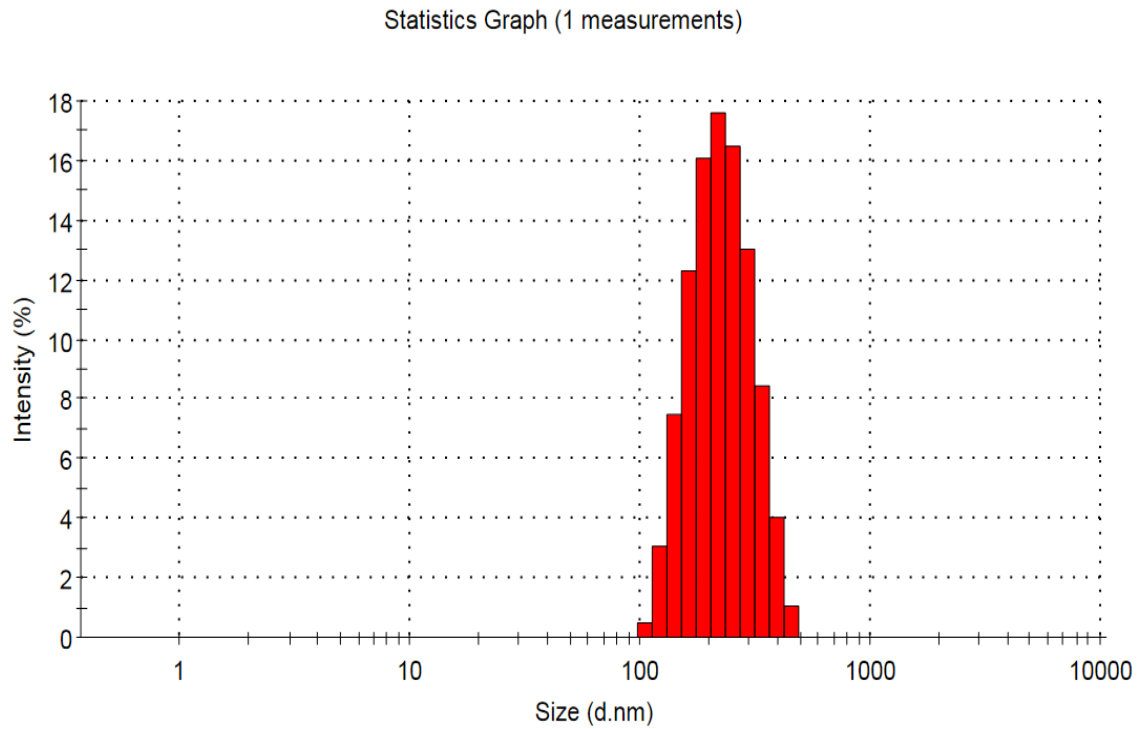


EK 9. THM için 1. Ölçüme ait partikül boyutu dağılım grafiği.**EK 10.** THM için 2. Ölçüme ait partikül boyutu dağılım grafiği.

EK 11. THM için 3. Ölçüme ait partikül boyutu dağılım grafiği.

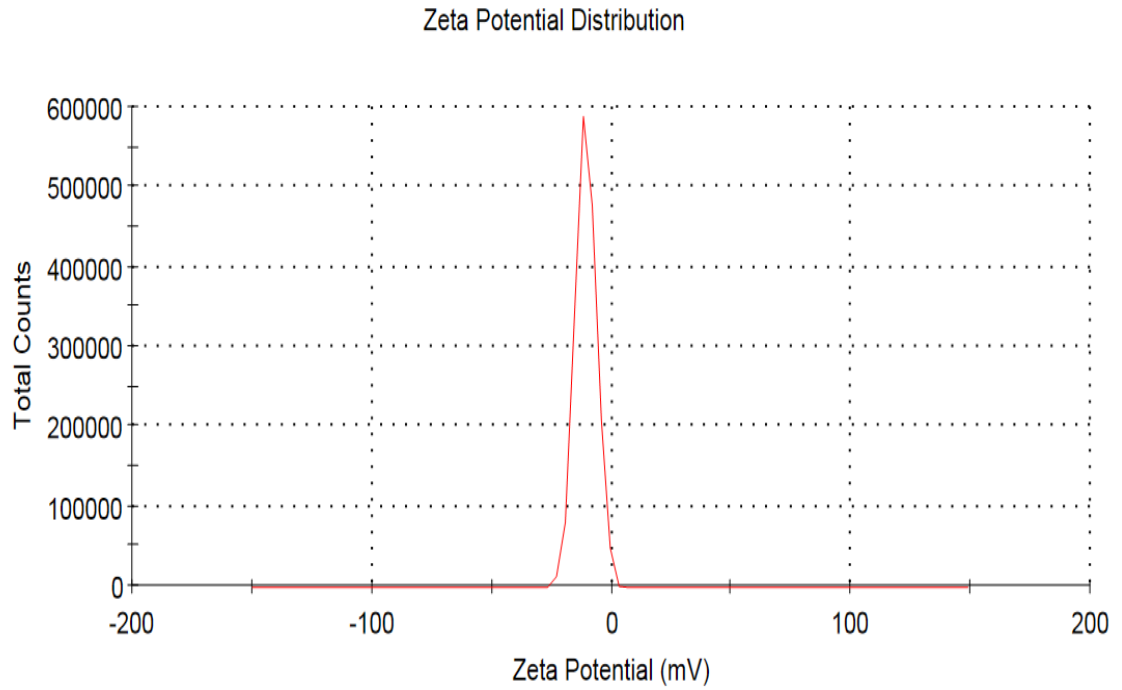


EK 12. THM için 4. Ölçüme ait partikül boyutu dağılım grafiği.

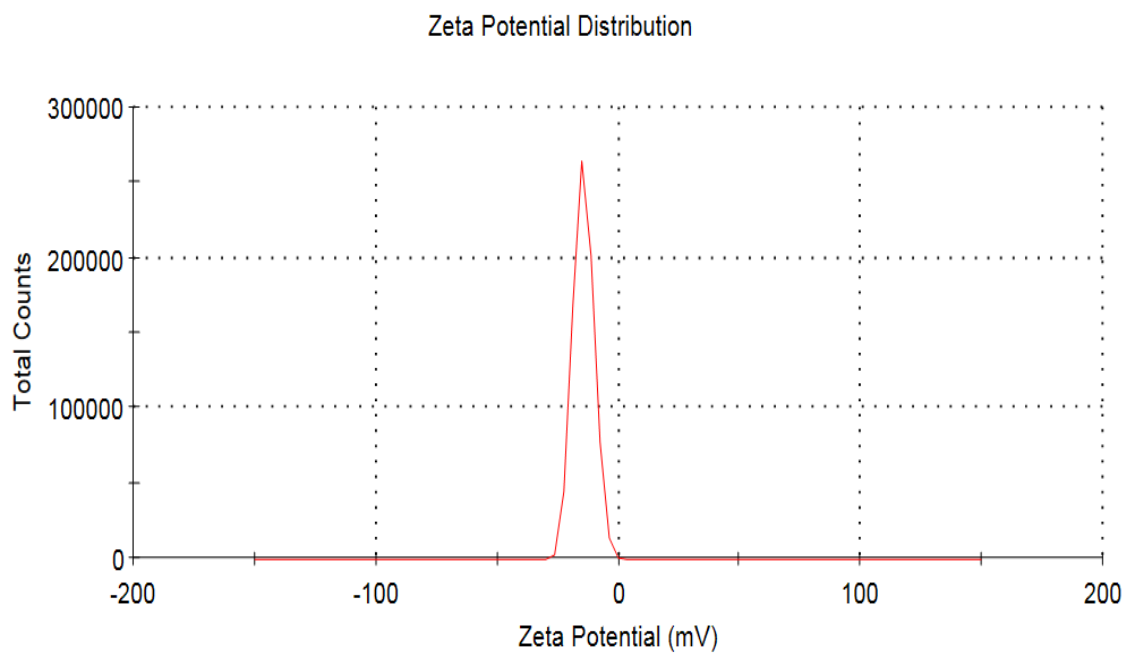


Zeta Potansiyeli Analizleri Grafikleri

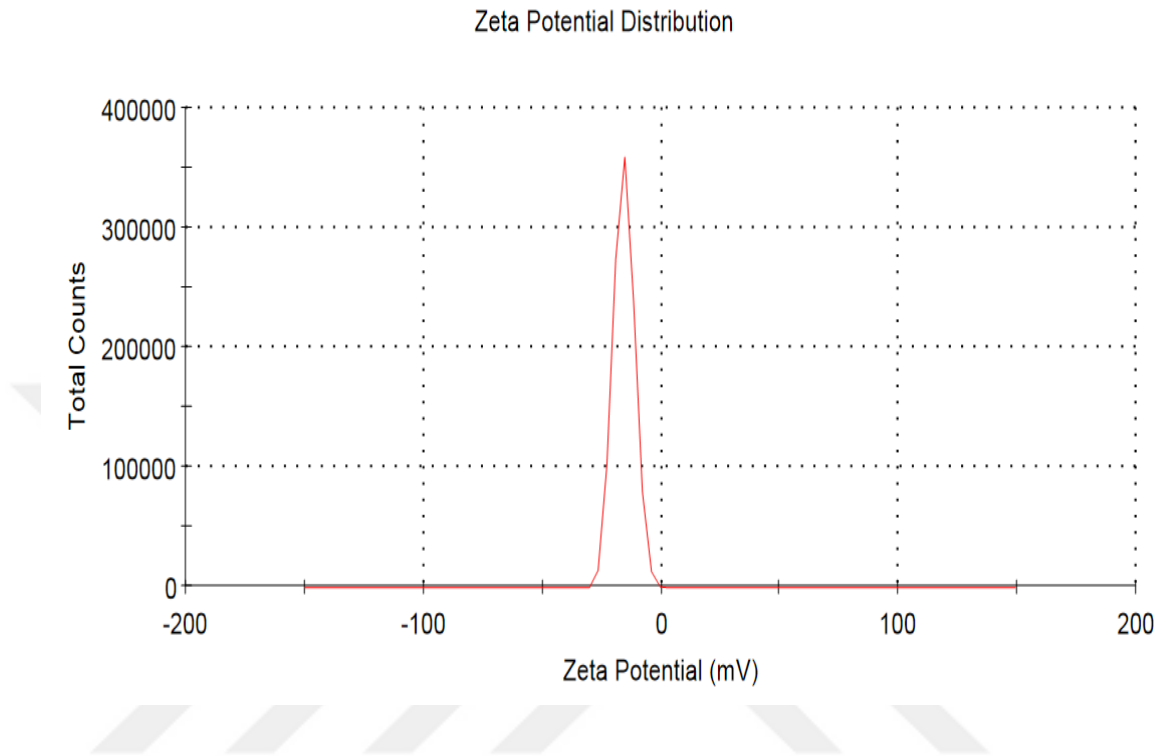
EK 13. TH için gerçekleştirilen zeta potansiyeli analizi 1. ölçüme ait sonuç grafiği.



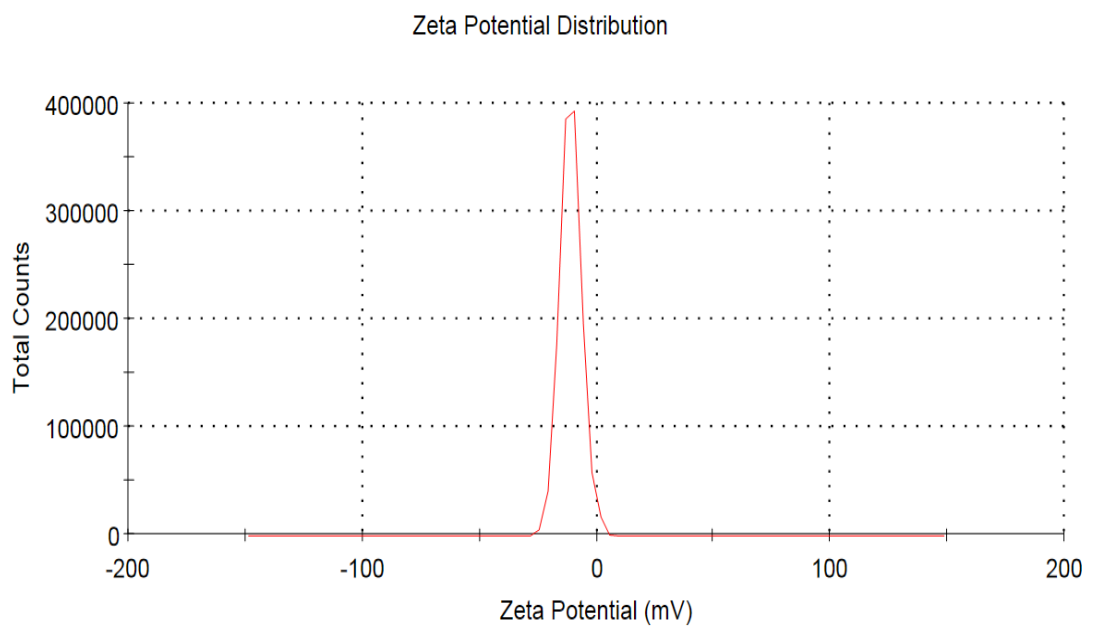
EK 14. TH için gerçekleştirilen zeta potansiyeli analizi 2. ölçüme ait sonuç grafiği.



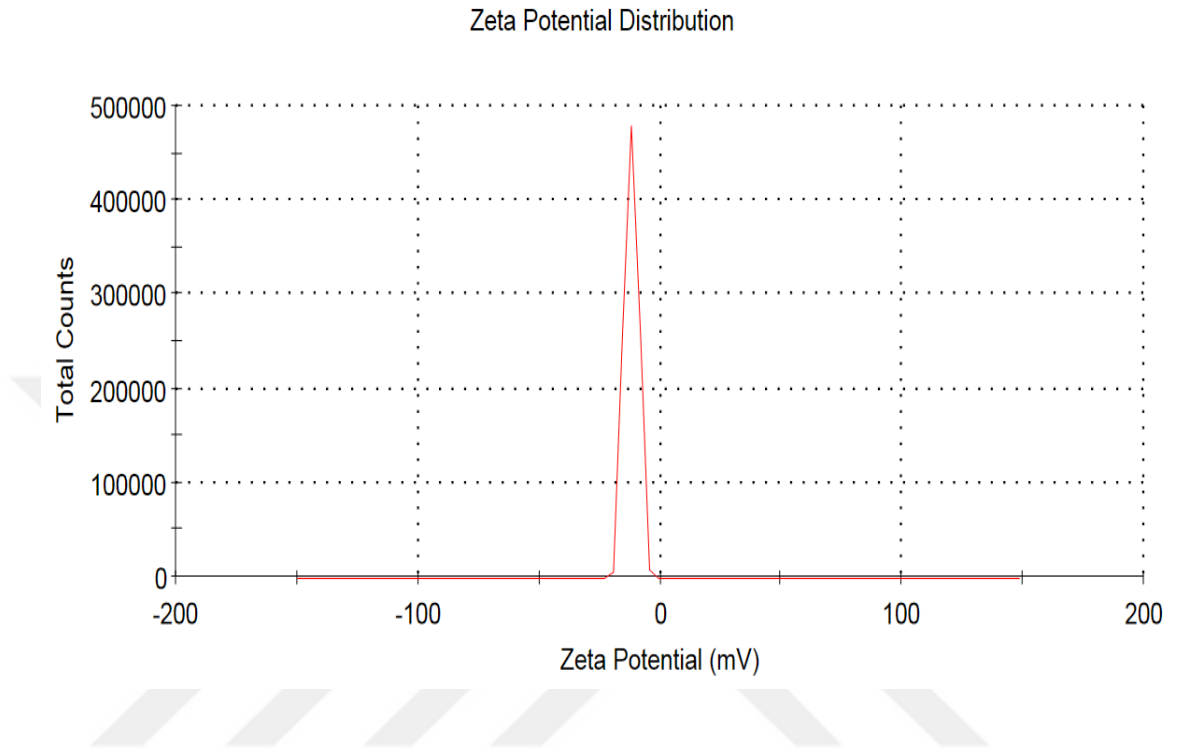
EK 15. TH için gerçekleştirilen zeta potansiyeli analizi 3. ölçüme ait sonuç grafiği.



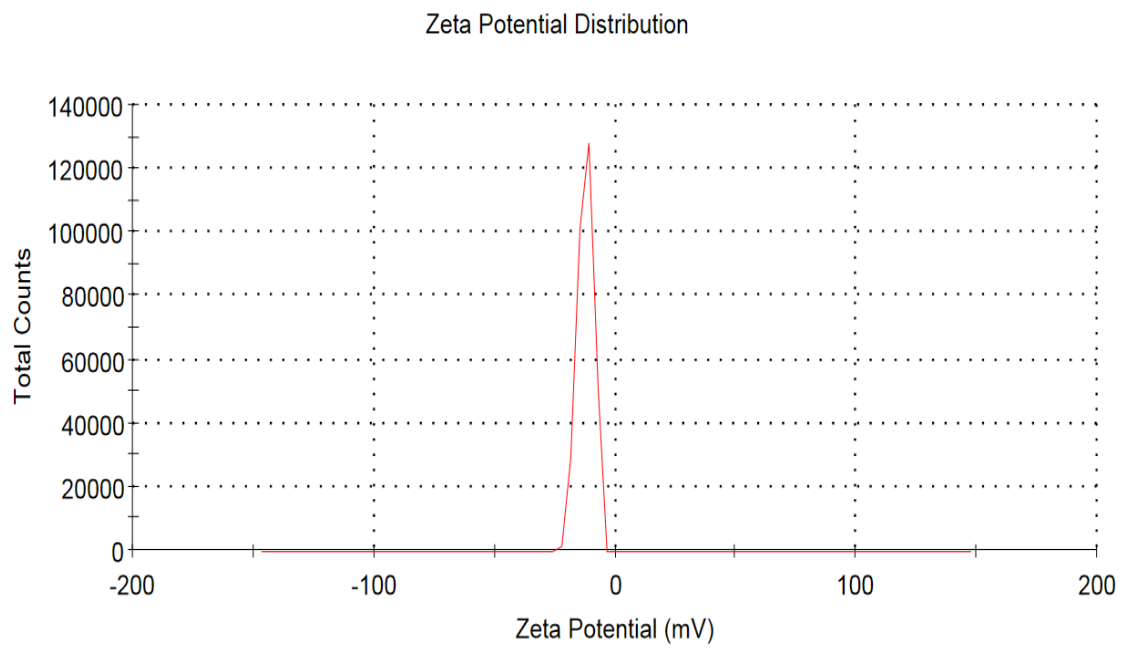
EK 16. TH için gerçekleştirilen zeta potansiyeli analizi 4. ölçüme ait sonuç grafiği.



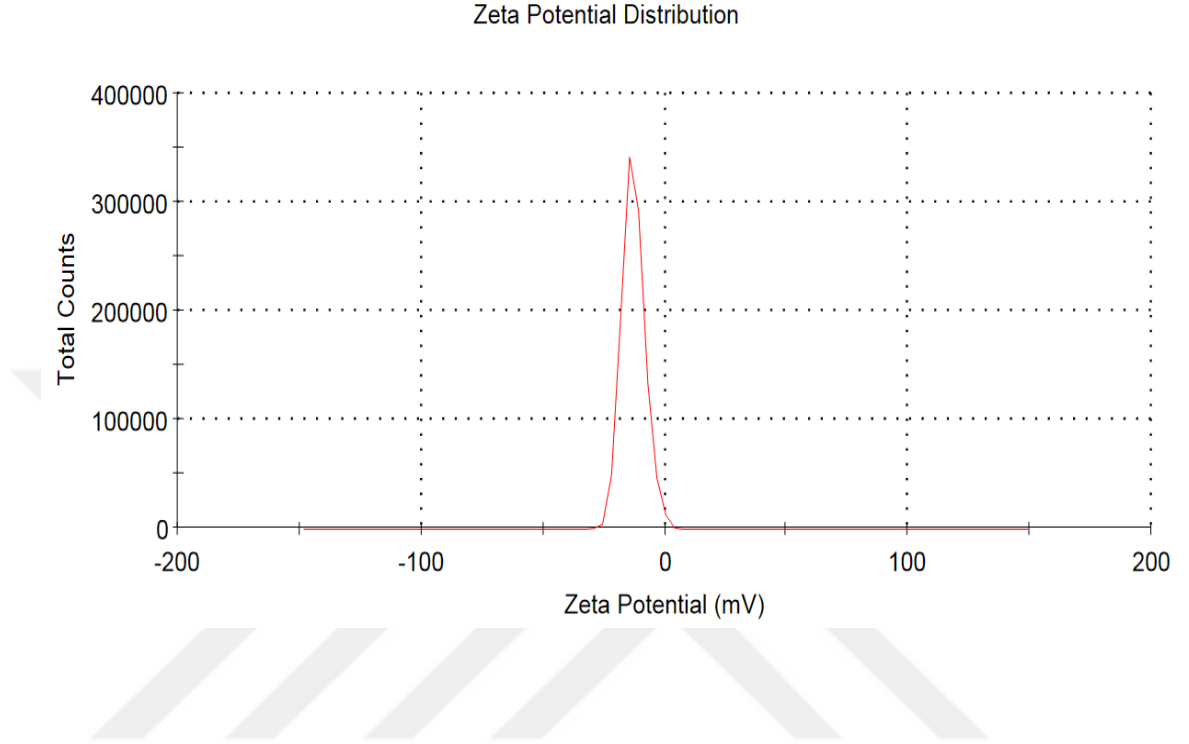
EK 17. THC için gerçekleştirilen zeta potansiyeli analizi 1. ölçüme ait sonuç grafiği.



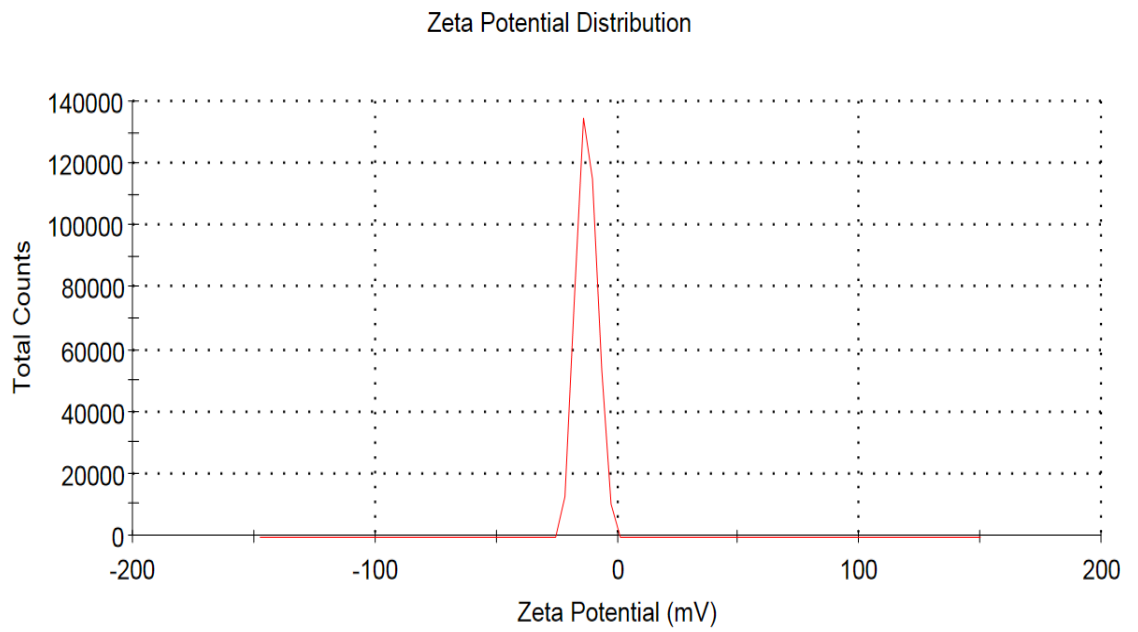
EK 18. THC için gerçekleştirilen zeta potansiyeli analizi 2. ölçüme ait sonuç grafiği.



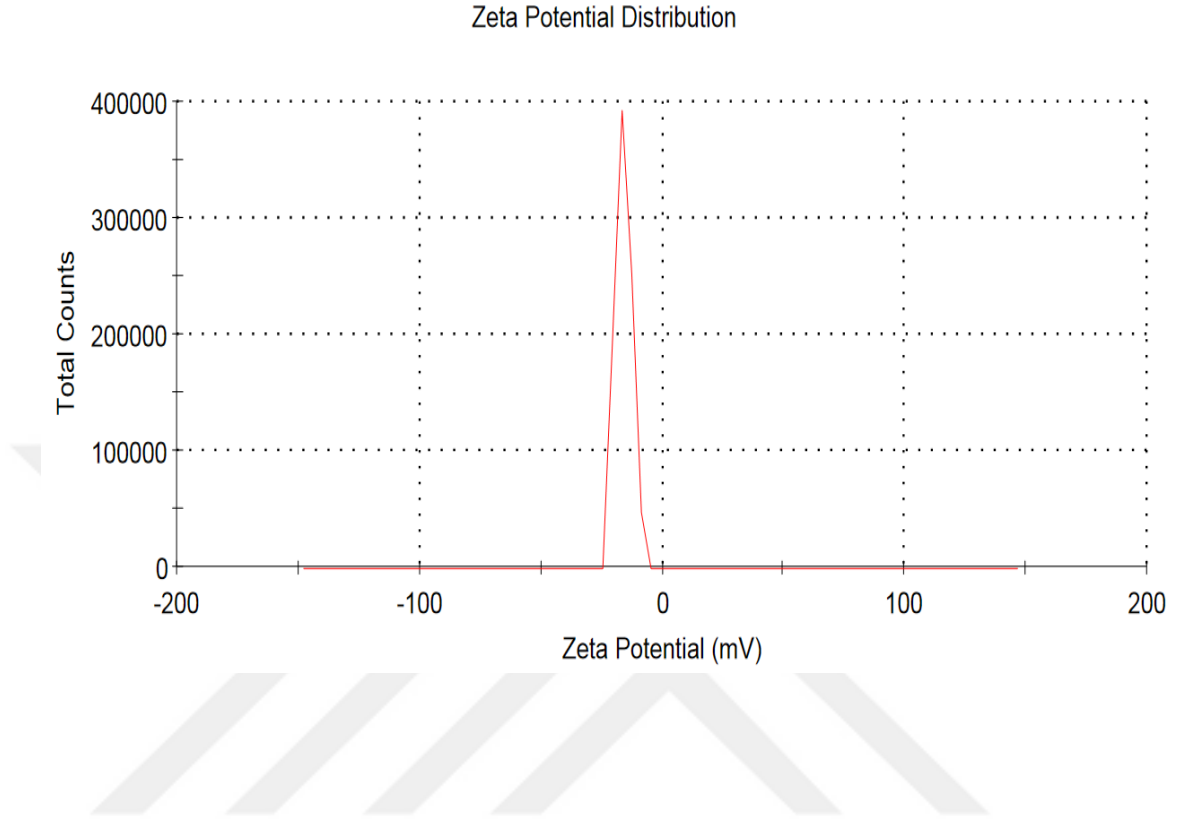
EK 19. THC için gerçekleştirilen zeta potansiyeli analizi 3. ölçüme ait sonuç grafiği.



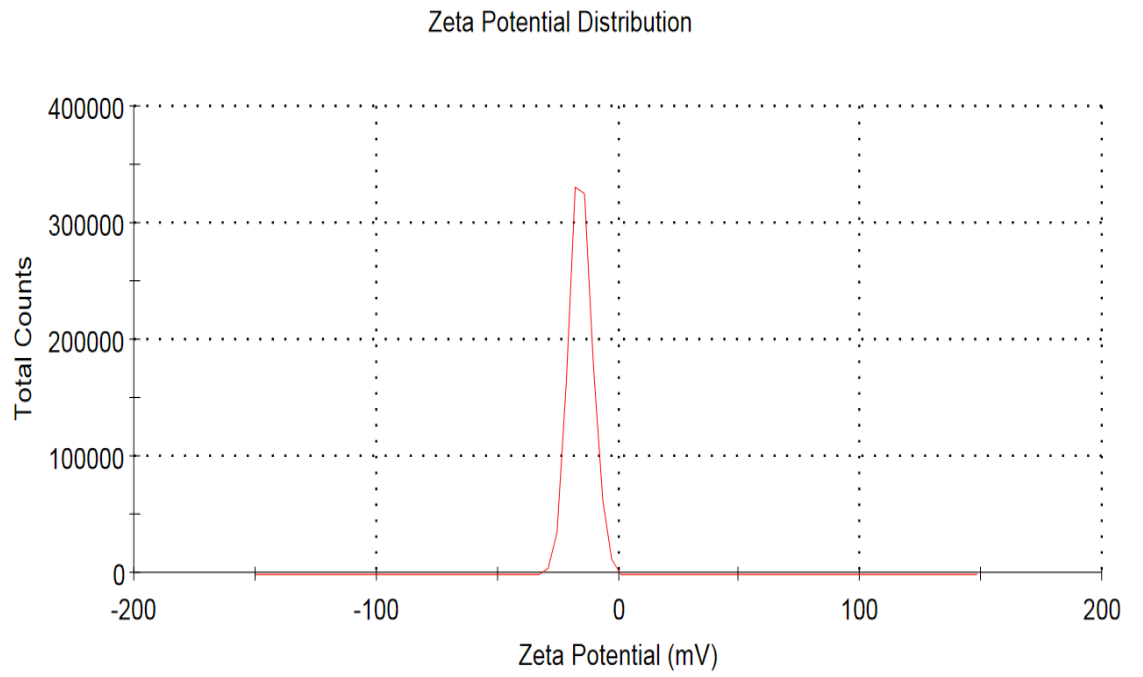
EK 20. THC için gerçekleştirilen zeta potansiyeli analizi 4. ölçüme ait sonuç grafiği.



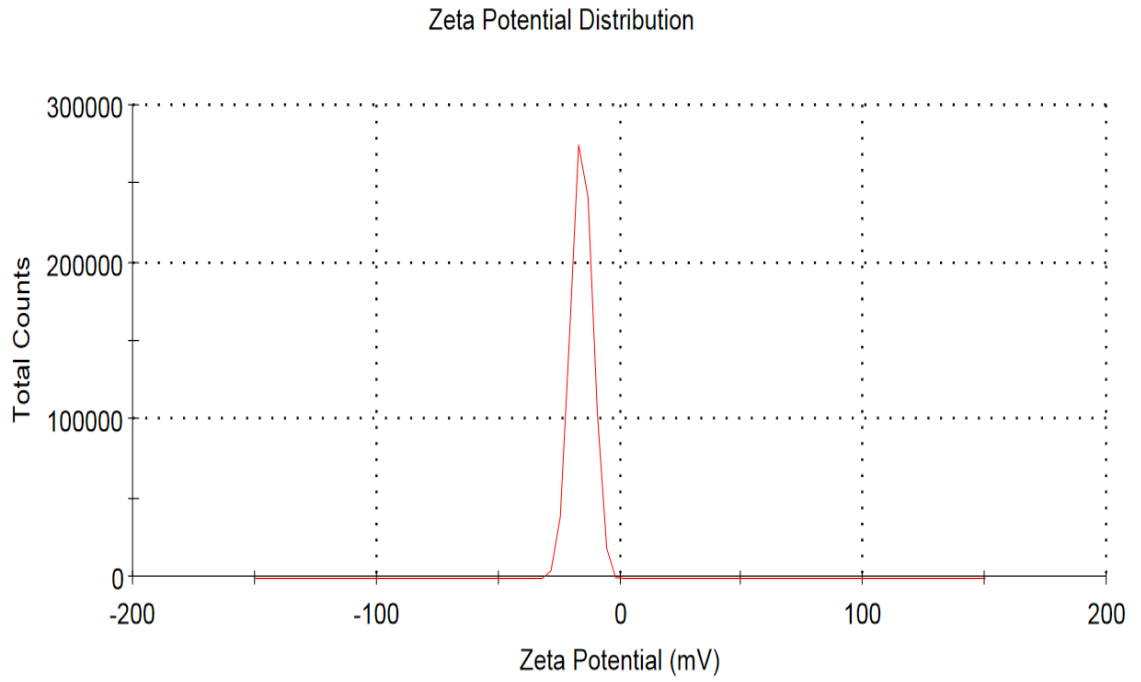
EK 21. THM için gerçekleştirilen zeta potansiyeli analizi 1. ölçüme ait sonuç grafiği.



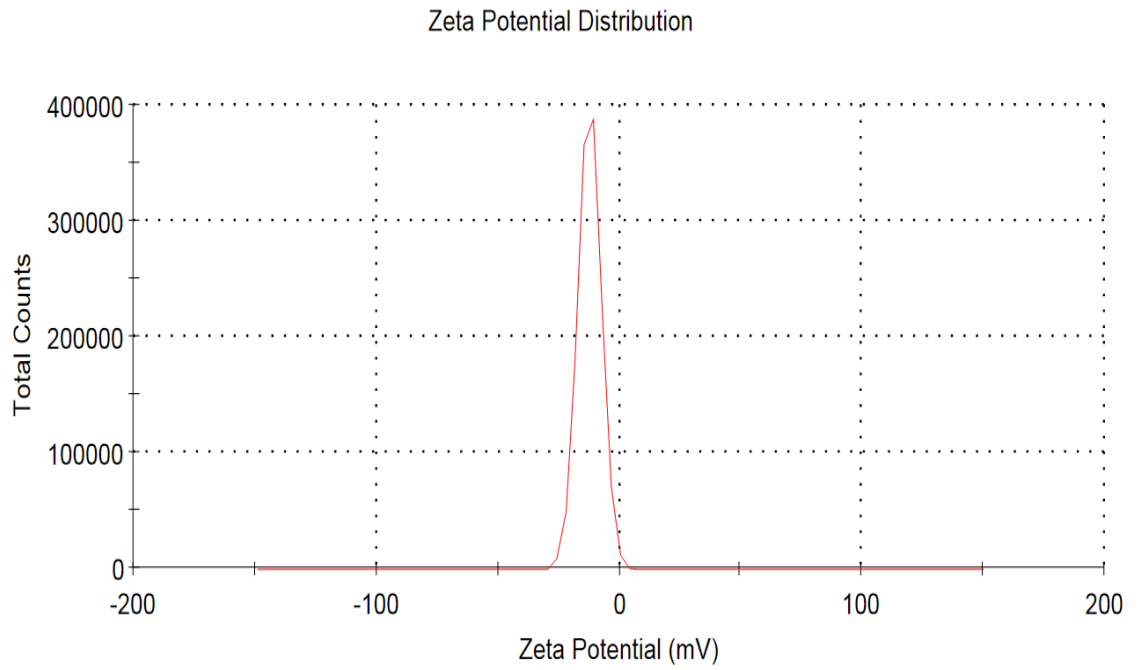
EK 22. THM için gerçekleştirilen zeta potansiyeli analizi 2. ölçüme ait sonuç grafiği.



EK 23. THM için gerçekleştirilen zeta potansiyeli analizi 3. ölçüme ait sonuç grafiği.



EK 24. THM için gerçekleştirilen zeta potansiyeli analizi 4. ölçüme ait sonuç grafiği.



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Walid BOUHLEL
Uyruğu: Tunus

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi, Bölüm	2022
Lisans	Erciyes Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü	2018
Lise	Othman Chatti Lisesi	2013

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
-----	-------	-------

YABANCI DİL

İngilizce, Fransızca, Arapça