

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

**BAZI BİTKİ UÇUCU YAĞLARINDAN DOĞAL
MİKROBİYOSİDAL MADDE ÜRETİMİ**

**Hazırlayan
Metin Oktay BEYAZ**

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

Yüksek Lisans Tezi

**Mayıs 2022
KAYSERİ**

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

**BAZI BİTKİ UÇUCU YAĞLARINDAN DOĞAL
MİKROBİYOSİDAL MADDE ÜRETİMİ
(Yüksek Lisans Tezi)**

**Hazırlayan
Metin Oktay BEYAZ**

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

**Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Birimi tarafından FYL-2021-10764 kodlu proje ile
desteklenmiştir.**

**Mayıs 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.

Metin Oktay BEYAZ

İmza

YÖNERGEYE UYGUNLUK

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

Hazırlayan

Metin Oktay BEYAZ

Danışman

Prof. Dr. Mahmut DOĞAN

Eş Danışman

Öğr. Gör. Dr. Ahmet Evren YETİMAN

Gıda Mühendisliği ABD Başkanı

Prof. Dr. Hasan YALÇIN

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmamın planlanmasından tamamlanmasına kadar fikirleri, yardımları ve bilimsel katkılarıyla bana yol gösteren, desteklerini her zaman yanımda hissettiğim ve çalışmaktan büyük onur duyduğum kıymetli danışmanım 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 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,

Çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen, karşılaştığım sorunlara birlikte kafa yordüğümüz, her türlü desteği gösteren ve laboratuvar çalışmalarımızı eğlenceli hale getiren arkadaşım Walid BOUHLEL'e,

Kayseri'de kaldığım süre boyunca bana maddi ve manevi destek olan, sıkıntılı zamanlarımda yanımda olan, zor kararlarımda yol gösteren, sevinçlerime ortak olan, hayat yolculuğunda rehber olan, aynı ev içerisinde hem kardeş hem abi olan, tüm ev arkadaşlarıma,

Son olarak, eğitim hayatım boyunca beni hep destekleyen, gösterdikleri sonsuz sabır, sevgi, anlayış ve güvenleri için her an yanımda olan annem Kadriye BEYAZ'a ve babam Mustafa BEYAZ'a, sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Metin Oktay BEYAZ

Mayıs 2022, KAYSERİ

BAZI BİTKİ UÇUCU YAĞLARINDAN DOĞAL MİKROBİYOSİDAL MADDE ÜRETİMİ

METİN OKTAY BEYAZ

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü

Yüksek Lisans Tezi, Mayıs 2022

Danışman: Prof. Dr. Mahmut DOĞAN

Öğr. Gör. Dr. Ahmet Evren YETİMAN

ÖZET

Bu tez çalışmasında defne (*Laurus nobilis*), karanfil (*Syzygium aromaticum*) ve tarçın (*Cinnamomum verum*) bitkilerinden hidrodistilasyon yöntemi ile elde edilen esansiyel yağların patojen bakteri suşları ve maya-küfler üzerindeki etkisini agar kuyu difüzyon metodu kullanarak incelenmiştir. Tarçın esansiyel yağının patojen suşları üzerinde ortalama 28mm inhibisyon zonu ile en etkili esansiyel yağ olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, esansiyel yağların küf ve mayalar üzerinde de etkili olduğu gözlemlenmiştir. Bu üç esansiyel yağın antioksidan kapasitesi DPPH metodu ile belirlenerek, tarçın esansiyel yağı %93,52 inhibisyon yüzdesi ile en etkili antioksidan olarak gözlemlenmiştir. Defne esansiyel yağında bu değer %89,53 karanfil esansiyel yağında ise %91,64 olarak ölçülmüştür. Esansiyel yağların kompozisyonu, GC-MS kullanılarak belirlenmiştir. Defne esansiyel yağında majör bileşik olarak 1,8-Cineole bileşiği %48,50, karanfil esansiyel yağında majör bileşik olarak Eugenol bileşiği %49,49 ve tarçın esansiyel yağında majör bileşik olan Cinnamaldehyde bileşiği %65,34 oranında ölçülmüştür. Karanfil ve tarçın esansiyel yağının, koruyucu içermeyen salça model gıda ortamında mikroorganizmalara karşı koruyucu etkisinin olup olmadığı test edilmiştir. %0,25, %0,5, %1 ve %1,5 konsantrasyonlarda hazırlanan gıda örneklerinin 25 günlük depolama sonucunda toplam mezofil-aerobik-bakteri ve maya-küf analizleri ile raf ömrü üzerindeki etkisi incelenmiştir. 25. günün sonunda kontrol grubunda 300 kob/g'dan fazla koloni oluşumu gözlenmesine karşın %1,5 konsantrasyonda kullanılarak hazırlanan örneklerin ortalama 15 kob/g değerinde kaldığı belirlenmiştir. Esansiyel yağların, TS EN ISO 10993-5 standartlarına göre L-929 hücre hattında yapılan MTT test sonuçlarına göre çalışılan örneklerde herhangi bir sitotoksik etki tespit edilmemiştir. Ayrıca bu esansiyel

yağlardan Tween 80 emülgatörü kullanarak homojen çözelti hazırlanmış ve potansiyel el dezenfektanı olarak kullanılması test edilmiştir. Bu amaçla 15 kişi üzerinde yapılan SWAB analizlerinde esansiyel yağların %85 oranla mikropları inhibe ettiği, %25 izopropil alkol takviyesiyle birlikte antimikrobiyal etkinliğin %98'e ulaştığı bulunmuştur. Hazırlanan el dezenfektanı çözeltisinin 2 aylık depolama süresince parçacık boyutu ve zeta potansiyeli analiz sonuçlarına göre stabilitesini koruduğu anlaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Doğal uçucu yağlar, Antibakteriyel madde, Tarçın (*Cinnamomum verum*), Karanfil (*Syzygium aromaticum*), Defne (*Laurus nobilis*)

PRODUCTION OF NATURAL MICROBIOCIDAL SUBSTANCES FROM SOME ESSENTIAL OILS

Metin Oktay BEYAZ

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences

M.Sc. Thesis, May 2022

Advisor: Prof. Dr. Mahmut DOGAN

Dr. Ahmet Evren YETIMAN

ABSTRACT

In this thesis, the effects of essential oils obtained from laurel (*Laurus nobilis*), clove (*Syzygium aromaticum*) and cinnamon (*Cinnamomum verum*) plants by hydrodistillation method on pathogenic bacterial strains and molds were investigated using agar well diffusion method. Cinnamon essential oil was determined to be the most effective essential oil on pathogen strains with an average zone of inhibition of 28 mm. It has been observed that essential oils were also found effective on molds and yeasts. In addition, the antioxidant capacity of these three essential oils were determined by the DPPH method, and cinnamon essential oil was observed as the most effective antioxidant with 93,52% inhibition percentage. This value were 89,53% in laurel essential oil and 91,64% in clove essential oil. The composition of essential oils were determined using GC-MS. The compounds of 1,8-Cineole (48,50%), Eugenol (49,49%), Cinnamaldehyde (65,34%) were determined as major compounds of laurel, clove and cinnamon essential oils, respectively. It has been tested whether the essential oils have a protective effect against microorganisms in a preservative-free tomato paste model food environment. The effects of essential oils on the shelf life of model food samples were tested with 0,25%, 0,5%, 1% and 1,5% concentrations against total-mesophilic-aerobic-bacteria and yeast-mold counts after 25 days of storage. At the end of 25 days, 300 cfu/g excess colony formation was observed in the control group, while, 15 cfu/g mean count have been determined from the samples prepared using 1,5% concentration. Later, according to the MTT test results of essential oils performed on the L-929 cell line according to TS EN ISO 10993-5 standards, no cytotoxic effect was detected in the samples. In addition, a homogeneous solution was prepared using Tween 80 emulsifier from these essential oils and its usage

potential as a hand disinfectant was tested. For this purpose, in SWAB analyzes performed on 15 individuals and it have been observed that essential oils inhibited microbes with a rate of 85%, on the other hand, antimicrobial effectiveness increased to 98% by supplementation of 25% isopropyl alcohol. As regards the results of particle size distribution and zeta potential analysis, it has been understood that the prepared hand disinfectant solution remained stable during 2 months of storage.

Keywords: Natural essential oils, Antibacterial agent, Laurel (*Laurus nobilis*), Clove (*Syzygium aromaticum*), Cinnamon (*Cinnamomum verum*)



İÇİNDEKİLER

BAZI BİTKİ UÇUCU YAĞLARINDAN DOĞAL MİKROBİYOSİDAL 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	xviii
GİRİŞ	1

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1. Problem Durumu	2
1.2. Araştırmanın Amacı	2
1.3. Literatür Çalışması.....	3
1.3.1. Gıdalarda Koruyucular	3
1.3.1.1. Kimyasal Koruyucular	4
1.3.1.2. Doğal Koruyucular	4
1.3.1.3. Esansiyel Yağlar	5
1.3.1.3.1. Esansiyel Yağların Kimyasal Bileşimi.....	6
1.3.1.3.1.1. Defne (<i>Laurus nobilis</i>)	6
1.3.1.3.1.2. Karanfil (<i>Syzygium aromaticum</i>).....	9

1.3.1.3.1.3. Tarçın (<i>Cinnamomum verum</i>)	12
1.3.1.3.2. Esansiyel Yağların Patojen Mikroorganizmalar Üzerine Etkisi ..	16
1.3.1.3.2.1. <i>Bacillus cereus</i>	17
1.3.1.3.2.2. <i>Escherichia coli</i>	18
1.3.1.3.2.3. <i>Listeria monocytogenes</i>	18
1.3.1.3.2.4. <i>Salmonella supp.</i>	19
1.3.1.3.2.5. <i>Staphylococcus aureus</i>	19
1.3.2. El Dezenfektanları.....	20

2. BÖLÜM

MATERYAL VE METOT

2.1. Materyaller	23
2.1.1. Bitkisel Materyaller	23
2.1.2. Kimyasallar	23
2.2. Metot ve Analizler	24
2.2.1. Hidrodistilasyon	24
2.2.2. Esansiyel Yağın Saflaştırılması.....	25
2.2.3. GC-MS Yöntemi ile Uçucu Yağ Analizi.....	26
2.2.4. DPPH Analizi	27
2.2.5. Sitotoksosite Analizi.....	27
2.2.5.1. Deney Ortamı	28
2.2.5.2. Özütleme Yöntemi	28
2.2.5.3. Analiz Yöntemi.....	28
2.2.5.3.1. Nitel Değerlendirme	28
2.2.5.3.2. Nicel Değerlendirme.....	28
2.2.6. Model Gıda Denemesi.....	29
2.2.6.1 Toplam Mezofil Aerobik Bakteri (TMAB) Sayımı	29
2.2.6.2. Toplam Maya-Küf Sayımı.....	29
2.2.7. SWAB Testi	30
2.2.8. Zeta Potansiyeli ve Parçacık Boyutu Analizi.....	31
2.2.9. Antimikrobiyal Testler	32
2.2.9.1. Koloni Miktarının Belirlenmesi.....	32
2.2.9.2. Antibakteriyel Etkinlik Testi (Antibiyogram).....	33

2.2.9.3. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonlarının (MİK) belirlenmesi.....	34
2.2.10. İstatiksel Analizler	36

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. GC-MS Uçucu Yağ Analizi Sonuçları.....	37
3.1.1. Defne Esansiyel Yağı GC-MS Analiz Sonuçları.....	37
3.1.2. Karanfil Esansiyel Yağı GC-MS Analiz Sonuçları	38
3.1.3 Tarçın Esansiyel Yağı GC-MS Analiz Sonuçları	40
3.2. DPPH Analiz Sonuçları	41
3.3. Sitotoksosite Analiz Sonuçları	42
3.4. Model Gıda Analiz Bulguları.....	43
3.5. SWAB Testi Sonuçları	45
3.5.1. İzopropil Alkol İçermeyen Dezenfektan ile Yapılan Çalışma Sonuçları	46
3.5.2. İzopropil Alkol İçeren Dezenfektan ile Yapılan Çalışma Sonuçları	48
3.6. Zeta Potansiyeli ve Parçacık Boyutu Analiz Sonuçları	50
3.6.1. Defne Esansiyel Yağı Çözeltilisinin Parçacık Boyutu ve Zeta Analizleri .	50
3.6.2. Karanfil Esansiyel Yağı Çözeltilisinin Parçacık Boyutu ve Zeta Potansiyeli Analiz Sonuçları	52
3.6.3. Tarçın Esansiyel Yağı Çözeltilisinin Parçacık Boyutu ve Zeta Potansiyeli Sonuçları	53
3.7. Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları.....	54
3.7.1. Koloni Yükü Hesaplama Sonuçları.....	54
3.7.1.1. Bakteri ve Maya Sayımı	54
3.7.1.2. Küf Sayımı	55
3.7.2. Antimikrobiyal Etkinlik Testi Sonuçları	56
3.7.2.1. Defne Esansiyel Yağı Antimikrobiyal Etkinlik Testi.....	56
3.7.2.2. Karanfil Esansiyel Yağı Antimikrobiyal Etkinlik Testi Sonuçları.....	56
3.7.2.3. Tarçın Esansiyel Yağı Antimikrobiyal Etkinlik Testi Sonuçları.....	57
3.7.3. MİK Analizi Sonuçları	58
3.7.3.1. Defne Esansiyel Yağı MİK Analiz Sonuçları.....	59
3.7.3.2. Karanfil Esansiyel Yağı MİK Analiz Sonuçları.....	61
3.7.3.3. Tarçın Esansiyel Yağı MİK Analiz Sonuçları	62

4. BÖLÜM

TARTIŞMA-SONUÇ VE ÖNERİLER

4.1. Sonuçların Tartışılması	64
4.1.1. GC-MS Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	64
4.1.1.1. Defne Esansiyel yağı GC-MS Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	64
4.1.1.2. Karanfil Esansiyel yağının GC-MS Sonuçlarının Değerlendirilmesi ..	65
4.1.1.3. Tarçın Esansiyel Yağı GC-MS Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi	66
4.1.2. DPPH Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi	67
4.1.3. Mikrobiyal Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	68
4.1.4. Zeta Potansiyeli ve Parçacık Boyutu Analizlerinin Değerlendirilmesi...	72
 KAYNAKÇA	 74
EKLER.....	84
ÖZGEÇMİŞ.....	96

KISALTMALAR

L: Litre

mL: Mililitre

μ L: Mikrolitre

gr: Gram

mg: Miligram

μ g: Mikrogram

nm: Nanometre

mV: Milivolt

dk: Dakika

w/w: Ağırlıkça yüzde

v/v: Hacimce yüzde

%: Yüzde oranı

rpm: Dakikadaki devir sayısı (Revolutions per Minute)

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

vb.: Ve benzeri

ark.: Arkadaşları

kob. Koloni oluşturan birim

MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu

MTT: 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide

a_w : Su aktivitesi

pH: power Hydrogen

McF: MacFarland

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. Antakya, Yayladağı ve Samandağı yöresindeki defne (<i>Laurus nobilis</i> L.) yapraklarının bileşim oranları(Sangun ve ark., 2007).	9
Tablo 2. Raina ve ark. gerçekleştirdikleri çalışmaya göre, karanfil (<i>Syzygium aromaticum</i>) numunelerinde bulunan bileşikler (Raina ve ark., 2001).	12
Tablo 3. Kullanılan Kimyasalların Markaları ve hangi analizlerde kullanıldığı ile ilgili bilgiler.....	24
Tablo 4. Uçucu yağ analizi koşulları.	26
Tablo 5. Uçucu yağ analizi zamana göre sıcaklık değişim tablosu.	26
Tablo 6. Tez çalışması kapsamında kullanılan bakteri suşları, maya ve küf mikroorganizmaları.	32
Tablo 7. MİK analizi için hazırlanan deney tüpleri ve içeriği.....	35
Tablo 8. Defne (<i>Laurus nobilis</i>) esansiyel yağının % bileşen tablosu.	37
Tablo 9. Karanfil (<i>Syzygium aromaticum</i>) esansiyel yağı % bileşen tablosu.....	39
Tablo 10. Tarçın (<i>Cinnamomum verum</i>) esansiyel yağı % bileşen tablosu.	40
Tablo 11. DPPH Analizi için 620nm Dalga boyunda okunan absorbans değerleri.	41
Tablo 12. MTT testine göre sitotoksosite sonuçları.	42
Tablo 13. Model gıda denemesi günlere göre sayım sonuçları (kob/mL).....	45
Tablo 14. SWAB Testi alkolsüz dezenfektan testi sayım sonuçları (kob/mL).	46
Tablo 15. Swab analizi, %25 izopropil alkol ilaveli dezenfektan ile yapılan çalışma sonuçları (kob/mL).	46
Tablo 16. Dezenfektan dökmeden önce alınan örneklerin sayım sonuçları (kob/mL)....	47
Tablo 17. Dezenfektan döktükten sonra alınan örneklerin sayım sonuçları (kob/ml). ..	47

Tablo 18. Dezenfektan dökmeden önce alınan örneklerin sayım sonuçları (kob/mL)...49	49
Tablo 19. Dezenfektan döktükten sonra alınan örneklerin sayım sonuçları (kob/mL). .49	49
Tablo 20. Defne (<i>Laurus nobilis</i>) esansiyel yağı çözeltisinin parçacık boyutu ölçüm sonuçları.51	51
Tablo 21. Defne (<i>Laurus nobilis</i>) esansiyel yağı çözeltisinin zeta potansiyeli ölçüm sonuçları.51	51
Tablo 22. Karanfil (<i>Syzygium aromaticum</i>) esansiyel yağı çözeltisinin parçacık boyutu ölçüm sonuçları.52	52
Tablo 23. Karanfil (<i>Syzygium aromaticum</i>) esansiyel yağı çözeltisinin zeta potansiyeli ölçüm sonuçları.52	52
Tablo 24. Tarçın (<i>Cinnamomum verum</i>) esansiyel yağı çözeltisinin parçacık boyutu analiz sonuçları.....53	53
Tablo 25. Tarçın (<i>Cinnamomum verum</i>) esansiyel yağı çözeltisinin zeta potansiyeli ölçüm sonuçları.53	53
Tablo 26. Mikrobiyal suşlara ait 0.5 MacFarland (McF) konsantrasyonda hazırlanan dilüsyonların ekimi ve inkübasyon sonucundaki elde edilen ortalama mikrobiyal yük değerleri (kob/mL).55	55
Tablo 27. <i>Aspergillus flavus</i> (sol) ve <i>Aspergillus parasiticus</i> (sağ) için thoma lamı içinde bulunan 16 küçük karedeki sayım sonuçları.....55	55
Tablo 28. Defne (<i>Laurus nobilis</i>) esansiyel yağı antimikrobiyal etkinlik testi ölçüm sonuçları(mm).....56	56
Tablo 29. Karanfil (<i>Syzygium aromaticum</i>) esansiyel yağı antimikrobiyal etkinlik testi ölçüm sonuçları.57	57

Tablo 30. Tarçın (<i>Cinnamomum verum</i>) esansiyel yağı antimikrobiyal etkinlik testi	
ölçüm sonuçları(mm).....	58
Tablo 31. Defne (<i>Laurus nobilis</i>) esansiyel yağı, MİK analizi 620 nm başlangıç	
absorbans değerleri.	59
Tablo 32. Defne (<i>Laurus nobilis</i>) esansiyel yağı, MİK analizi, 24 saat inkübasyon	
sonrası 620 nm absorbans sonuçları.	59
Tablo 33. Defne (<i>Laurus nobilis</i>) esansiyel yağı MİK değerleri.....	60
Tablo 34. Karanfil (<i>Syzygium aromaticum</i>) esansiyel yağ, MİK analizi 620 nm	
başlangıç absorbans değerleri.	61
Tablo 35. Karanfil (<i>Syzygium aromaticum</i>) esansiyel yağı MİK analizi, 24 saat	
inkübasyon sonrası 620 nm absorbans ölçüm sonuçları.....	61
Tablo 36. Karanfil (<i>Syzygium aromaticum</i>) esansiyel yağı MİK değerleri.....	62
Tablo 37. Tarçın (<i>Cinnamomum verum</i>) esansiyel yağı, MİK analizi 620 nm başlangıç	
absorbans değerleri.	62
Tablo 38. Tarçın (<i>Cinnamomum verum</i>) esansiyel yağı MİK analizi, 24 saat inkübasyon	
sonrası 620 nm absorbans ölçüm sonuçları.	63
Tablo 39. Tarçın (<i>Cinnamomum verum</i>) esansiyel yağı MİK değerleri.....	63

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Defne bikisi (<i>laurus nobilis</i>)’ne ait yaprakların morfolojik görünümü.....	7
Şekil 2. Karanfil (<i>Syzygium aromaticum</i>) uçucu yağında en çok bulunan majör bileşik olan Eugenol’ün kimyasal yapısı.	10
Şekil 3. Tarçın (<i>Cinnamomum verum</i>) uçucu yağında bulunan birinci majör bileşik olan Cinnemaldehyde’in kimyasal yapısı.	13
Şekil 4. Tarçın (<i>Cinnamomum verum</i>) bitkisinde bulunan bazı bileşimlerin isim, yapı ve formülleri (Adinew, 2014).	15
Şekil 5. Dezenfektanlar ve Mikroorganizma ilişkisi (Rutala ve Weber, 2016).	21
Şekil 6. Hidrodistilasyon düzeneğini anlatan temsili resim (Samadi ve ark., 2017).	25
Şekil 7. Swab testi için, sürüntü çubuğu örneği.	31
Şekil 8. Agar Kuyu Döfüzyon yönteminin şematik olarak gösterimi (Singh Kumar ve Singh, 2011).	33
Şekil 9. MİK analizi için 96’lık mikropate yerleşim düzeni.....	35
Şekil 10. Defne (<i>Laurus nobilis</i>) esansiyel yağı GC-MS Histogram grafiği.	38
Şekil 11. Karanfil (<i>Syzygium aromaticum</i>) esansiyel yağına ait GC-MS Histogram grafiği.	39
Şekil 12. Tarçın(<i>Cinnamomum verum</i>) esansiyel yağı GC-MS Histogram grafiği.	41
Şekil 13. (A) Kontrol olarak seçilen salça numunesin 0. gündeki görüntüsü, (B) 25. günde küflenmiş kontrol numunesinin görüntüsü, (C) 25. günde uçucu yağ ilavesi yapılmış olan ev yapımı salça numunesi.	43
Şekil 14. Salça kontrol numunesi 20. gün, toplam bakteri sayımı petrisindeki kolonilerin görünümü.	44

Şekil 15. 10. gün kontrol numunesi, maya-küf petrisindeki kolonilerin görünümü.44

Şekil 16. İzopropil Alkol İçermeyen Dezenfektan için SWAB Testi Sonuçları

logaritmik grafiği.48

Şekil 17. Alkol içeren dezenfektan sıvısı için yapılan SWAB testi analiz sonuçlarının

logaritmik grafiği.50

Şekil 18. Toplam bakteri sayımı için inkübasyonda bekletilen bir petride oluşan

kolonilerin görüntüsü.54



GİRİŞ

Gıdalar doğası gereği çabuk bozulur ve istenilen raf ömrünü sağlamak için hazırlanma, depolama ve dağıtım sırasında bozulmaya karşı korunma gerektirir. Gıdalar raf ömürleri süresince bakteri ve mantarlar tarafından kontaminasyona maruz kalabilir. Bu mikroorganizmaların çoğu, gıdaların tat, koku, renk, duyuşal ve tekstürel özelliklerini bozarak istenmeyen reaksiyonlara neden olurlar. Mikrobiyal büyüme büyük bir endişe kaynağıdır çünkü bazı mikroorganizmalar potansiyel olarak gıda kaynaklı hastalıklara neden olabilir. Mikroorganizmaların gelişiminde, pH ve oksijen varlığı, sıcaklık, zaman ve bağıl nem, depolama koşulları gibi faktörler etkilidir. Orijinal tadı değıştirmeden veya geliştirmek için eklenen baharatlar ve otlar, antimikrobiyal yapıları nedeniyle raf ömrünü pozitif katkı sağlarlar. Esansiyel (uçucu) bitkisel yağlar yenilebilir, tıbbi bitkilerde bulunurlar ve gıdalardaki mikrobiyal bozulmaya karşı kullanılan organik koruyuculardan en önemlileridir.

Uçucu yağlar ve bileşenleri, eski tarihlerden beri gıdalarda tatlandırıcı ajanları olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır ve birçoğunun geniş bir antimikrobiyal spektrumuna sahip olduğu iyi bilinmektedir. Esansiyel yağların genellikle fenolik gruplara sahip bileşikleri mikroorganizmalar üzerinde en etkili olanlarıdır. Bunlar arasında karanfil, defne, biberiye, kekik, adaçayı ve tarçın yağlarının mikroorganizmalara karşı en tutarlı şekilde etkili olduğu bulunmuştur.

Bu çalışmada, gıdalara antibakteriyel özellik kazandırmak için uygun olduğu düşünölen esansiyel yağların antibakteriyel, antioksidan ve sitotoksik aktivitesine genel bir bakış sağlanmıştır. Esansiyel yağların model gıda ile beraber kullanılmasıyla ne gibi avantajların ortaya çıkacağı araştırılmıştır. Ayrıca esansiyel yağlardan emölgatör yardımıyla homojen çözelti hazırlanıp insan kullanımı için el dezenfektanı olarak kullanılmasına ilişkin deneme yapılmıştır.

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1. Problem Durumu

Pek çok gıda ürünü doğası gereği çabuk bozulmaya uğrayabilir ve istenilen raf ömrünü sağlamak için hazırlanma, saklama ve dağıtım sırasında koruyucu maddelere ihtiyaç duyulur. Minimum düzeyde işlenmiş, kolayca hazırlanmış ve yenmeye hazır taze gıda ürünlerine olan talep gün geçtikçe artmaktadır. Gıda ticaretinin küreselleşmesi ve merkezi işlemeden dağıtım, gıda güvenliği ve kalitesinin sağlanması açısından büyük zorluklar oluşturmaktadır. Gıda ürünleri bakteri ve funguslar tarafından kontaminasyona maruz kalabilirler. Bu mikroorganizmaların çoğu, gıdaların tat, koku, renk, duyu ve tekstürel özelliklerini bozan istenmeyen reaksiyonlara neden olur. Mikrobiyal büyüme, büyük bir endişe kaynağıdır. Çünkü, bazı mikroorganizmalar potansiyel olarak gıda kaynaklı hastalıklara sebep olmaktadır. Paketlenmiş gıdalarda, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Campylobacter*, *Clostridium perfringens*, *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae* gibi patojen mikroorganizmaların gelişmesi ve çoğalması çeşitli faktörlere bağlıdır. Depolama koşullarıyla ilişkili olan dış faktörler, pH, oksijen varlığı, sıcaklık, zaman ve bağıl nem gibi etkenler gıda ürününün ömrünü etkilemektedir (Lucera ve ark., 2012).

1.2. Araştırmanın Amacı

Gıda endüstrisinde bozulma ve patojen mikroorganizmaların gelişmesini engellemek için ısıtma işlemi, tuzlama, asitlendirme ve kurutma gibi çeşitli muhafaza teknikleri çokça uygulanmaktadır. Son yıllarda, sentetik kimyasal katkı maddelerine yönelik oluşan tüketici bilinci ve endişesi nedeniyle, doğal katkı maddeleri ile korunan gıdalar daha popüler olmuştur. Doğal bileşikler, bitkilerden elde edilen uçucu yağlar (örneğin,

fesleğen, kekik, tarçın, karanfil ve defne), hayvansal kaynaklardan elde edilen enzimler ve protein yapısındaki diğer moleküller (lizozim, lakto-ferrin vb.), mikrobiyal kaynaklardan elde edilen bakteriyosinler (nisin, natamisin, plantaricin vb.), organik asitler (sorbik, propiyonik, sitrik, laktik asit vb.) ve kitosan gibi polimerlerdir. Bu bağlamda, bitki esansiyel yağları, FDA ve USDA tarafından genellikle güvenli olarak tanınan (Generally Regarded As Safe-GRAS) statüsünde oldukları ve antimikrobiyal potansiyellerinden dolayı gıda endüstrisinde geniş bir ilgi görmektedir. Bitkilerde antimikrobiyal etki gösteren bu aktif bileşenler genellikle uçucu yağ fraksiyonlarında bulunur ve bunların çoğunun gıda kaynaklı patojen ya da saprofit mikroorganizmalara karşı geniş bir biyosidal spektruma sahip olduğu bilinmektedir. Bitkisel uçucu yağların antimikrobiyal aktivitesi, kimyasal yapılarına, özellikle fenolik bileşenlerin hidroksil grupları gibi hidrofilik fonksiyonel grupların varlığına ve/veya bazı uçucu yağ bileşenlerinin lipofilik karakterine bağlıdır (Gutierrez ve ark., 2008; Lucera ve ark., 2012). Bu çalışma kapsamında, defne (*Laurus nobilis*), karanfil (*Syzygium aromaticum*) ve tarçın (*Cinnamomum verum*) bitkilerinden elde edilen esansiyel yağların gıdalarda kullanımının potansiyel ve olası antimikrobiyal etkinliklerinin araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca, bu esansiyel yağların el dezenfektanı olarak kullanılabilme potansiyeli incelenmiştir.

1.3. Literatür Çalışması

1.3.1. Gıdalarda Koruyucular

Gıda endüstrisinde kimyasal koruyucu maddelerin kullanılması kaçınılmaz olmuştur. Bunlar belirli limitlerle kullanılabilir olsa da insan sağlığına olumsuz etkileri bulunabilmektedir. Bu sebeple, gıda güvenliğini sağlamaya yardımcı ve raf ömrünün uzamasını sağlayan 'doğal' koruyucuların geliştirilmesine ihtiyaç bulunmaktadır. Doğal koruyucuların bulunmasında takip edilecek birçok yol vardır. Bitkilerin kendi içinde mikrobiyal saldırıları önleme, bitki ve hayvanların dokularındaki bozulmaların önlenmesi için çeşitli yapısal mekanizmalar doğada işlemektedir. Bu mekanizmalar potansiyel olarak gıda muhafaza uygulamalarında kullanılabilmesi mümkündür. Mesela, üvez meyvelerinde (*Sorbus domestica*, üvez ağacının meyveleri) doğal olarak bulunan asit, sorbik asittir. Buradan yola çıkarak gıdalar da maya ve küflerin gelişimini engellemek için uzun yıllardır sentetik sorbat tuzu olarak kullanılmaktadır (E. ve Paul A., 2011).

1.3.1.1. Kimyasal Koruyucular

Kimyasal gıda koruyucuları doğal koruyuculara nispeten ucuz ve etkili olsa da bu koruyucuların kullanımıyla bir dizi sağlık sorunlarına sebep olabileceği tartışılmaktadır. Örneğin, 1970'lerde ve 80'lerde kürlenmiş etlerin (domuz pastırması) pişirilmesi sırasında nitrit'ten kanserojen nitrozaminlerin oluşumu hakkında önemli bir endişe oluşmuştur. Diğer taraftan, araştırmalar kürlenmiş etlerde nitritin kullanılmaması veya miktarının azaltılmasının *Clostridium botulinum* gelişmesine ve toksin üretimine yol açabileceğini göstermiştir. Ancak daha sonra, nitritin *Clostridium* türlerinin enerji metabolizması üzerinde çok özel bir etkiye sahip olduğu, dolayısıyla büyümeyi ve toksin üretimini önlediği gösterildi. Bir başka örnekte ise, sodyum benzoat varlığında, askorbik veya sitrik asit ile beraber kanserojen nitelikte benzen oluşumunu tetikleyen reaksiyonların meydana gelmesidir (Christiansen ve ark., 1973). Sodyum benzoat ile korunan bazı yapay gıda renkli karışımların tüketimi, çocukların davranışları üzerinde olumsuz bir etki olabileceği tartışılmıştır (Andersen, 2001; E. ve Paul A., 2011).

Diğer taraftan, gıdaları kükürtleyerek mikroorganizmalara karşı korumak, eskilerden beri süregelen bir yöntemdir. Kükürtleme işlemi, başta sebze ve meyvelerin kurutulularak saklanması olmak üzere, reçel, marmelat ve benzeri ürünlere işlenecek meyvelerin taze olarak muhafazasında yaygın olarak başvurulmuş bir yöntemdir. Kükürtleme için kullanılan kimyasal maddeler, kükürt dioksit (SO_2), potasyum bisülfid ($KHSO_3$), potasyum metasülfid ($Na_2S_2O_5$), sodyum bisülfid ($NaHSO_3$), sodyum metabisülfid ($Na_2S_2O_3$) ve sodyum sülfid (Na_2SO_3) gibi kimyasallar yıllardır kullanılmaktadır. Öte yandan gıdaların yapılarında da doğal olarak kükürt içeren bileşikler vardır. Kükürtleme işlemi hem esmerleşme reaksiyonlarının kontrolü hem de antimikrobiyal maddelerin etkinliğini arttırarak yarar sağlamaktadırlar. Gıdaların işlenmesinde kullanılan kimyasal maddelere karşı gelişen tepki çerçevesinde, gıdalardaki kükürt dioksit ve türevlerinin azaltılması veya alternatif koruma yolları araştırılmaktadır (Keleş, 1989).

1.3.1.2. Doğal Koruyucular

Basit koruyuculardan olan tuzlar ve şekerler, uzun yıllardır yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, "doğal koruyucular" denildiğinde, bitki veya hayvansal ürünler veya bunların özütleri söz konusu olduğu için, içerdikleri aktif bileşen(ler)in ve her uygulamanın tanımlanmasını ayrı ayrı yapmak gerekmektedir. Bu

doğal koruyucuların birçoğu uygulanmaları açısından yeni olacağından, yasal onay sistemlerine tabi olacaklardır. Mesela ABD kriterlerine göre, normalde o gıdanın bir parçasını oluşturmayacak herhangi bir katkı maddesinin 'doğal' olarak kabul edilmeyeceği ve bu nedenle 'doğal koruyucuların' potansiyel kullanımında çok daha kısıtlayıcı olduğu konusunda bir yaklaşım benimsemektedir (E. ve Paul A., 2011).

Bitki, hayvan ve mikrobiyal kaynaklardan elde edilen birçok antimikrobiyal bileşik rapor edilmiştir. Ancak bunların doğal gıda koruyucuları olarak kullanım potansiyelleri henüz tam olarak araştırılmamış veya pratikte uygulanmamıştır. Litik enzimlerin, bakteriosinlerin ve bitki özütlerinin antimikrobiyal özelliklerini açıklayan çok sayıda makale yayınlanmaktadır. Bu "doğal antimikrobiyallerin" çoğu, geleneksel tıpta kullanılan bitkilerin parçaları veya özütleridir (E. ve Paul A., 2011).

Esansiyel yağlar, literatür de en kapsamlı olarak incelenen doğal gıda koruyucularıdır. Özellikle Akdeniz havzası çevresindeki sıcak ülkeler, Afrika ve Hindistan'da yetişen bitkilerden elde edilen uçucu yağlar üzerinde en çok araştırma yapılmış olanlardır. Bu yağların antibakteriyel etkinliği kapsamlı bir şekilde incelenmiş, ancak antifungal aktivitesine ilişkin az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bununla birlikte esansiyel yağların gıdalarda koruyucu olarak kullanım potansiyellerinin belirlenmesi yönelik çalışmalarda yapılmaktadır. Literatür taramasında, esansiyel yağların bakteriler üzerindeki inhibe edici etkisi dışında, endüstriyel olarak kullanılmasına yönelik çalışma çok azdır. Bu çalışma kapsamında esansiyel yağların gıdalarda koruyucu olarak kullanılmasının dışında potansiyel el dezenfektanı olarak kullanılmasının sonuçları da incelenmiştir.

1.3.1.3. Esansiyel Yağlar

Esansiyel yağlar veya diğer bir deyişle uçucu yağlar, bitki bileşenlerinden veya membran dokudan fiziksel yollarla ayrılabilen, 300 dalton moleküler ağırlığın altında, lipofilik karakterde ve oldukça uçucu ikincil bitki metabolitleridir (Turek ve Stintzing, 2013a). Uluslararası Standardizasyon Örgütü (ISO) tarafından tanımlandığı üzere, "uçucu yağ" terimi, "bitkisel hammaddeden su veya buharla damıtılarak veya narenciye türü meyvelerden mekanik bir işlemle elde edilen ürünlerdir" (ISO 9235, 1997). Buna göre, piyasada bulunan uçucu yağların çoğu hidrodistilasyon ile elde edilir. Esansiyel yağların fiziksel standartları, Association Française de Normalization (AFNOR) ve ISO tarafından belirlenmiştir. Uluslararası Koku Derneği (IFRA), Koku Malzemeleri Araştırma

Enstitüsü (RIFM) ve Tüketici Güvenliği Bilimsel Komitesi (SCCS) gibi resmi görüşler ve yönergeler maksimum miktarları düzenler.

Ayrıca, tıbbi amaçlı uçucu yağların ulusal standartlara uygun olması gerekir. Diyet alımlarıyla ilgili olarak, uçucu yağlar, ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından kullanım amaçları dahilinde genellikle güvenli olarak tanınan (GRAS) statüsünde kabul edilir (Smith ve ark., 2005). Aroma verici, tatlandırıcı olarak kullanımının dışında esansiyel yağların antibakteriyel, antifungal, antiviral etkilerine dair literatür de makale ve raporlar mevcuttur (Turek ve Stintzing, 2013a, 2013b). Uçucu yağların gıdalarda antioksidan olarak kullanılması da tavsiye edilmiştir (Turek ve Stintzing, 2013b). Bu nedenle uçucu yağların gıda ve kozmetik gibi alanlarda son yıllarda kullanımı artan bir ivmeye sahiptir.

1.3.1.3.1. Esansiyel Yağların Kimyasal Bileşimi

Esansiyel yağların bileşenleri; çoğunlukla, lipofilik karakterdeki terpenoidler, fenil propanoidler veya düşük moleküler ağırlıklı kısa zincirli alifatik hidrokarbon türevleridir. Düşük kütleleri nedeniyle, damıtma yoluyla elde edilen uçucu yağlarda di-terpenlere neredeyse hiç rastlanılmamaktadır (Turek ve Stintzing, 2013b).

Bitkilerin yapılarında bulunan esansiyel yağların bileşimi ve miktarı yetiştirildikleri bölge ve iklime göre değişiklik göstermektedir. Bu durum başta renk, koku ve tat olmak üzere esansiyel yağların özelliklerini etkilemektedir. Literatürde yapılan çalışmalarda farklı bölgelerden alınan aynı bitkiye ait esansiyel yağlarda bu değişiklikler gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, hasat zamanı ve hasat şekli de esansiyel yağ oranlarını ve kompozisyonunu etkilemektedir (Hylgaard ve ark., 2012).

1.3.1.3.1.1. Defne (*Laurus nobilis*)

Defne ağacı; *Laurus nobilis* L. (*Lauraceae*) familyasına ait, Akdeniz bölgesinde yaygın olarak on metre yüksekliğe kadar büyüyen, ılıman ve subtropikal iklime sahip birçok ülkede (Türkiye, Cezayir, Fas, Portekiz, İspanya, İtalya, Fransa veya Meksika) doğal yollarla veya özel olarak yetişen bir bitkidir. Esas olarak, Şekil 1. de verilen resimde görünen aromatik yapraklarının kullanımından dolayı ticari bir değere sahiptir. Defne ağacı yaprakları keskin bir kokuya sahip olmakla birlikte bitkisel karışımlarda çokça

kullanılmaktadır. Yaklaşık 5-10 cm uzunluğunda ve 2-5 cm genişliğindeki yapraklar kösele, eliptik-mızrak şeklinde ve kenarlarında dalgalıdır. Kurutulmuş defne (*Laurus nobilis*) yaprakları çoğunlukla baharat olarak kullanılmaktadır. Çorbalarda, etlerde, balıklarda, soslarda ve içeceklerde lezzet verici olarak kullanılmasının yanı sıra Akdeniz diyetinin önemli bir parçası olmuştur (Peris ve Blázquez, 2015).



Şekil 1. Defne bikisi (*laurus noibilis*)'ne ait yaprakların morfolojik görünümü.

Defne (*Laurus nobilis*) yaprağı esansiyel yağındaki yüksek miktarda 1,8-Cineole, metil öjenol uçucu bileşiklerinin antibakteriyel etkinliğini arttırıcı yönde fayda sağladığı tespit edilmiştir. *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, *Klebsiella pneumonia* gibi patojenlere karşı antibakteriyel etkinliğinin olduğu bildirilmiştir. Gıda kaynaklı hastalık etmeni olan *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* sv. *Typhimurium* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı da defne esansiyel yağlarının bakterisidal etki gösterdiği tespit edilmiştir (Peris ve Blázquez, 2015).

Peris ve ark. (2015) yaptığı başka bir çalışmada defne (*Laurus nobilis*) yaprağının, ishal önleyici, antibakteriyel ve antioksidan özelliklere sahip olduğunu ve sindirim fonksiyonlarını uyarıcı etkisi olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca kan şekeri, toplam kolesterol, LDL kolesterol ve trigliserit profillerini azalttığı ve tip-2 diyabetli kişilerin HDL kolesterol seviyelerini düzenlediğini de belirtmişlerdir (Peris ve Blázquez, 2015).

Doğal koruyucu etkisi olan 1,8-Cineole bileşiği okaliptüs yağında ve defne (*Laurus nobilis*) yaprağında doğal olarak en çok bulunan bileşiktir. Fareler üzerinde yapılan çalışmalarda, cineole bileşiği, farelerin hareketleri üzerinde yavaşlatıcı etki gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca deneyde, farelerin uyku süresini arttırdığı gözlemlenmiş ve merkezi sinir sistemi üzerinde bir anti-depresan etki gösterdiği sonucuna varılmıştır (Santos ve Rao, 2000).

1,8-Cineole bileşiği *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, *Klebsiella pneumonia*'nın yanı sıra *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella* türlerine karşı antibakteriyel etkinliğe katkıda bulunduğu yapılan diğer çalışmalarca da tespit edilmiştir (Peris ve Blázquez, 2015).

1,8-Cineole bileşiğinin, anti-tümör aktivitesini belirlemek amacıyla, kolon kanseri tedavisindeki etkinliğinin test edildiği çalışmalarda gerçekleştirilmiştir. Çalışmalarda kolon kanseri hücresi taşıyan farelerde 1,8-Cineole bileşiği ile yapılan tedavilere yanıt olarak kanser hücrelerinin baskılandığı ve gelişiminin durduğu belirlenmiş ve 1,8-Cineole bileşiğinin kanser tedavisinde kullanımının etkili bir potansiyeli olabileceği rapor edilmiştir (Murata ve ark. 2013).

Defne (*Laurus nobilis*) uçucu yağında ikinci olarak en çok bulunan majör bileşik olan α -terpenil asetat bileşiğidir. α -terpenil asetat bileşiğinin tıbbi uygulama olarak “Alzheimer” hastalığının tedavisinde kullanımı mevcuttur (Geda ve ark., 2013; Chowdhury ve Kumar, 2020). A-Terpenil Asetat, *in vitro* ortamlarda yumurta beyazı lizozim proteininde topaklanma önleyici özellik göstermiştir (Chowdhury ve Kumar, 2020).

Sangun ve ark. (2007) Hatay, Yayladağı ve Samandağı bölgelerindeki doğal yetiştirilme ortamlarında bulunan defne (*Laurus nobilis*) ağaçlarından alınan yapraklar ile araştırma gerçekleştirmiştir. Çalışma sonucunda defne esansiyel yağında bulunan bileşiklerin % oranları karşılaştırılmıştır. Tablo 1’de çalışma sonucunda GC-MS ile elde edilen bileşiklerin % bulunma oranları verilmiştir. Her üç yöredeki numunelerin esansiyel yağlarında %45 den fazla 1,8-Cineole bileşiği bulunmuştur. 1,8-Cineole, bölgenin deniz kıyısı olan Samandağı’ndan (%59,94) toplanan yaprak esansiyel yağının ana bileşeni olarak bulunmuştur. Toplanan numunelerdeki esansiyel yağın ikinci en çok bulunan bileşeninin a-Terpinyl acetate olduğu tespit edilmiştir. Yapraklardan elde edilen esansiyel yağın bileşimi yüksek miktarda 1,8-Cineole, Sabinene ve α -Terpinyl asetat içeriğine

sahip olduğu belirtilmiştir. Numunelerde eser miktarda α -Pinene, α -Phellandrene ve trans- β -osimen gibi bileşiklere de rastlanılmıştır (Sangun ve ark., 2007).

Tablo 1. Antakya, Yayladağı ve Samandağı yöresindeki defne (*Laurus nobilis* L.) yapraklarının bileşim oranları(Sangun ve ark., 2007).

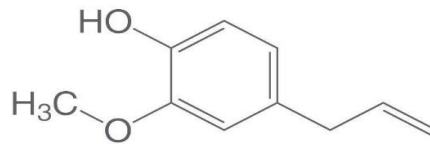
Bileşenler (% bileşen)	Antakya	Yayladağı	Samandağı
a-Thujene	0.36	T	T
a-Pinene	3.66	2.19	2.61
Camphene	0.19	T	T
Sabinene	14.05	7.83	8.70
Myrcene	0.62	T	T
a-Phellandrene	T	T	T
1,8-Cineole	46.61	47.63	59.94
Trans- β -osimen	T	0.27	T
Y-Terpinene	0.37	0.75	0.79
Trans-Sabinene hydrate	1.28	0.48	0.52
Cis-sabinene hydrate	0.58	0.37	T
a-Terpinolene	T	0.33	0.25
Linalool	0.64	0.40	0.37
Terpinen-4-ol	1.82	2.20	2.05
a-Terpinenol	6.83	1.43	1.94
a-Terpinyl acetate	11.94	25.70	16.33
Eugenol	T	0.65	T
B-Elemene	0.22	0.24	0.21
B-Cayophyllene	T	T	0.23
Methyl eugenol	1.95	3.39	0.41
a-Humulene	T	T	T
Caryophyllene oxide	1.26	0.30	0.92
Calamenene	0.52	0.30	0.28
B-Eudesmol	1.61	1.09	0.63
a-Eudesmol	1.04	0.34	0.10
T: tespit edilemedi			

1.3.1.3.1.2. Karanfil (*Syzygium aromaticum*)

Karanfil (*Syzygium aromaticum*), *Myrtaceae* familyasına ait çok yıllık bir bitkidir. Endonezya'nın Maluku adaları dünya üzerinde en çok karanfil yetiştirilen bölgedir. Her yıl ortalama yaklaşık 79 bin ton üretim ile dünyadaki toplam karanfil üretiminin yaklaşık %71'i buradan temin edilmektedir. Dünya üzerindeki diğer karanfil üreticileri ise Hindistan, Madagaskar, Tanzanya, Brezilya ve Sri Lanka'dır. Karanfil bünyesinde

bulunan esansiyel yağı endüstriyel, kozmetik ve diğer amaçlarla kullanmak için hasat edilir. Karanfil yağı genellikle hidrodistilasyon, buhar damıtma veya çözücü ekstraksiyon yöntemiyle elde edilir. Karanfil yağı, eugenol, karyofillen ve aseteugenol olmak üzere üç ana aktif bileşenle ve farklı bileşenlerin karışımından oluşur. Bu üç ana grubun esansiyel yağın antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerine katkıda bulunduğu bilinmektedir. Karanfil yağının, alternatif tıp uygulamalarında, gıda endüstrisinde tatlandırıcı olarak, koku (esans), kozmetik ve ilaç endüstrisi gibi farklı alanlarda kullanımının olduğu bilinmektedir (Amelia ve ark., 2017).

Amelia ve ark. (2017) farklı karanfil (*Syzygium aromaticum*) numunelerinin uçucu yağ kompozisyonlarını karşılaştırdıkları çalışmada, tüm örneklerde ortalama bulunma sıklıklarına göre majör bileşiklerin, Eugenol (%55,60-%89,20), Coryophllene (%3,56-%35,40), Eugenyl Acetate (%1,20-%20,54), α -Humulene (0-%2,75) olduğunu rapor etmişlerdir (Amelia ve ark., 2017). Numunelerdeki majör bileşiklerin kompozisyonundaki farklılıklar, yetiştirme koşullarından ve saklama şartlarından dolayı olduğu rapor edilmiştir. Karanfil esansiyel yağında en çok bulunan majör bileşik olan Eugenol bileşiğinin kimyasal yapısı Şekil 2 de sunulmuştur.



Şekil 2. Karanfil (*Syzygium aromaticum*) uçucu yağında en çok bulunan majör bileşik olan Eugenol'ün kimyasal yapısı.

Eugenol, lokal anestezik aktiviteye ek olarak antioksidan, anti-inflamatuar ve kardiyovasküler özelliklere sahip olduğu rapor edilmiştir. Eugenol (100 mg/kg), farelerde lokal ağrıya olan etkileri incelenmiştir. Sonuçların bölgesel olarak uyuşukluk sağlamada daha etkili olduğu saptanmıştır (Pramod ve ark., 2010).

Eugenol'ün bir antioksidan olarak potansiyel kullanımı, Nagababu ve ark. (1994) çalışmalarıyla ispatlanmıştır. Araştırmacılar çalışmalarında, Eugenol'ün, 4-15 μ M

konsantrasyonlarda tiyobarbitürik asit reaktif maddelerin (TBARS) oluşumunu azalttığını bildirmişlerdir. Ayrıca aynı çalışmada Eugenol'un, lipid peroksidasyonunun ve düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyonunun yüksek oranlarda baskılanmasını da sağlayabileceği raporlanmıştır. Eugenol bileşikler, düşük yoğunluklu lipoprotein bakıra bağlı oksidasyonunu ve Fe^{+2} 'in lipid peroksidasyonunu ve oto-oksidasyonunu önemli ölçüde azalttığı belirlenmiştir (Nagababu ve Lakshmaiah, 1994).

Alyahya ve Alqareer (2006), yaptığı bir çalışmada, karanfil (*Syzygium aromaticum*) yağının anestezik etkisini ağız ve diş sağlığında uyuşturucu etkisi olan Benzokain ile karşılaştırmalı olarak değerlendirmek için 73 denekte rastgele, bir çalışma gerçekleştirmiştir. Karanfil jeli ve benzokain grupları arasındaki ağrı skorları önemli ölçüde farklı olmadığı, ancak plasebo gruplarından daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu sebeple, karanfil jelindeki Eugenol'un anestezik olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Çalışma sonucunda, karanfil jelinin diş hekimliğinde benzokain jeli alternatif olarak kullanılabilecek ucuz ve kolay temin edilebilen bir anestezik olduğu sonucuna varılmıştır (Alqareer ve ark., 2006).

Teles ve ark. (2021) gerçekleştirdikleri bir çalışmada karanfil (*Syzygium aromaticum*) esansiyel yağının, gram pozitif (+) ve gram negatif (-) bakteriler üzerine etkisi incelenmiştir. Çalışma disk difüzyon metodu kullanılarak yapılmıştır. Çalışma sonucunda karanfil esansiyel yağının 14 ila 25 mm arasında değişen çapta inhibisyon zonuna sahip olduğu rapor edilmiştir. Karanfil esansiyel yağının, bakteriler üzerindeki bu sonuçlarının %90'nın üzerinde bir oranda Eugenol bileşiği ve türevlerini içermesinin etkisi olabileceği raporlanmıştır (Teles ve ark., 2021).

Raina ve ark. (2001) Hindistan da bulunan birkaç adadan temin ettikleri karanfil (*Syzygium aromaticum*) örnekleri üzerinde yaptığı kantitatif analizleri değerlendirmiştir. Analizleri GC-MS/MS metodu kullanarak gerçekleştirmişlerdir. Tablo 2'deki analiz sonucunda karanfil numunelerinin içerdikleri bileşenlerde küçük miktarlarda değişiklikler olsa da genel yapı itibarıyla aynı türden bileşiklere rastlamışlardır. Bunun en büyük sebeplerinden birisi ise yetiştirilme koşulları ve iklim şartlarıdır. Farklı iklim koşullarında yetiştirilen Eugenol hemen hemen tüm sistemler üzerinde farmakolojik etkiler gösterdiği belirtilmiştir (Raina ve ark., 2001).

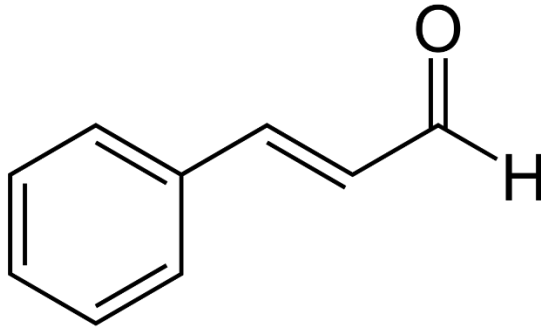
Tablo 2. Raina ve ark. gerçekleştirdikleri çalışmaya göre, karanfil (*Syzygium aromaticum*) numunelerinde bulunan bileşikler (Raina ve ark., 2001).

Bileşik	% Bulunma Oranı
(E)-B-Ocimene	0.03
Linalool	0.08
Terpinen-4-ol	0.03
Nerol	0.79
Eugenol	94.41
a-Copanene	0.04
B-Caryophyllene	2.91
a-Humulene	0.36
(E,E)- α -Farnesene	0.06
γ -Cadinene	0.18
(E)-Nerolidol	0.03
B-Caryophyllene	0.67
Humulene oxide II	0.07
β -Cadinol	0.07
Cadalene	0.18
Hexadecyl actate	0.09

1.3.1.3.1.3. Tarçın (*Cinnamomum verum*)

Tarçın (*Cinnamomum verum*), *Lauraceae* familyasına ait çok yıllık bir bitkidir. Çin, Vietnam, Sri Lanka, Madagaskar ve Hindistan'da yaygın olarak görülen önemli geleneksel bir bitkidir. Ayrıca bitkisel ilaç olarak da bulunduğu bölgedeki yerel halk tarafından da kullanılmaktadır (Li ve ark., 2013).

Li ve ark. (2013) hazırladığı rapora göre, Dünya üzerinde Çin, bol miktarda tarçın (*Cinnamomum verum*) kaynağına sahiptir. Guangxi, Guangdong, Yunnan, Fujian ve Hainan eyaletlerinde yetiştirilme oranları çok yüksektir. Guangxi ve Guangdong eyaletlerinden tarçın üretimi, dünya pazar payının yaklaşık %80'ini oluşturduğu bildirilmektedir. Tarçın kabuğu, Çin'de önemli bir tıbbi madde olarak kullanılmaktadır. Tarçından elde edilen uçucu yağlar, tarçın kabuğunda bulunurlar ve bu yağlar büyük miktarlarda terpen ve aromatik bileşikler içerir. Spesifik olarak, "Cinnemaldehyde" tarçın yağlarının birincil majör bileşenidir. Şekil 3'de Cinnemaldehyde bileşiğinin kimyasal yapısı sunulmuştur. Tarçının mükemmel bir anti-inflamatuar, antioksidan, antikanser aktivitelerine sahip olduğu rapor edilmiştir. Günümüzde tarçın (*Cinnamomum verum*); farmasötik, kozmetik, gıda, ve kimya endüstrisi gibi farklı alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Li ve ark., 2013).



Şekil 3. Tarçın (*Cinnamomum verum*) uçucu yağında bulunan birinci majör bileşik olan Cinnemaldehyde'in kimyasal yapısı.

Adinew ve ark. (2014) yaptığı çalışmada; tarçın (*Cinnamomum verum*) çubuklarını toz haline getirdikten sonra hidrodistilasyon yöntemiyle esansiyel yağları alınmış ve GC-MS yöntemi ile içerik analizi yapılmıştır. Analiz sonucunda; 2-propenal,3-phenyl (%87.013), Tricyclo-nona-3,6-dien-9-on (%0.173), Eugenol (%9.317), O-Methoxy cinnamic aldehyde (%0.236), α -murolene (%0.133), Naphthalene 1,2,3,4-tetrahydro-1,6-dime (%0.195), 2-propenal-3-phenyl (%87.013) bileşiklerin varlığı tespit edilmiştir. Bu bileşiklerin tarçın aroması ve kokusu için önemli olduğu vurgulanmıştır. Çalışma sonucunda tarçın bitkisindeki bu bileşiklerin parfümeri, kozmetik, gıda ve antimikrobiyal ajanların üretilmesi gibi endüstriyel alanlarda kullanılabileceği rapor edilmiştir (Adinew, 2014).

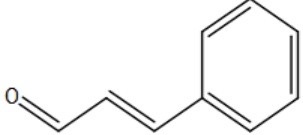
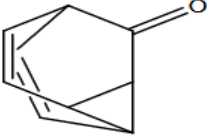
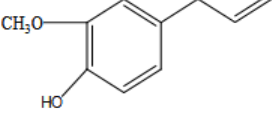
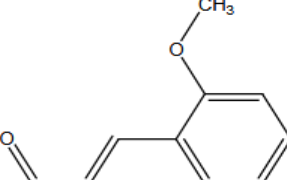
Friedman ve ark. (2000) tarçın (*Cinnamomum verum*) majör bileşiği olan Cinnemaldehyde'i içeren bitki ve işlenmiş gıdaları inceleyen bir çalışma yapmışlardır. Elma püresinde cinnemaldehyde içerikleri, değerlendirilen iki numune için 0,05 ve 0,39mg/100gr olarak tespit edilmiştir. Fırınlanmış dört numune ürünü için değerler 0,04 ila 31,1 mg/100 g olarak tespit edilmiştir. 5 tahıl numunesinde ise 1,8 ila 21,9 mg/100 g arasında değerler elde edilmiştir. Çerezlerden alınan 4 numune için ise değerler 0,04 ila 15,8mg/100 g arasında ve pudinglerde iki numune için 0,49 ve 1,9 mg/100g arasında sonuçlar elde edilmiştir. Elma ve portakal sularında sadece eser miktarda tespit edilmiş, domates suyunda ise Cinnemaldehyde bileşiğine rastlanılmamıştır (Friedman ve ark., 2000).

Hindistan'da şeker hastalığını tedavi etmek için geleneksel tıp uygulamalarında yaygın olarak kullanılan tarçın (*Cinnamomum verum*) ve içerisinde en çok bulunan bileşik olan Cinnemaldehyde hedef alınarak bir çalışma yapılmıştır. Streptozotosin (STZ) (60 mg/kg canlı ağırlık) ile indüklenen erkek diyabetik wistar cinsi sıçanlara 45 gün boyunca farklı dozlarda (5, 10 ve 20 mg/kg canlı ağırlık) Cinnemaldehyde tedavisi uygulanmıştır. Tedavi sonucunda plazma glukoz konsantrasyonunun kontrole göre doza bağımlı bir şekilde (%63,29) önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir. Ek olarak, Cinnemaldehyde (20 mg/kg vücut ağırlığı) oral yoldan verilmesi, hemoglobin, serum toplam kolesterol miktarı, trigliserit düzeylerini önemli ölçüde azaltırken, plazma insülin miktarı, ve yüksek yoğunluklu lipoprotein-kolesterol düzeylerini de önemli ölçüde arttırdığı tespit edilmiştir (Subash Babu ve ark., 2007).

Domadia ve ark. (2007) Cinnemaldehyde ile ileri düzeyde yaptığı çalışmada, cinnemaldehyde'in hücre bölünmesi üzerine etkisi olabileceği raporlanmıştır. Cinnemaldehyde' in, *Bacillus cereus* hücre bölünmesini engelleyici etkisinin olabileceği bildirilmiştir. Cinnemaldehyde' in bu özelliği tarçın esansiyel yağının etkili bir antibakteriyel olmasına katkı sağlamaktadır. Hücre bölünmesi, FtsZ proteini tarafından düzenlenir. FtsZ, hücre bölünmesi bölgesinde Z halkasına toplanmasını sağlar. Burada, cinnemaldehyde FtsZ proteini üzerindeki ve dolayısıyla hücre bölünme üzerinde etkisi olduğu rapor edilmiştir. Cinnemaldehyde, FtsZ'nin reaksiyonlarını ve denetlenme görevini azaltıcı etkisi olabileceği düşünülmektedir. Cinnemaldehyde “*in vivo*” olarak Z halkası morfolojisini bozduğu ve *Escherichia coli* 'nin birim hücre uzunluğu başına Z halkasının sıklığını azalttığı bulunmuştur (Domadia ve ark., 2007).

Shen ve ark. (2015) yaptığı bir çalışmada tarçın (*Cinnamomum verum*) esansiyel yağındaki bileşiklerin etkilerini incelemiştir. Bu bileşiklerden olan cinnemaldehyde'in antimikrobiyal mekanizmasını belirlemek için gram negatif (-) *Escherichia coli* (ATCC 8735) ve gram pozitif (+) *Staphylococcus aureus* (ATCC 3101) model bakteri olarak seçilen bir çalışma yapılmıştır. Cinnemaldehyde'in gıda kaynaklı patojen bakteri membranları üzerindeki etkilerini araştırmak için çeşitli teknikler kullanılmıştır. Membran bütünlüğünü belirlemek ve çökelme kontrolü için ultraviyole (UV) absorpsiyonu ve elektriksel iletkenliğinden faydalanılmıştır. Çalışmada, β -Galaktosidaz aktivitesi, iç zar geçirgenliğini saptamak için kullanılmıştır. Bakteri morfolojisini gözlemlemek için taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve transmisyon elektron

mikroskobu (TEM) ile gözlemler yapılmıştır. Cinnemaldehyde'e maruz bırakılan her iki suştan alınan numuneler, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daha yüksek UV absorpsiyonu, iletkenlik değeri ve β -Galaktosidaz aktivitesi gösterdiği ve hızlı bir artış eğilimi sergilediği belirlenmiştir. Daha sonra, değerler nispeten kararlı bir duruma geldiği belirlenmiştir. SEM ile yapılan gözlemlerde, *S. aureus* hücrelerinin bir kısmının derin kırışıklık oluşumu nedeniyle ayrıldığı belirlenmiştir. TEM ile yapılan incelemelerde ise cinnemaldehyde ile muamele edilen bakterilerin, hücre duvarından sitoplazmik membran ayrılması, hücre duvarı ve hücre zarı bozulması, sitoplazmik sıvı sızıntısı ve sitoplazmik içeriğinde kümeleşmeler dahil çok sayıda anormallik sergilendiği gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, *E. coli* ve *S. aureus* hücreleri minimum inhibitör Cinnemaldehyde konsantrasyonlarına (0,31 mg/mL) maruz kaldığında bakteri hücre morfolojisinin, membran bütünlüğünün ve geçirgenliğinin zarar gördüğü rapor edilmiştir. Ayrıca, cinnemaldehyde konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak, bakteriyel membran hasarının arttığı bildirilmiştir (Shen ve ark., 2015).

İsim	Yapı	Formül
2-propenal, 3-phenyl		C_9H_8O
Tricyclo [3.3.1.0 (2,8)] nona-3,6-dien-9-on		C_9H_8O
Eugenol		$C_{10}H_{12}O_2$
O-Methoxy cinnamic aldehyde		$C_{10}H_{10}O_2$

Şekil 4. Tarçın (*Cinnamomum verum*) bitkisinde bulunan bazı bileşimlerin isim, yapı ve formülleri (Adinew, 2014).

1.3.1.3.2. Esansiyel Yağların Patojen Mikroorganizmalar Üzerine Etkisi

Gıda kaynaklı patojenler, insan sağlığı ve ekonomisi üzerinde önemli etkileri olan çok sayıda hastalığa neden olmaktadır. Patojen bakteri gıda ortamında gelişip toksin ürettiğinde ve daha sonra tüketici tarafından vücuda alındığında da gıda kaynaklı hastalıklar ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle, gıda kaynaklı hastalıklar genellikle iki farklı şekilde sınıflandırılır: (a) gıda kaynaklı enfeksiyon ve (b) gıda kaynaklı intoksikasyon. Gıda kaynaklı enfeksiyonlarda genellikle bir kuluçka dönemi söz konusu olduğundan, alımdan semptomların ortaya çıkmasına kadar geçen süre gıda kaynaklı intoksikasyonlar çok daha uzundur. 200'den fazla farklı gıda kaynaklı hastalık tanımlanmıştır. En şiddetli vakalar genellikle yaşlılarda, çocuklarda, bağışıklık sistemi zayıf olanlarda ve çok yüksek dozda bir mikroorganizma yüküne maruz kalan sağlıklı kişilerde ortaya çıkma eğilimindedir (Bintsis, 2017).

Esansiyel yağların bileşenlerinin antimikrobiyal etkisi ile ilgili çoğu çalışma bakteriler üzerindeki etkilerini araştırmaya yöneliktir. Ancak bildiğimiz kadarıyla bunların maya ve küfler üzerindeki etkileri üzerine yapılan çalışmaların nispeten daha sınırlı olduğudur. Bakteriler üzerinde yapılan çalışmalarda; gram negatif (-) bakterilerin genellikle gram pozitif (+) bakterilerden daha az duyarlı olduğu bildirilmiştir (Hyldgaard ve ark., 2012). Gram negatif bakterilerin dış zarı, makro moleküllere ve hidrofobik bileşenlere karşı bir bariyer oluşturan lipopolisakkaritleri (LPS) içerir. Bu özelliklerinden dolayı gram negatif (-) bakteriler esansiyel yağlara karşı gram pozitif(+) bakterilere oranla daha az hassastır (Ouattara ve ark., 1997).

Esansiyel yağların içinde bulunan fenolik bileşikler, patojen mikroorganizmaların enzim çalışma sistemlerinin bozulmasını sağlayarak enzimatik reaksiyonları durdurabilir, çekirdek ve ribozomal seviyede enzim sentezlenmesini engelleyebilir, hücreye besin maddelerinin alımını zorlaştırır. Hücre zarının yapısına zarar vererek hücre zarının yapısındaki fosfolipit tabakanın hassaslaşmasına ve madde geçirgenliğinin artmasına sebep olabilir (Oussalah ve ark., 2007). Mikroorganizma çeperinin fonksiyonel ve yapısal özelliklerine, protonların hareket etme gücünün oluşumuna etki ederek zarar verir. pH değişimi (ΔpH) ve elektrik potansiyelindeki değişimler iyon konsantrasyonlarını değiştirerek hücresel mekanizmayı etkiler. Elektrik potansiyeli ve pH'daki değişim, iyonların, ATP'nin, nükleik asitlerin ve aminoasitlerin hücreden dışarıya sızmasına sebep olur. K^+ iyonlarının hücre dışına çıkmış genellikle hücrede başlayan zararın erken

belirtisidir. Bunu daha sonra sitoplazma ve içerisinde bulunan maddelerin dışarıya akması takip etmektedir (Ultee ve ark., 2002).

Jain ve Kar (1971) gerçekleştirdikleri bir çalışmada Hindistan bölgesinde yetiştirilen beş farklı bitkinin farklı kısımlarını kullanmışlardır. Çalışmada buhar distilasyonu yöntemiyle esansiyel yağlar elde edilmiş olup 15 farklı bakteri suşu üzerinde bakterisidal etkinlikler incelenmiştir. *Z. alatum* (tohum), *A. hispidum* (yaprak), *P. longifolia* (yaprak), *B. eriantha* (yaprak) ve *P. nigrum*'dan (meyve) alınan örnekler ile yapılan çalışma sonucu esansiyel yağların *E. coli* ve *S. aureus* başta olmak üzere birçok patojen üzerinde etkili olduğu sonucuna varmışlardır (Jain ve Kar, 1971).

Jayakumar ve ark. (2006) yaptıkları çalışmada; Tarçın (*Cinnamomum verum*), limon, narenciye, biberiye gibi 21 farklı bitkilerden elde edilen esansiyel yağlar 1:1, 1:2, 1:5 gibi farklı oranlarda karıştırılarak sinerjistik etkileri incelenmiştir. Çalışma sonucunda; analiz edilen numunelerin çoğunluğunun, test edilen suşlara karşı bakterisidal etki gösterdiğini belirtmiştir. Ancak tarçın, karanfil (*Syzygium aromaticum*) ve misket limonu esansiyel yağlarının hem gram-pozitif hem de gram-negatif bakterileri inhibe ettiği ve tarçın esansiyel yağının iyi bir antibakteriyel madde olabileceği rapor edilmiştir (Prabuseenivasan ve ark., 2006).

Tez çalışması kapsamında numunelerimiz olan tarçın (*Cinnamomum verum*), karanfil (*Syzygium aromaticum*) ve defne (*Lsaurus nobilis*) bitkilerinden elde ettiğimiz esansiyel yağları insan patojeni olan; *Bacillus cereus*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Yersinia enterocolitica* bakterileri, *Candida albicans* maya, *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasticus* küf suşları üzerinde biyosidal etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışma kapsamında kullandığımız bazı insan patojeni mikroorganizmalar ile ilgili bilgiler;

1.3.1.3.2.1. *Bacillus cereus*

Bacillaceae familyasının üyesi olan *Bacillus cereus*; gram (+), hareketli, çubuk şeklinde ve spor oluşturma yeteneğine sahip bakteri türüdür. *B. cereus*'un vejetatif hücreleri 4–15 ila 35–55°C arasında değişen sıcaklıklarda gelişir, ancak suşa bağlı olarak 30–40°C'yi

tercih eder. Organizma pH 4.9-9.3 aralığında gelişir, ancak pH 4.35'te et üzerinde sınırlı büyüme ile çoğaldığı tespit edilmiştir (Andersson ve ark., 1995). Gelişme için minimum a_w 0.93 olarak belirlenmiştir.

B. cereus, insanlarda; kusma ve ishale sebep olan iki tür toksin üretir ve bu hastalıklara neden olur. Emetik sendrom olarak adlandırılan hastalık, gıdadaki büyüme aşamasında bakteriler tarafından üretilen kusturucu toksinden kaynaklanır. İshal sendromuna ise ince bağırsakta bakterilerin büyümesi sırasında üretilen ishal toksinleri neden olur (Bintsis, 2017).

Emetik tipin hızlı belirtileri bulantı ve kusma ile kendini gösterirken, ishal tipinin geç başlangıcı sebebi ile ishal ve karın ağrısı ile kendini gösterir. *B. cereus* gıda zehirlenmesine sıklıkla karışan gıdalar arasında et ürünleri, çorbalar, sebzeler, pudingler, soslar, süt ve süt ürünleri bulunur (Bintsis, 2017).

1.3.1.3.2.2. *Escherichia coli*

Escherichia coli, gram (-), spor oluşturmeyen, çubuk şeklinde bir bakteridir. Bazı türleri hareket etme yeteneğine sahipken bazı türlerinde hareket etme yeteneği yoktur. Yine bazı türlerinde kamçı varken bazı türlerinde kamçı bulunmamaktadır. *E. coli* fakültatif bir anaerobdur ve laktik, asetik ve formik asit oluşturmak için glikoz gibi basit şekerleri fermente eder. Gelişme için optimum pH 6.0 ila 8.0'dır. Bununla birlikte, gelişme pH 4.3 de düşük hızlarda da gerçekleşebilir. *E. coli*, çok geniş ve çeşitli bir bakteri grubudur. *E. coli* türlerinin çoğu zararsızdır, ancak toksin üretimi yapan suşları insanlar için patojenik özelliktedir. Günümüzde 5351 farklı *E. coli* suşuna ait genom tanımlanmıştır (García ve ark., 2010).

1.3.1.3.2.3. *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes, özellikle hamile kadınlarda, yeni doğan çocuklarda, yaşlılarda ve bağışıklığı zayıflamış bireylerde ölümlerine sebep olabilecek gıda patojenlerinden biridir. Organizmanın bulunduğu ortamlar genellikle, kanalizasyon, su ve toprak gibi ortamlardır. Hem aşırı sıcaklıklarda (1–45 °C) hem de tuz konsantrasyonunda hayatta kalabilir. Özellikle gıda üzerinde son derece tehlikeli bir patojen olarak tanımlanmaktadır (Buchanan ve ark., 2017). Bakteri, pişmemiş et ve sebzeler, çeşitli çiğ gıdalarda ve ayrıca

pişirildikten veya işlendikten sonra kontamine olan gıdalarda bulunmuştur. Bağırsaklarda emildikten sonra merkezi sinir sistemine zarar verecek şekilde yayılabilir. Menenjitte (omuriliği ve beyni çevreleyen zarın iltihabı), gastroenterite (mide ve bağırsak mukozasının iltihabı) ve sepsisme (kanda bakteri ve toksinlerin sistemik yayılması) neden olabilir (Buchanan ve ark., 2017).

1.3.1.3.2.4. *Salmonella* spp.

Enterobacteriaceae familyasında bulunan *Salmonella*, hareketli, spor oluşturmeyen, gram (-), çubuk şeklinde bir bakteridir. *Salmonella* iki tür hastalığa neden olur: 1) Mide bulantısı, kusma, ishal, kramplar ve ateşe neden olan, semptomları genellikle birkaç gün süren ve bir hafta içinde azalan mide bağırsak hastalığı. 2) Tifo hastalığı, yüksek ateş, ishal veya kabızlık, ağrı, baş ağrısı ve uyuşukluğa (uyuşukluğa veya halsizliğe) sebep olan semptomlardır. Tedavi görmeyen hastaların %10'unun ölümlerine sonucunda bildirilmiştir (FDA, 2012).

Et, yumurta, meyve, sebze, baharat, çiğ ağaç yemişleri, kuru gıdalar gibi birçok yiyecek türü *Salmonella* ile kontamine olabilir. *Salmonella*'dan kaynaklanan gıda kaynaklı hastalıkları önlemek için kapsamlı pişirme, el yıkama, çiğ gıdaları pişmiş gıdalardan ayrı tutma ve gıdaları doğru sıcaklıkta tutma (+4°C) gibi önlemler ile kontaminasyon önlenir (FDA, 2012).

1.3.1.3.2.5. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus, tek tek veya çiftler, dörtlüler, kısa zincirler veya karakteristik "üzümsü" kümeler halinde görünen hareketsiz, gram pozitif (+) koklardır. *S. aureus*, suşa bağlı olarak 7 ila 47,8°C arasında değişen sıcaklıklarda gelişir ve 10 ila 46°C arasında enterotoksin üretir, ancak 40 ila 45 °C arasında bir optimum sıcaklığı tercih eder. Bakteri pH 4,5 ile 9,3 arasında, optimum ise 7,0 ile 7,5 arasında gelişir ve yüksek tuz seviyelerine (>%10 sodyum klorür) toleranslıdır. Enterotoksin üretimi için minimum 0,86 a_w gerektirirken, büyüme 0,83 a_w'de görülebilir (FDA, 2012).

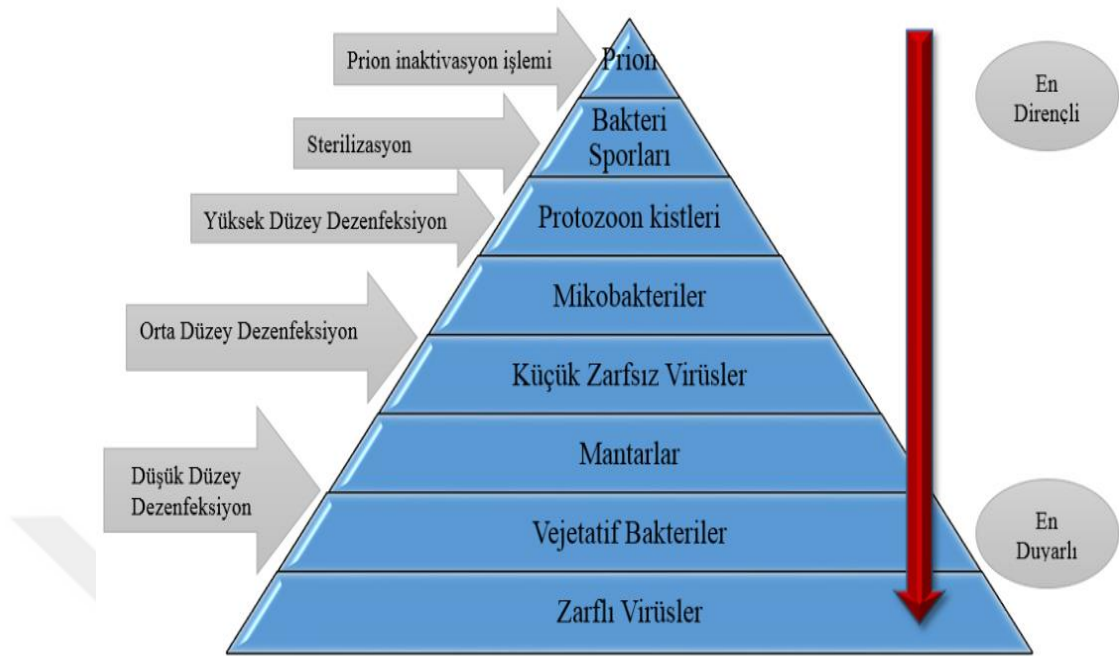
1.3.2. El Dezenfektanları

Dezenfeksiyon; canlı veya cansız ortamdaki bakteri endosporları dışında kalan patojen mikroorganizmaların öldürülmesi veya üremelerinin durdurulması için gerçekleştirilen işlemdir. Bu amaçla kullanılan kimyasal maddelere ise ‘dezenfektan’ denir. Dezenfeksiyon, sterilizasyon ile aynı anlam taşımamaktadır. Tüketim için uygun bir dezenfektanın özellikleri:

- Geniş spektrumlu olması, yani bakterilere, küflere, virüslere, protozalara, mantarlara karşı biyosidal etki göstermelidir.
- Koroziv yapıda olmamalıdır.
- Toksik etkisi olmamalıdır.
- İnsan sağlığını üzerinde olumsuz etkileri olmamalıdır.
- Uygulama biçimine göre, alet ve ekipmanlara karşı da etkili olmalıdır.
- Oda şartlarında etkili olmalıdır.
- Düşük yoğunlukta bile etki gösterebilmelidir.
- Fiyat bakımından uygun olmalıdır.

Dezenfektanlar, mikroorganizmaları öldürme kapasitesine göre yüksek, orta ve düşük düzeyde etkili dezenfektanlar olarak sınıflandırmışlardır (Rutala ve Weber, 2016). Yüzeyde bulunan patojen canlılar dezenfektan maddeye uzun süre maruz kaldığında bağışıklık kazanıp dezenfektan etki maddesine karşı direnç geliştirebilirler (Rutala ve Weber, 2016).

Yapılan araştırmalar, bakterilerin dezenfektanlara karşı gösterdiği bağışıklık 50 yıl öncesine göre kat kat artmıştır. Bu durum günden güne artmakta ve bakterilere karşı etkili mekanizmanın bulunması zorlaşmaktadır.



Şekil 5. Dezenfektanlar ve Mikroorganizma ilişkisi (Rutala ve Weber, 2016).

Dezenfektan maddenin aktivitesi önemlidir, belirlemek için çeşitli yöntemler uygulanır. Bu yöntemler genellikle deneme ve sonuç üzerine çalışır. Yani uygulanan doz ve mikroorganizma üzerindeki etkisi üzerinden gitmektedir. Kullanılacak dezenfektanın etkisi; kimyasal yapısı, etkileyebileceği bakteri ve/veya virüs cinsine, kullanılacağı bölgelerin uygunluğuna ortamdaki varsa organik-inorganik maddelere göre yöntem seçilerek bu etki belirlenir. Etkinlikler belirlenirken farklı kuruluşların standartları da göz önüne alınmalıdır. Almanya Hijyen ve Mikrobiyoloji Derneği (DGHM), Fransa Standardizasyon Derneği (AFNOR), İngiltere Standartları Enstitüsü (BSI), Avrupa Serbest Ticaret Birliği (EFTA), Avrupa Standardizasyon Komitesi (CEN), Türk Standartları Enstitüsü (TSE) tarafından bu standartlar yayınlanmaktadır.

Dezenfektan etki gösteren kimyasalların aktif bileşenleri; etanol, L-laktik asit, sitrik asit ve hidrojen peroksit gibi doğal maddelerden sodyum hipoklorit, hipokloröz asit, kuaterner amonyum bileşikler, oktanoik asit, peroksi asetik asit ve glikolik asit gibi sentetik maddelerin farklı konsantrasyonlarda kullanılmasıyla hazırlanmaktadır (Samara ve ark., 2020). Antiseptikler ve dezenfektanlar, hastaneler, yemekhaneler, fabrikalar, toplu taşıma, insan temasının çok olduğu ortamlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle enfeksiyon riskinin azaltılması için hastane, yoğun bakım üniteleri, ameliyathane gibi

ortamlarda sıkça kullanılmaktadır. Gıda ve tüketici pazarlarındaki potansiyel mikrobiyal kontaminasyon ve enfeksiyon risklerine ilişkin artan endişeler sebebiyle, halk tarafından antiseptik ve dezenfektan kullanımını arttırmıştır (Mcdonnell ve Russell, 1999).

Turner ve ark. (2004) yaptıkları bir çalışmada; on sağlıklı yetişkin gönüllüye, 4 saatlik bir süre boyunca her 10 dakikada bir ticari olarak temin edilebilen izopropil alkol içeren bir el dezenfeksiyon karışımı uygulanmıştır. Kan izopropil alkol seviyeleri, çalışmanın başında ve sonunda ölçülerek kayıt altına alınmıştır. Çalışmanın sonunda, alkol kullanmayan dokuz denekte ölçülebilir kan izopropil alkol seviyeleri (0,5 – 1,8 mg/l aralığında) kaydedilmiştir. Çalışmanın sonucunda, izopropil alkolün sağlıklı yetişkinlerde sağlam deriden emilebileceğini göstermişlerdir. Nitekim daha önce bildirilen hayvan çalışmalarını ve vaka raporlarını doğruladıklarını savunmaktadırlar. İzopropil alkolün yetişkin insanların derisinden emilebileceğini sonucuna varmışlardır (Turner ve ark., 2004). Bu durum sosyal ve tıbbi açıdan tartışılır bir sonuçtur.

2019 yılında Çin’de ortaya çıkan Korona virüs (SARS-CoV-2) ile beraber insanların günlük yaşamında dezenfektan kullanımında anormal artışlar olmuştur. Virüsün yayılmasını önlemek ve kontrol etmek için kullanılabilecek ev tipi çamaşır suyu, alkol ve el dezenfektanları gibi çok çeşitli ürünlerin üretimi ve kullanımı günden güne artmıştır. İnsanların gerek bilinçsiz olması gerekse sağlık endişesi, dezenfektan kullanımında aşırıya kaçması sebebiyle faydası değil bazen zararlı etkileri de görülmektedir. COVID-19 salgını sırasında dezenfektan zehirlenmesi vakalarında önemli bir artış bildirmiştir (Chang ve ark., 2020). Özellikle, zehirlenmeye maruz kalmayla ilgili vakalar, COVID-19 öncesinde ve sırasında büyük fark ile artış göstermiştir. En büyük zehirlenme yüzdesini çamaşır suyu ürünlerinin (%62,1) oluşturduğunu, ardından alkolsüz dezenfektanların (%36,7) ve el dezenfektanlarının (%36,7) izlediği raporlanmıştır (Chang ve ark., 2020).

Dezenfektanların yukarıda bahsedilen bazı olumsuz taraflarından ötürü kullanıcıları korumak değil tam tersine zararlı etki göstereceği bir gerçektir. Bu durumun önüne geçilmesi ve kullanıcılara uygun bir seçenek sunulması için dezenfektanların doğal bitki özütlerinden yapılması en güzel cevaptır.

2. BÖLÜM

MATERYAL VE METOT

2.1. Materyaller

2.1.1. Bitkisel Materyaller

Çalışma kapsamında kullanılan bitkisel materyaller Kayseri’de bulunan yerel tedarikçilerden taze olarak temin edilmiştir. Tarçın (*Cinnamomum verum*) çubukları, karanfil (*Syzygium aromaticum*) ve defne (*Laurus nobilis*) yaprağı aktardan alındıktan sonra şeffaf poşet içerisinde oda sıcaklığında dolap içerisinde ıstık almayacak şekilde muhafaza edilmiştir. Çalışmanın gerçekleştirileceğı sırada 100 gr. tartılarak alınmış sonra tekrar muhafaza edilmiştir.

2.1.2. Kimyasallar

Çalışmamızda kullanılan kimyasallar maddeler analitik saflıkta olup yerel firmalardan temin edilmiştir. Kullanılan kimyasallar Tablo 3’de kullanıldığı analizler ile beraber sunulmuştur.

Tablo 3. Kullanılan Kimyasalların Markaları ve hangi analizlerde kullanıldığı ile ilgili bilgiler.

Kimyasal	Marka	Hangi Analizlerde Kullanıldı
Etil alkol	Merck-109171	Dezenfeksiyon işlemlerinde
Sodyum Sülfat	Merck-106649	Esansiyel Yağların Kurutulmasında
Nutrient Broth	Millipore-105443	Mikrobiyal Analizlerde, Kültürlerin geliştirilmesinde
Nutrient Agar	Millipore-105450	Mikrobiyal Analizlerde, Kültürlerin geliştirilmesinde
Malt Extract Agar	Merck-146151	Mikrobiyal Analizlerde, Kültürlerin geliştirilmesinde
Plate Count Agar	Merck-146365	Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayımı Analizinde
DRBC (Dichloran-rose bengal chloramphenicol) agar	Millipore-100466	Toplam Maya-Küf Sayımı Analizinde
Maximum Recovery Diluent (MRD)	Merck-146809	Swab Testinde, Model gıda analizinde
2,2-difenil-1-pikrilhidrazil	Sigma-Aldrich-300267	DPPH Analizinde

2.2. Metot ve Analizler

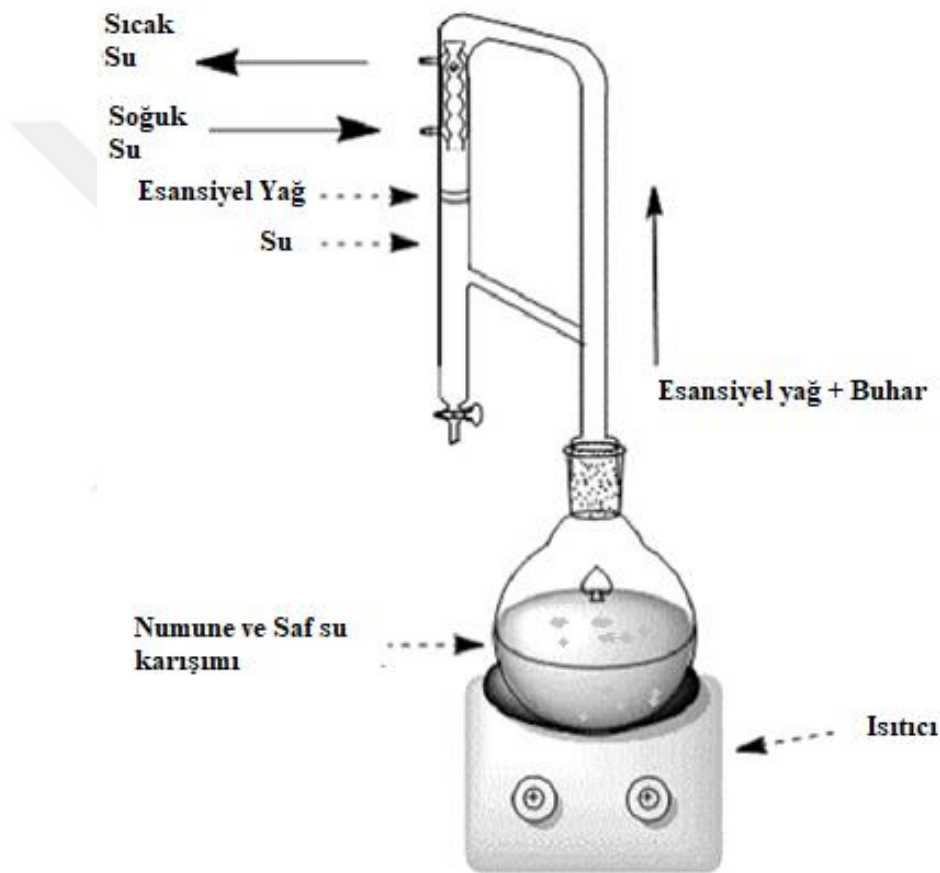
2.2.1. Hidrodistilasyon

Bitkisel materyallerden uçucu yağ elde etmenin başlıca yöntemleri hidrodistilasyon (HD), buhar distilasyonu, buhar ve su distilasyonu, maserasyon yöntemleri bulunmaktadır. Bu yöntemler arasında HD, şifalı bitkilerden uçucu yağları çıkarmak için en yaygın yaklaşım olmuştur. Bununla birlikte, ekstraksiyon süresini azaltmak ve ekstraksiyon verimini iyileştirmek, ekstraktların kalitesini arttırmak ve ayrıca işletme maliyetlerini azaltmak için mikrodalga destekli ekstraksiyon (MAE), basınçlı solvent ekstraksiyonu, süper kritik sıvı ekstraksiyonu gibi yeni yaklaşımlar ve ultrason destekli ekstraksiyon da araştırılmıştır (Christen ve Kaufmann, 2002).

Çalışmamızda kullandığımız su distilasyonu yöntemi düzeneğinde; uçucu yağı alınacak bitki numunesi toz haline getirilmiştir. Böylece içerisinde bulunan uçucu yağ bileşimi serbest kalması kolaylaşmıştır. Toz haline getirilen numune 2L balon jojeye koyulup ve üzerine 1/10 oranında saf su eklenerek balon joje ısıtıcı ile ısıtılmıştır. Şekil 6’da şematize edildiği üzere balon joje ısıtıcı cihaz içine koyulup ısıtılmaya bırakılmıştır.

Kaynama noktasına gelindiğinde buharlaşan su beraberinde uçucu yağ ve suda çözünün maddeler ile birlikte düzeneekten buharlaşmıştır. Düzenek üzerine tutturulan soğutma

bloğunda ise buhar yoğunlaştırılarak tekrar sıvı hale dönüşmüştür. 3 ila 8 saat arasında devam eden kaynamalar sonucunda bitki numunesindeki esansiyel yağlar soğutucu kısmın sonunda toplanmıştır. Esansiyel yağ ile beraber buharlaşan su fazı birbirinden ayrı şekilde toplandığı gözlemlenmiştir. Alttaki musluktan önce buharlaşan su ardından esansiyel yağ alınarak $+4^{\circ}\text{C}$ de muhafaza edilmiştir. Esansiyel yağların foto-oksidasyon reaksiyonlarından korunması için karanlık, ışık görmeyecek bir şekilde muhafaza edilmesine özen gösterilmiştir.



Şekil 6. Hidrodistilasyon düzeneğini anlatan temsili resim (Samadi ve ark., 2017).

2.2.2. Esansiyel Yağın Saflaştırılması

Hidrodistilasyon düzeneğinden elde edilen esansiyel yağlar beraberinde buharlaşan su ile birlikte bulunurlar. Esansiyel yağ fazında az da olsa su bulunabilir. Eser miktardaki bu su çalışmalar için kullanılan esansiyel yağ tam etki göstermemesine, sonuçların suyun etkisinde kalarak değişkenlik göstermesine sebep olabilir. Bu olumsuz durumu önlemek için esansiyel yağ içerisine sodyum sülfat eklenerek içerisindeki su bağlanmış olur ve

esansiyel yağ fazındaki sular ayrıştırılmış olur. Bu işlem İngilizce “Drying Oil” olarak adlandırılmaktadır. Yağ fazında bulunan suyun tuz ile bağlanıp ortamdan uzaklaştırılması işlemidir (Schenck ve ark., 2002). Kullanılan sodyum sülfat tuzu çözelti içerisindeki serbest suyu bağlamak suretiyle tam bir ayrılma gerçekleşmiştir. Daha sonra saf esansiyel yağ ayırma hunisi yardımıyla ayrıştırıp, deneylerimizde kullanmak üzere +4°C de karanlıkta bekletilmiştir.

2.2.3. GC-MS Yöntemi ile Uçucu Yağ Analizi

Elde edilen esansiyel yağların içeriğindeki bileşiklerin kompozisyonunu belirlemek için Thermo Scientific (Thermo Scientific, TSQ 8000 triple quadrupole, San Jose, CA, USA) marka GC-MS cihazı ile test edilmiştir. Bu amaçla, Hitit Üniversitesi Bilimsel Teknik Uygulama ve Uygulama Merkezinden (HÜBTÜAM) hizmet alımı yapılmıştır. Elde edilen ve saflaştırılan esansiyel yağlar 2 mL cam vial tüplere konularak araştırma merkezine teslim edilmiş, analiz sonuçları rapor olarak alınmıştır. Test koşulları ile ilgili bilgi Tablo 4’de verilmiştir. Numunenin analizi sırasında izlenen zamana göre sıcaklık değişimi ise Tablo 5’deki gibidir.

Tablo 4. Uçucu yağ analizi koşulları.

Ürün Malzemesi	Sıvı
Flow Rate	1ml/dk – He (Helyum)
Kolon Özellikleri	TG-5MS Kolon
Enjeksiyon Bloğu Sıcaklığı	250C
Analiz Süresi	55dk.

Tablo 5. Uçucu yağ analizi zamana göre sıcaklık değişim tablosu.

Sıcaklık Programı		
Artış Hızı (C/dk)	Sıcaklık(C)	Bekleme Süresi(dk)
	50	0,00
3,00	120	0,00
5,00	220	0,67
5	250	5,00

2.2.4. DPPH Analizi

Antiradikal aktivite analizi 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikali kullanılarak yapılmıştır (Ozturk ve ark., 2019). DPPH radikal çözeltisi, %80 etanol ve %20 damıtılmış su ile hazırlanmıştır. 30 mL esansiyel yağ numunesi ve 270 mL DPPH solüsyonu karıştırılıp ve 5 dakika kuvvetlice çalkalanmış ve karanlıkta oda sıcaklığında 55 dakika bekletilip ardından mikro okuyucu (Multi-scan FC, Tehrmo Fisher, ABD) ile 520 nm'de absorbans ölçülmüştür. Radikal süpürme aktivitesi, aşağıdaki denklem kullanılarak yüzde inhibisyon olarak ifade edilmiştir:

$$\% \text{İnhibisyon} = \frac{(\text{Kontrol Örneğinin Absorbansı}) - (\text{Ekstraktın Absorbansı}) \times 100}{\text{Kontrol Absorbansı}}$$

2.2.5. Sitotoksisite Analizi

Bitkisel materyallerden elde edilen ve sonrasında çözelti yapımında kullandığımız esansiyel yağların insan hücreleri için sitotoksik etkilerini belirlemek amacı ile ISO 10993-5 standartlarına uygun bir şekilde analiz yapılmıştır. MTT(3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difenil-tetrazolyum bromür) sarı renkli bir formazan tuzdur. Proliferasiyona uğrayan hücreler artan mitokondriyel dehidrojenaz enzim aktivitesi ile MTT'yi mor renkli suda çözünmeyen formazan kristallerine dönüştürür. Oluşan bu kristaller dimetil sülfoksit (DMSO)'da veya izopropil alkolde çözünür. Daha sonra hücre canlılığı spektrofotometrik olarak belirlenir ve uygulama yapılmayan hücrelerin canlılığı %100 kabul edilerek, uygulama yapılan hücrelerin canlılığı bu hücrelere göre yüzde (%) olarak belirlenir (Erkekoğlu ve Baydar, 2021). Bu ölçümler ışığında hücrelerin canlılık değerleri sayısal olarak ifade edilebilir hale gelir (Standardization, 1999).

Bu kapsamda Hitit Üniversitesi Bilimsel Teknik Uygulama ve Araştırma Merkezi bünyesindeki araştırma laboratuvarına gönderilen örneklerimizin sitotoksisite analizleri TS EN ISO 10993-5 standardına uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

2.2.5.1. Deney Ortamı

Hücre Hattı: L929 (Fare subkutansöz bağdokusu) hücre hattı kullanılmıştır.

Kültür ortamı: DMEM+ L-Glutamin, Fetal Bovine Serum, Penisilin-Streptomisin

Kör Kontrol (Blank): Steril hücre kültürü ortamı

Negatif Kontrol: Steril hücre kültür ortamı (Özütleme Ortamı) + Hücre

Pozitif Kontrol: DMSO + Hücre

2.2.5.2. Özütleme Yöntemi

Bu numuneler için herhangi bir özütleme işlemi yapılmamıştır. Numuneler doğrudan uygulama yöntemi ile uygulanmıştır.

2.2.5.3. Analiz Yöntemi

Sonuçların değerlendirilmesi için uygulanan yöntemlerdir. Nitel ve Nicel olmak üzere iki değerlendirme yapılmıştır.

2.2.5.3.1. Nitel Değerlendirme

Hücreler 96 kuyucuklu plakalara ekilerek etkileşimli hale gelmesi beklenmiştir. Daha sonra 37°C de %5 lik CO₂ etüvde 24 saat boyunca negatif, pozitif kontrol ve numune özütlerine maruz bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası hücreler mikroskopik olarak incelenerek görsel olarak değerlendirilmiştir.

2.2.5.3.2. Nicel Değerlendirme

96 kuyucuklu plakalara 10000 hücre/kuyucuk olarak sayılarak ekilen hücreler 24 saat inkübe edilerek %80 etkileşim sağlanmıştır. Daha sonra hücreler, numunelerin 20,10,5 ve 1 µL hacimde 24 saat süresince maruz bırakılmıştır. Süreç sonunda 1mg/ml olarak hazırlanan MTT kuyucuklara eklenerek plakalar 3 saat 37°C, %5 lik CO₂ inkübatörde bekletilmiştir. Deney, kuyucuklara isopropil alkol eklenerek sonlandırılarak plakalarda oluşan renk değişikliği spektrofotometrede (570 nm) ölçülerek canlılık oranı (%) hesaplanmıştır.

Bu sonuca göre sitotoksik etkisi olup olmadığı, varsa hangi yoğunlukta etki gösterdiği tespit edilmiştir.

2.2.6. Model Gıda Denemesi

Elde ettiğimiz karanfil (*Syzygium aromaticum*) ve tarçın (*Cinnamomum verum*) esansiyel yağlarının bir gıda koruyucusu olarak kullanıldığında oluşturabileceği potansiyel koruyucu etkinin tespit edilmesi için belirlenen bir model gıda ortamında farklı konsantrasyonda esansiyel yağların eklenmesiyle olası etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla, ev yapımı, koruyucu içermeyen domates salçası model gıda ortamı olarak seçilmiştir. Salçadan alınan 10 3gr örnekler steril petrilere aktarılıp, ağırlığının %0,25, %0,5, %1 ve %1,5'i oranında esansiyel yağ eklenerek steril bir spatül ile homojenize edilmiştir. Ardından, yirmi beş gün boyunca 25°C de etüvde inkübe edilmiştir. Depolandığı süre boyunca 0., 5., 10., 20., 25. günlerde 1 gr numune alınarak, içerisinde 10 mL Maximum Recovery Diluent (MRD) bulunan cam tüplere aktarılmış ve vorteksenerek homojenize edilmiştir. Toplam mezofil aerobik bakteri (TMAB) ve maya-küf analizi için bu süspansiyon kullanılmıştır.

2.2.6.1 Toplam Mezofil Aerobik Bakteri (TMAB) Sayımı

Bir önceki bölümde bahsedilen Salça-MRD süspansiyonundan, 10^{-1} 'e kadar desimal dilüsyonlar hazırlanmıştır. Her bir dilüsyondan 100 µL dilüent alınarak, içerisinde plate count agar (PCA) bulunan petrilere yüzeyine (yayma plak) yayılmıştır. Daha sonra, 37°C'de 24 saat inkübasyonda bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında klasik mikrobiyolojik sayım yöntemiyle, oluşan koloniler sayılmıştır.

2.2.6.2. Toplam Maya-Küf Sayımı

Her konsantrasyondan alınarak hazırlanan gıda çözeltisi tüplerinden 100µl örnek alınmıştır. Maya-küf sayımı için içerisinde Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC) agar bulunan petrilere yüzeyine homojen bir şekilde yayılmıştır. Petrilere 30°C sabit sıcaklıkta 3-4 gün inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra oluşan koloniler sayılarak kayıt altına alınmıştır.

2.2.7. SWAB Testi

Tarçın (*Cinnamomum verum*), defne (*Laurus nobilis*) ve karanfil (*Syzygium aromaticum*) bitkilerinden alınan numuneler hidrodistilasyon yöntemi uygulanarak esansiyel yağları toplanmıştır. Toplanan esansiyel yağların saflaştırıldıktan sonra antibakteriyel bir karışım hazırlanarak “El Dezenfektanı” kullanımı için uygun olup olmadığı tespit edilmiştir. Bu bağlamda üç numunenin esansiyel yağlarından oluşan bir karışımın etkisinin daha çok olacağı belirlenmiş ve aşağıdaki formülasyon ile karışım hazırlanmıştır.

2 mL Tarçın E.Y + 1 mL Defne E.Y + 1 mL Karanfil E.Y + 4 mL %1 lik Tween 80- saf su çözeltisi + 17 mL saf su

Hazırlanan bu çözeltiden 1ml alınarak eppendorf tüpe koyularak SWAB analizi için bekletilmiştir.

İkinci formülasyonda ise izopropil alkol ile desteklenen el dezenfektanının eldeki bakteriler için inhibe etme derecesine bakılmıştır. Bu bağlamda yukarıdaki çözelti formülasyonu yine aynı şekilde kullanılmış, 1ml eppendorf tüpe eklenen kısım, %25’i izopropil alkol olacak şekilde hazırlanmıştır.

250 µL izopropil alkol + 750 µL El dezenfektanı formülasyonu

SWAB testi 15 panelist ile gerçekleştirilmiştir. Deneklerin son bir saat içinde ellerini yıkamamış olmasına dikkat edilmiştir. Kişilerin ellerinden önce kontrol için sürüntü örneği (parmak araları, uçları, el ayası ve üst kısımlarından) alınmıştır. Daha sonra ise kişilerin ellerine hazırlanan dezenfektan çözeltisi boşaltılarak ovması (parmak araları, uçları, el ayası ve üst kısımları) istenmiştir. 1 dk sonra tekrar sürüntü örneği alınmış ve muhafaza edilmiştir (Şekil 7).

Dezenfektan dökmeden önce ve döktükten sonra alınan örnekler 1 saat oda şartlarında bekletildikten sonra Nutrient Broth üzerine 200 mL dökülerek yayma plak yöntemine göre ekim yapılmıştır. Ekilen petriler 37°C de 24 saat bekletildikten sonra oluşan koloniler sayılarak sonuçlar not edilmiştir.



Şekil 7. Swab testi için, sürüntü çubuğu örneği.

2.2.8. Zeta Potansiyeli ve Parçacık Boyutu Analizi

Çalışma sonucunda esansiyel yağları bünyesinde barındıran antibakteriyel madde karışımı hazırlanmıştır. Üretilcek antibakteriyel karışımın hacmini arttırmak ve kullanım sahasını genişletmek amacıyla farklı formülasyonlar uygulanmıştır. Bu çözeltilerde esansiyel yağın çözündürülmesi ve oluşan çözeltideki durumu oldukça önemlidir. Çünkü yağlar yapıları gereği uygun ortamlar oluşturulduğunda faz ayrımı olmaksızın çözünürler, aksi halde faz ayrımına uğrayarak çözeltinin üst kısmında toplanırlar.

Bu bakımdan çalışmamızda bitkisel materyallerden elde edilen esansiyel yağlar Tween-80 emülgatörü kullanılarak saf su içerisinde homojen bir şekilde çözündürülmüştür. 1 mL esansiyel yağ ve 200 μ L Tween 80, bir beher içerisinde eklenmiş ve 25 mL olacak şekilde saf su ile tamamlanmıştır. Ardından çözelti 3 dakika boyunca Ultra-Turrax (Heidolph DiAx900 ultra turrax) cihazı ile 9000 rpm de karıştırılmıştır. Sonuç olarak homojen görünümde, yağ fazı ayrılmayan bir çözelti elde edilmiştir.

Elde edilen homojen çözeltinin partikül boyutu ve stabilitesi uzun süreli kullanımlar için çok önemlidir. Bu bakımdan hazırlanan antibakteriyel çözeltinin, ilk üretim ve sonrasındaki 2 aylık depolama sürecinde 15 günde bir zeta potansiyelindeki ve partikül boyutundaki değişimler, ERNAM (Erciyes Üniversitesi, Nanoteknoloji Araştırma

Merkezi) bünyesinde bulunan Malvern ZS90 (Malvern Panalytical, UK) Zetasizer ve DLS cihazı kullanılarak tespit edilmiştir.

2.2.9. Antimikrobiyal Testler

2.2.9.1. Koloni Miktarının Belirlenmesi

Erciyes Üniversitesi Gıda Mühendisliği kültür koleksiyonunda mevcut bulunan ve -80°C de muhafaza edilen mikroorganizma kültürleri kullanıştır. Çalışma kapsamında kullanılan bakteri suşları Tablo 6’da sunulmuştur.

Tablo 6. Tez çalışması kapsamında kullanılan bakteri suşları, maya ve küf mikroorganizmaları.

Mikroorganizma İsmi	ATCC numarası	Hücre Duvarı
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	ATCC 43897	Gram –
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 11230	Gram –
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	Gram +
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 33019	Gram +
<i>Salmonella enterica</i> sv. <i>Typhimurium</i>	ATCC 14028	Gram –
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 29906	Gram –
<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 13319	Gram –
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC 7644	Gram +
<i>Yersinia enterocolitica</i>	ATCC 9610	Gram –
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 13883	Gram –
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	
<i>Aspergillus flavus</i>	ATCC 9643	
<i>Aspergillus parasiticus</i>	NRRL 3386	

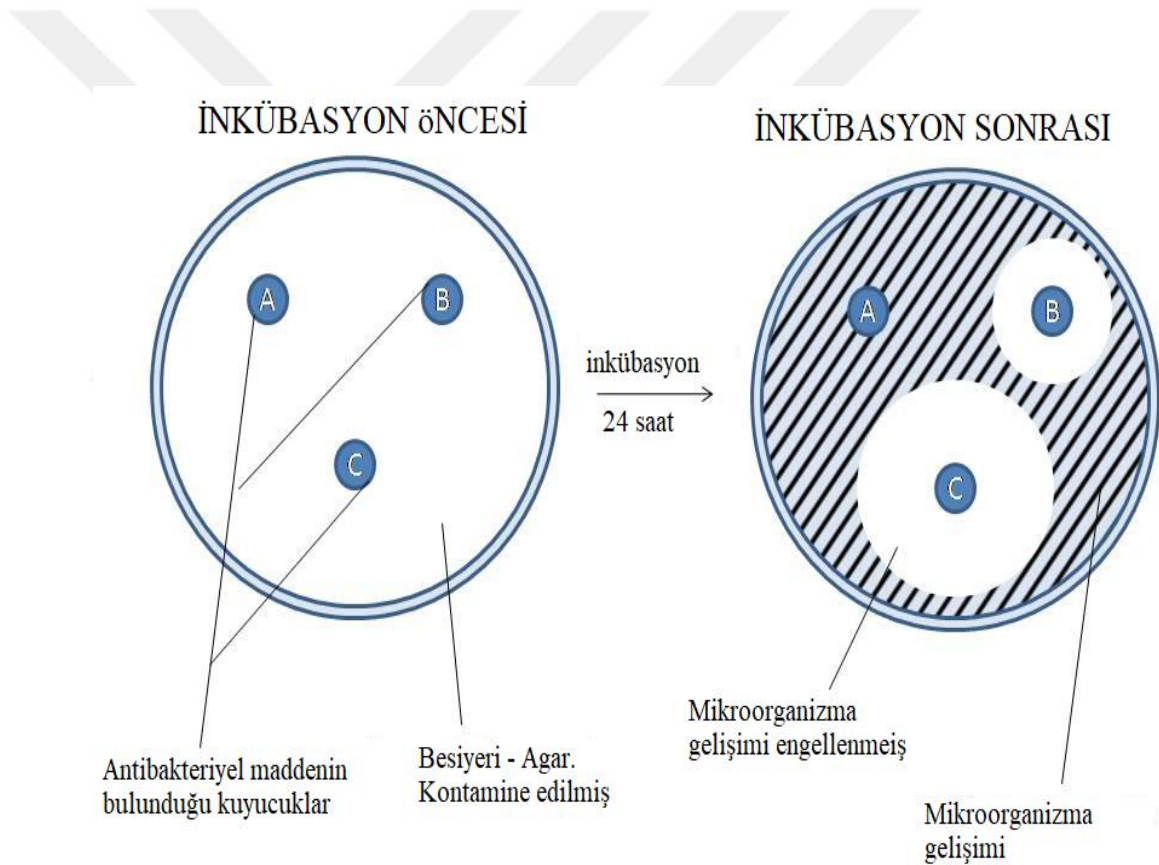
Mikroorganizmaları, koloni oluşturan birim (kob) olarak tespit etmek amacıyla sayımlar yapılmıştır. Mikroorganizma sayısı, inkübe edilmiş besiyeri yüzeyinde gelişen koloni sayısının ilgili dölüsyon faktörü ile çarpılmasıyla elde edilmiştir. Örneğin 10^{-4} dölüsyon kademesinde 38 koloni sayılmış ise $38 \times 10^4 = 3.8 \times 10^5$ koloni oluşturan birim (kob)/gr veya mL olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmalarda kullandığımız küf mikroorganizmaları Tablo 5’de gösterilmiştir. Küfler için “Thoma Lamı ile Sayım” yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde Thoma lamı üzerinde 0.1 mm^3 alan üzerine damlatılan küf çözeltisi mikroskop altında incelenerek 16 büyük kare içindeki küf sayısı belirlenmiştir. Thoma lamında sayım sonucu $A \times SF \times 10.000$ formülü ile hesaplanmıştır. Burada $A = 16$ büyük karede sayılan küf sporu adedi, SF ise

seyreltme faktörüdür. 10.000 ise 0,1 mm³' deki sayım sonucunu 1 mL'deki sayıya dönüştürmek ve standart sonuç elde etmek için kullanılan bir sabit değerdir.

2.2.9.2. Antibakteriyel Etkinlik Testi (Antibiyogram)

Antibakteriyel etkinin tespit edilmesi için tez çalışmasında kullanılan yöntem agar kuyu difüzyon metodudur. Test edilecek olan maddeden alınan örnekten, petri üzerindeki kuyucuk içine aktararak, test mikroorganizması için uygun koşullarda inkübasyondan sonra, inhibisyon zonu (mm) ölçümüne (Şekil 8) dayanmaktadır (Singh Kumar ve Singh, 2011).



Şekil 8. Agar Kuyu Difüzyon yönteminin şematik olarak gösterimi (Singh Kumar ve Singh, 2011).

Antibakteriyel maddesinin etkinliği test edilecek olan mikroorganizma kültürü log fazına getirilmelidir. Bu amaçla, stok kültürden canlandırılması yapılan mikroorganizma numunesi petri üzerine çizilerek ekimi yapılmıştır. 24 saat inkübatörde gelişimini tamamladıktan sonra öze yardımıyla daha önceden hazırlanan tüp içerisinde 5 mL

bulunan steril Maximum Recovery Diluent Broth (MRD) çözeltisine inükle edilmiştir. Mc Farland cihazı ile MRD çözeltisinin bakteri yükü 0.5 birime ayarlanmıştır. 0.5 MF bakteri bulunan MRD çözeltileri petrilere dökülerek Nütrient agar çözeltilerine hacminin %1 kadar inükle edilmiştir. Petrilere dökülen kontamine edilmiş agar çözeltisi jelleşmeye 10-20dk bırakılarak tam jelleşme sağlanmıştır. Jelleştikten sonra petri yüzeyinde birbirinden yeterince uzakta kuyucuklar açılmıştır. Delme seti kullanılarak açılan bu kuyucuklar daha sonra içinden taşmayacak kadar antibakteriyel sıvısı ile doldurulmuş ve inkübasyona bırakılmıştır. Şekil 8’de gösterildiği üzere, inkübasyon sonunda mikrobiyal gelişimin engellediği inhibisyon zonlarının çapı dijital kumpas ile ölçülmüştür.

2.2.9.3. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonlarının (MİK) belirlenmesi

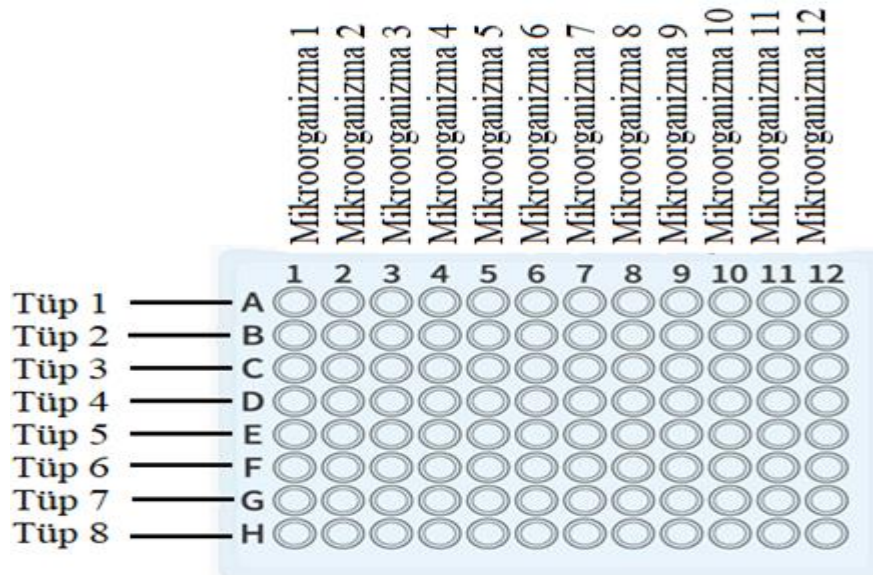
Bu yöntem antibiyotiklerin ve/veya antibakteriyel maddelerin sıvı besiyerinde bir seri dilüsyonlar halinde seyreltilmesi ve daha sonra her bir dilüsyona, duyarlılığı belirlenecek bakterinin belirli sayıda hücre içeren süspansiyonundan eşit miktarda ilave edilmesi işlemidir. Değişen antibakteriyel konsantrasyonu eşit yoğunluktaki mikroorganizma miktarına vereceği cevaba göre minimum inhibisyon konsantrasyonu tespit edilir. Bu değerlendirmede bakterinin üremesini durduran en az antibiyotik/antibakteriyel miktarı belirlenir ki bu miktar, o mikroorganizma için deney koşullarındaki “Minimum İnhibitör Konsantrasyonu” (MİK) olarak ifade edilir (Aydemir ve ark., 2016).

Wiegand ve ark. (2008) hazırlamış olduğu “Agar ve Broth dölüsyon metodları ile antimikrobiyal maddelerin MİK değerinin belirlenmesi” çalışması esas alınarak (Wiegand ve ark., 2008) ve bazı modifikasyonlar yapılarak defne (*Laurus nobilis*), karanfil (*Syzygium aromaticum*) ve tarçın (*Cinnamomum verum*) esansiyel yağlarının MİK değerleri belirlenmiştir. Cam tüpler içerisinde aşağıdaki oranlarda çözeltiler hazırlanarak log fazındaki ve mikrobiyal yükü bilinen mikroorganizmalardan 0.5 MacFarland mikroorganizma çözeltisi ile MİK değeri belirlenmeye çalışılmıştır.

Tablo 7. MİK analizi için hazırlanan deney tüpleri ve içeriği.

Tüp	İçerik
Tüp 1	25µL esansiyel yağ + 5µL %1 lik T80-Saf su Çözeltisi + 970µL Nutrient Broth
Tüp 2	20µL esansiyel yağ + 4µL %1 lik T80-Saf su Çözeltisi + 976µL Nutrient Broth
Tüp 3	15µL esansiyel yağ + 3µL %1 lik T80-Saf su Çözeltisi + 982µL Nutrient Broth
Tüp 4	10µL esansiyel yağ + 2µL %1 lik T80-Saf su Çözeltisi + 988µL Nutrient Broth
Tüp 5	5µL esansiyel yağ + 1µL %1 lik T80-Saf su Çözeltisi + 994µL Nutrient Broth
Tüp 6	2µL esansiyel yağ + 1µL %1 lik T80-Saf su Çözeltisi + 997µL Nutrient Broth
Tüp 7	1mL Nutrient Broth çözeltisi (Büyüme kontrolü için), pozitif kontrol
Tüp 8	1mL Nutrient Broth çözeltisi (Sterilite kontrolü için), negatif kontrol

Tablo 7’de gösterildiği gibi hazırlanan çözeltilerden 100 µL, 0.5 McF birimde Maximum Recovery Diluent (MRD) Broth içinde bulunan Mikroorganizma sıvısından 100 µL olarak 96’lık mikropate içine koyulmuştur. Mikropate üzerinde harflerin bulunduğu satırlar tüpleri, sayıların bulunduğu satırlar ise mikroorganizmaları ifade etmektedir. Örneğin; Şekil 8’de görüldüğü üzere, A satırındaki tüm kuyucuklara 100 µL 1. tüp örneği boşaltılmış, 1 numaralı sütundaki tüm kuyucuklara 100 µL *Bacillus cereus* mikroorganizması inükle edilmiştir. Diğer tüplerin mikropate üzerindeki yerleşim düzeni ise Şekil 9’da gösterilmiştir.

**Şekil 9.** MİK analizi için 96’lık mikropate yerleşim düzeni

Çözelti ve mikroorganizmaları koyulduktan hemen sonra 620 nm dalga boyunda okunmuştur. 24 Saat 37°C etüvde inkübe edildikten sonra tekrar 620 nm dalga boyunda absorbans okuması yapılmış ve sonuçlara göre değişimin anormal olduğu kuyucuklar da mikroorganizma gelişimi varsayılmıştır. Değişimin başladığı kuyucuklardan önceki kuyucuk konsantrasyonu MİK değeri olarak kabul edilmiştir. Denk gelen tüpteki esansiyel yağ miktarı ise en düşük konsantrasyon kabul edilmiştir.

2.2.10. İstatiksel Analizler

Çalışma kapsamında kullandığımız mikroorganizmalara ait antimikrobiyal etkinlik testleri, model gıda uygulaması için hazırladığımız “Ev Yapımı Salça” gıda numunesinin 0., 5., 10., 15. ve 25. güne ait toplam bakteri ve maya-küf analizleri log kob/gr olarak belirlenmiştir. Ayrıca, antimikrobiyal etkinlik testi için numunelerin 24 saat inkübasyon sonucunda oluşturduğu inhibisyon zonu mm olarak belirlenmiştir. Dağılımı normal olan dataalar arasındaki farkları test etmek için tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) yapılmıştır. Homojen olan verilerin çoklu karşılaştırmaları için Tukey’s-HSD (Honestly Significant Difference) testi yapılmıştır. Tüm veriler SPSS paket programı (SPSS 26.0) kullanılarak %95 güven aralığında ($p<0,05$) analiz edilmiştir.

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. GC-MS Uçucu Yağ Analizi Sonuçları

3.1.1. Defne Esansiyel Yağı GC-MS Analiz Sonuçları

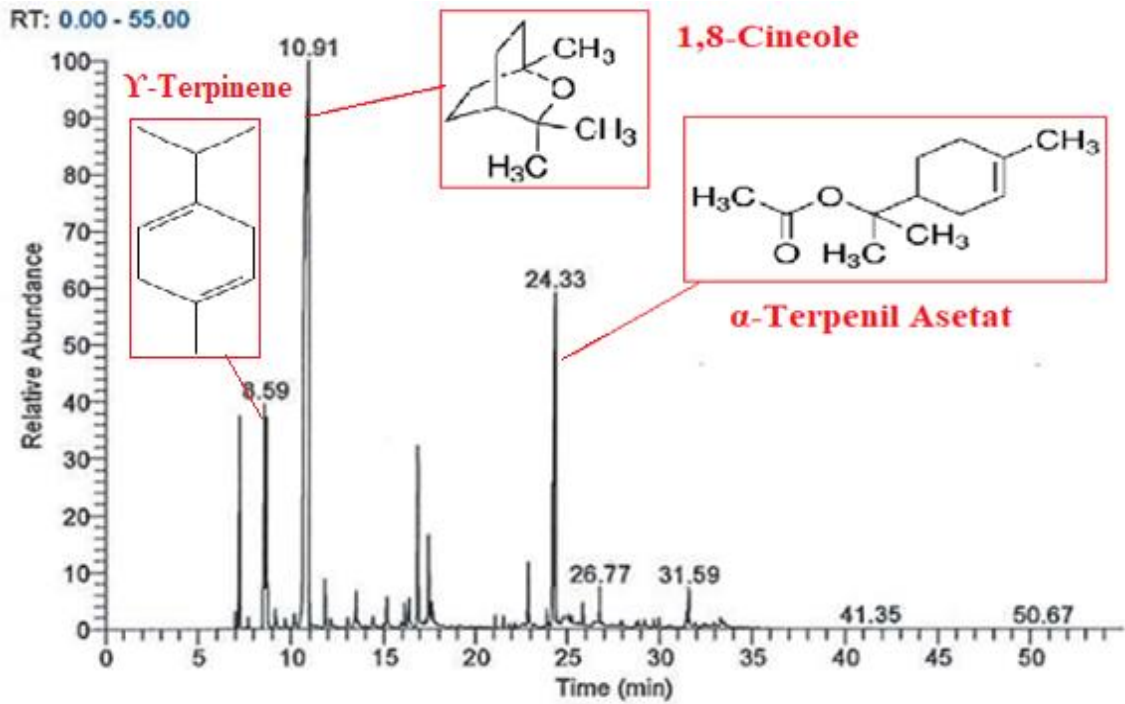
Defne (*Laurus nobilis*) bitkisinin yapraklarından Hidrodistilasyon ile elde edilen esansiyel yağına ait uçucu bileşiklerin bulunma oranları (%) Tablo 8’de sunulmuştur.

Tablo 8. Defne (*Laurus nobilis*) esansiyel yağının % bileşen tablosu.

RT	Bileşen İsmi	% Alan
7.24	Δ 3-carene	5,22
7.71	Camphane	0,29
8.58	γ -Terpinene	11,36
8.7	β -Pinene	2,72
9.17	β -Myrcene	0,63
9.68	I-Phellandrene	0,31
10.17	α -Humulene	0,50
10.91	1,8-Cineole	48,50
11.82	γ -Terpinen	1,03
12.14	Trans Sabinene hydrate	0,29
13.04	α -TERPINOLENE	0,30
13.52	Linalool	1,81
16.14	Pinocarvone	0,82
16.89	4_Terpineol	5,00
17.45	α -TERPINEOL	3,30
21.52	Bornly acetate	0,25
22.88	Ocimenly Acetate	1,66
24.33	α -Terpinenly Acetate	14,88
25,83	B-elemene	0,47
26.77	Trans-Caryophyllene	0,90

*RT: Retention time (Dakikada alıkonma zamanı)

Defne (*Laurus nobilis*) esansiyel yağının GC-MS histogramı ise Şekil 10'daki gibidir. Histogramda en yüksek pik %48,50 ile analizin 10.91 dakikasında 1,8-Cineole tarafından oluşturulmuştur. İkinci en çok bulunan bileşiğin ise, %14,88 ile α -Terpenenly acetate bileşiği olduğu gözlemlenmiştir. Majör bileşiklerden üçüncüsü olan γ -Terpinene bileşiğinin %11,36 oranında defne uçucu yağında bulunduğu tespit edilmiştir.



Şekil 10. Defne (*Laurus nobilis*) esansiyel yağı GC-MS Histogram grafiği.

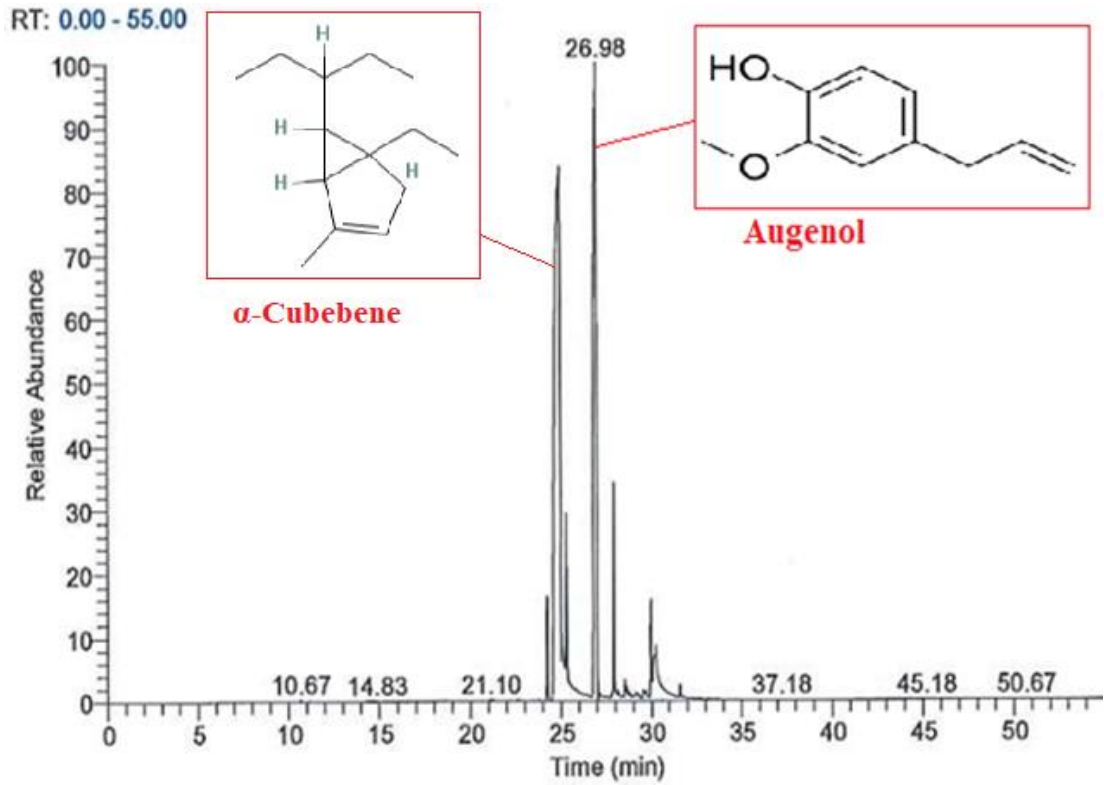
3.1.2. Karanfil Esansiyel Yağı GC-MS Analiz Sonuçları

Karanfil (*Syzygium aromaticum*) esansiyel yağ numunesi GC-MS test sonuçlarına göre % bileşen dağılımı Tablo 9'da sunulmuştur. Karanfil esansiyel yağının GC-MS histogram grafiği Şekil 11'deki gibidir. Karanfil esansiyel yağ numunesinde bulunan bileşiklerin alıkonma zamanlarına ait histogram grafiği incelendiğinde, birincil majör volatil bileşiğin, %49,59 oranında bulunan Augenol bileşiğinin olduğu 24.89 dk da oluşturduğu pikten anlaşılmaktadır. İkincil majör bileşiğin ise, %35,54 oranda bulunan ve 26.98 dk da çıkan Caryophyllene bileşiğinin olduğu anlaşılmaktadır.

Tablo 9. Karanfil (*Syzygium aromaticum*) esansiyel yağı % bileşen tablosu.

RT	Bileşen İsmi	% Alan
8.65	2-B-PINENE	0,01
10.67	1,8-Cineole	0,04
11.16	2-Heptanol, acetate	0,02
13.55	Linalool	0,02
18.40	Methyl salicylate	0,10
21.10	Chavicol	0,11
22.60	Carvacrol	0,05
23.23	α -Cubebene	1,92
24.89	Augenol	49,59
25.30	α -Copaene	2,98
26.98	Caryophyllene	35,54
27.92	α -Humulene(CAS)	4,06
28.52	Cadinene	0,61
29.97	γ -Cadinene	1,61
30.19	Aceteugenol	3,11
31.58	(-)-Caryophyllene oxide	0,22
32.76	Cubenol	0,02

*RT: Retention time (Dakikada alıkonma zamanı)

**Şekil 11.** Karanfil (*Syzygium aromaticum*) esansiyel yağına ait GC-MS Histogram grafiği.

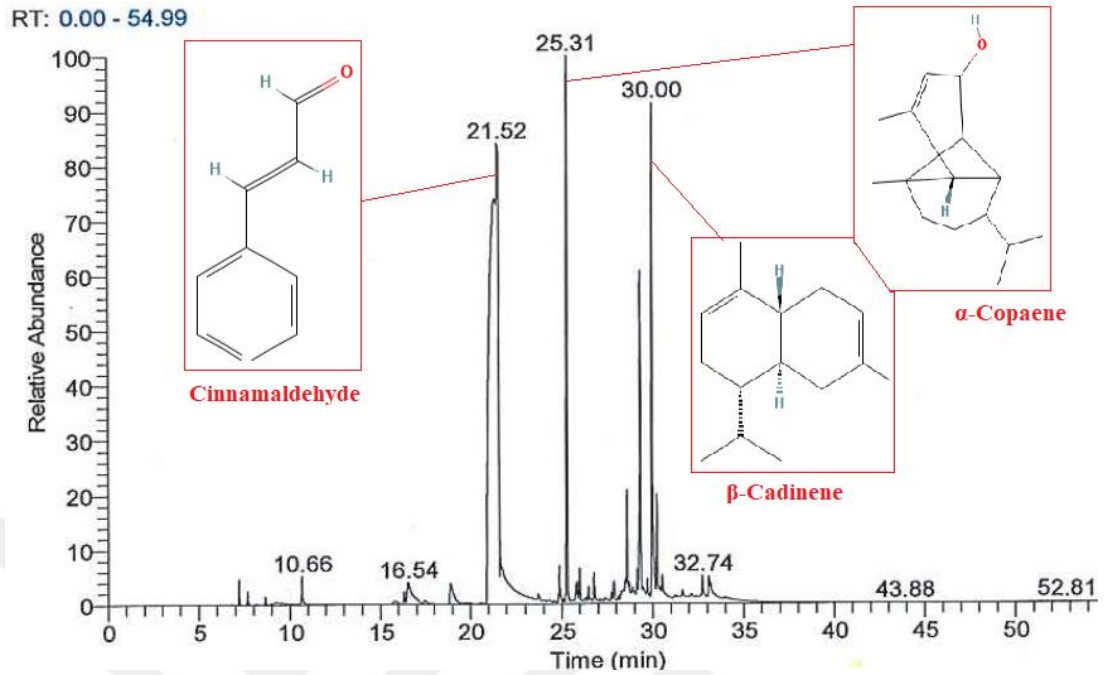
3.1.3 Tarçın Esansiyel Yağı GC-MS Analiz Sonuçları

Tarçın (*Cinnamomum verum*) esansiyel yağ numunesine ait % bileşen tablosu Tablo 10'da sunulmuştur. Tarçın esansiyel yağının karakteristik yapısının oluşturan ve içinde en yüksek oranda bulunan Cinnamaldehyde bileşiğidir. Tarçın esansiyel yağı numunesine ait GC-MS alıkonma-zaman histogram grafiği Şekil 12'de gösterilmiştir. Cinnamaldehyde bileşiğine ait pik 21.52 dakikada ki alıkonma zamanında histogramda görülmektedir. Cinnamaldehyde dışında, tarçın uçucu yağının diğer majör bileşenleri olan α -Copaene ve β -Cadinene bileşiklerine, aynı histogramdaki 25.31 ve 30. dakikalarda kromatogram da görülmektedir.

Tablo 10. Tarçın (*Cinnamomum verum*) esansiyel yağı % bileşen tablosu.

RT	Bileşen İsmi	% Alan
7.21	α -PINEN	0,38
7.68	Camphene	0,21
8.65	2-B-PINEN	0,11
9.25	Benzaldehyde	0,25
10.66	1,8-Cineole	0,52
15.82	2-Methylbenzofuran	0,24
16.31	Borneol	0,20
16.55	Hydrocinnamic aldehyde	1,71
21.52	Cinnamaldehyde	65,34
25.31	α -Copaene	11,55
25.97	SATIVEN, (+)-	1,13
26.47	Isosativene	0,32
26.78	Caryophyllene	0,51
27.10	GERMACRENE-D	0,03
27.41	Aromadendrene	0,10
27,87	α -Humulene	0,49
29.32	α -Muurolene	6,82
30.00	β -Cadinene	10,07

*RT: Retention time (Dakikada alıkonma zamanı)



Şekil 12. Tarçın(*Cinnamomum verum*) esansiyel yağı GC-MS Histogram grafiği.

3.2. DPPH Analiz Sonuçları

Metot kısmında açıklanan yöntem ile yapılan analiz sonucunda elde ettiğimiz absorbands değerleri Tablo 11’de verilmiştir. Absorbans ortalama değerlerine göre defne (*Laurus nobilis*), karanfil (*Syzygium aromaticum*) ve tarçın (*Cinnamomum verum*) esansiyel yağlarının DPPH değerleri aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır:

$$\% \text{İnhibasyon Defne (Laurus nobilis) esansiyel yağı} = \frac{(1,51297) - (0,15835) * 100}{1,51297} = \%89,53$$

$$\% \text{İnhibasyon Karanfil (S. aromaticum) esansiyel yağı} = \frac{(1,51297) - (0,12636) * 100}{1,51297} = \%91,64$$

$$\% \text{İnhibasyon Tarçın (Cinnamomum verum)} = \frac{(1,51297) - (0,09795) * 100}{1,51297} = \%93,52$$

Tablo 11. DPPH Analizi için 620nm Dalga boyunda okunan absorbands değerleri.

Numune	Ölçüm		
	1	2	Ortalama
Defne	0,15750	0,15920	0,15835
Karanfil	0,12590	0,12682	0,12636
Tarçın	0,09730	0,09860	0,09795
Kontrol	1,51250	1,51345	1,51297

3.3. Sitotoksosite Analiz Sonuçları

Defne, karanfil, tarçın esansiyel yağlarının insan vücudu ve cildi için canlılık değerleri üzerindeki etkisini görmek için yapılan analiz sonuçları Tablo 12’de verilmiştir.

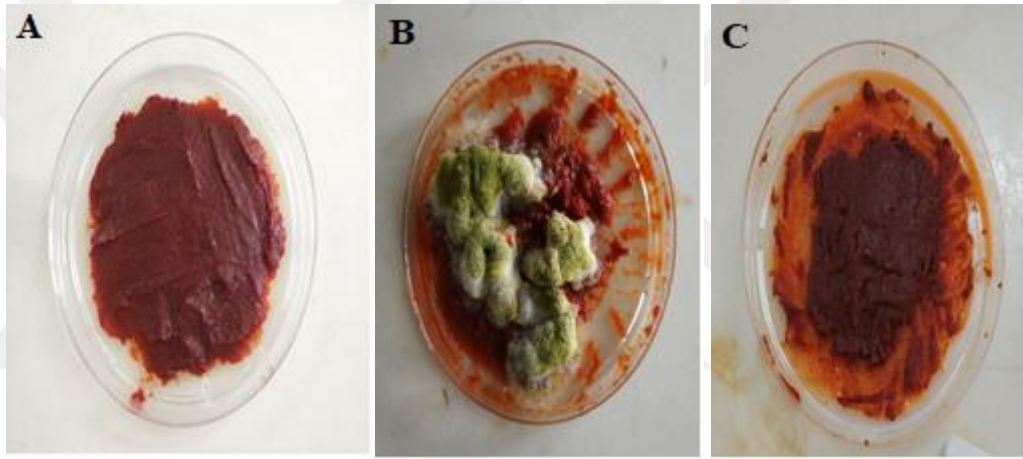
Tablo 12. MTT testine göre sitotoksosite sonuçları.

Numune	Dilüsyon oranı	% Canlılık
Kontrol	0 µL	100
	20 µL	Absorbans yok
Defne (<i>Laurus nobilis</i>) Esansiyel Yağı	10 µL	Absorbans yok
	5 µL	Absorbans yok
	1 µL	Absorbans yok
	20 µL	167,07
Karanfil (<i>Syzygium aromaticum</i>) Esansiyel Yağı	10 µL	175,49
	5 µL	184,56
	1 µL	184,79
	20 µL	133,001
Tarçın (<i>Cinnamomum verum</i>) Esansiyel Yağı	10 µL	107,43
	5 µL	104,76
	1 µL	87,90

Esansiyel yağ numunelerinden belirli dilüsyonlarda alınan örnekler canlı hücre çözeltisi üzerine damlatılıp absorbans değeri okunarak sonuçlar elde edilmiştir. Standartta belirtilen test kabul kriterlerine göre karanfil (*Syzygium aromaticum*) ve tarçın (*Cinnamomum verum*) esansiyel yağ örnekleri için sağlanmış olduğundan sonuçlar geçerli olarak kabul edilmiştir. Nicel değerlendirme metodu olarak "TS EN ISO 10993-5/ Ekim-2010- EK-C MTT Sitotoksosite Deneyi" kullanılmış olup elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir ve test geçerlilik kriterlerinin sağlandığı anlaşılmıştır. Kullanılan standara göre bu değer %70 değerinden az olması sitotoksite göstergesi olduğundan karanfil (*Syzygium aromaticum*) ve tarçın (*Cinnamomum verum*) esansiyel yağ numunelerinin hücreler üzerinde sitotoksik etkisi olmadığı tam tersine hücreler üzerinde arttırıcı bir etki gösterdiği görülmektedir (Standardization, 1999).

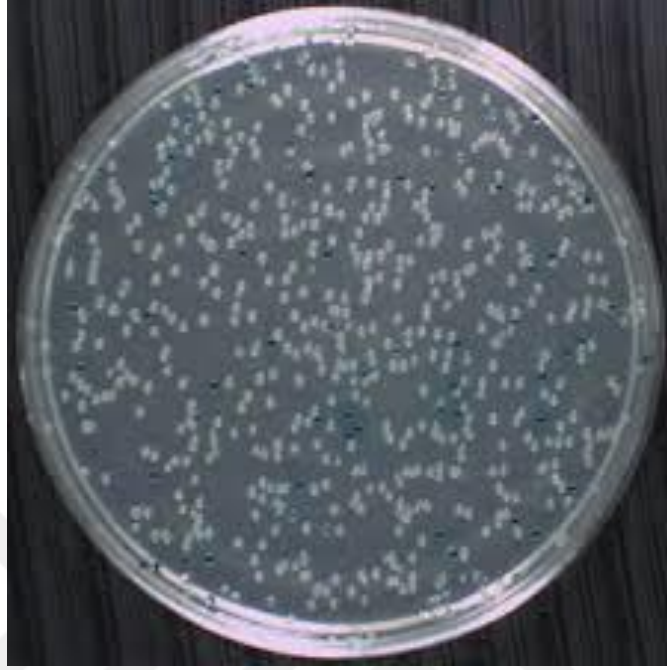
3.4. Model Gıda Analiz Bulguları

Şekil 13’de model gıda numunesi olarak uçucu yağ etkinlik testinin yapıldığı, ev yapımı salça numunesine ait 0. ve 25. günlerdeki görüntüleri sunulmuştur. Şekil 13A’da 0. gündeki kontrol numunesinin görüntüsü görülmekte olup, bu numunenin içerisine herhangi bir esansiyel yağ ilave edilmemiştir. Şekil 13B’de aynı kontrol numunesinin 25 gün sonraki hali gösterilmiştir. Şekil 13C’de ise 25 gün sonunda %1,5 tarçın (*Cinnamomum verum*) esansiyel yağı içeren numunenin görüntüsü sunulmuştur.



Şekil 13. (A) Kontrol olarak seçilen salça numunesin 0. gündeki görüntüsü, (B) 25. günde küflenmiş kontrol numunesinin görüntüsü, (C) 25. günde uçucu yağ ilavesi yapılmış olan ev yapımı salça numunesi.

Karanfil (*Syzygium aromaticum*) ve tarçın (*Cinnamomum verum*) esansiyel yağları kullanılarak, başka herhangi bir ekstra koruyucu içermeyen ev yapımı salça ile birlikte farklı konsantrasyonlar da hazırlanarak yaptığımız çalışmada depolama süresince yapılan antimikrobiyal etkinlik testlerine ait sayım sonuçları Tablo 13’de verilmiştir. Tablo 13’deki sonuçlar incelendiğinde de %1 ve %1,5 oranlarında esansiyel yağ içeren numunelerde, 25 günlük depolama sonucunda bakteri ve küf yüklerinde kabul edilebilir bir artış anlaşılmıştır. Salça kontrol numunesine ait 20 gün toplam bakteri analizine ait PCA besiyeri ortamı görüntüsü Şekil 14’de verilmiştir. Şekil 15’de ise 10. gün sonunda salça kontrol numunesinden alınan örneğin maya-küf analizine ait DRBC besiyeri ortamı görüntüsü verilmiştir. Tablo 13’de model gıda denemesine ait 0., 5., 10., 20., 25. günde yapılan toplam bakteri ve maya-küf analiz sonuçlarına ait koloni sayıları verilmiştir.



Şekil 14. Salça kontrol numunesi 20. gün, toplam bakteri sayımı petrisindeki kolonilerin görünümü.



Şekil 15. 10. gün kontrol numunesi, maya-küf petrisindeki kolonilerin görünümü.

Tablo 13. Model gıda denemesi günlere göre sayım sonuçları (kob/mL).

Günler	Dilüsyon	Karanfil esansiyel yağı				Tarçın esansiyel yağı				Kontrol			
		TB1	TB2	MK1	MK2	TB1	TB2	MK	MK2	TB1	TB2	MK	MK2
0. Gün	%0,25	1	1	2	1	2	1	2	2				
	%0,5	1	1	1	1	0	1	0	1				
	%1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2	3	5
	%1,5	0	0	0	0	0	0	0	0				
5. Gün	%0,25	7	5	9	7	6	5	8	6				
	%0,5	2	3	5	5	3	2	6	6				
	%1	1	2	1	1	1	0	1	1	18	15	18	22
	%1,5	0	1	1	1	0	0	1	1				
10. Gün	%0,25	53	58	62	68	48	53	54	62				
	%0,5	18	11	13	10	11	18	14	19				
	%1	6	9	7	6	5	4	11	14	84	91	88	97
	%1,5	0	1	1	1	1	0	1	1				
20. Gün	%0,25	104	109	123	128	97	96	108	121				
	%0,5	51	49	55	57	52	50	61	52				
	%1	17	14	17	11	15	18	11	15	165	178	210	211
	%1,5	8	6	10	10	8	9	10	7				
25. Gün	%0,25	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.				
	%0,5	220	217	T.E.	T.E.	204	196	289	297				
	%1	21	22	22	24	26	20	25	28	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.
	%1,5	11	13	16	17	10	15	17	18				

TB1: Toplam Bakteri Sayımı 1. Ölçüm, TB2: Toplam Bakteri Sayımı 2. Ölçüm
MK1: Maya-Küf Sayımı 1. Ölçüm, MK2: Maya-Küf Sayımı 2. Ölçüm
T.E.: Koloni Sayısı>300 olan petriler

Tablo 13’de 25. günün sonunda kontrol numunesinde hem toplam bakteri hem de maya-küf sayısı 300 kob/mL üzerine çıktığı görülmektedir. Buna karşın %1 ve %1,5 dilüsyonlarda esansiyel yağ katılan numunelerde bakteri, maya ve küf gelişiminin kontrol numunesine kıyasla sınırlandığı görülmektedir.

3.5. SWAB Testi Sonuçları

SWAB testine katılan panelistlerin ellerine iki farklı dezenfektan sıvı çözeltisi dökülerek panelistlerin ellerinden sürüntü örnekleri alınmıştır. Bu çözeltilerin en büyük farkı izopropil alkol (%25) veya izopropil alkol kullanmadan hazırlanmış olmasıdır. Teste

katılan panelistlerin, izopropil alkol olmadan sadece esansiyel yağlar ve tween-80 emülgatörü kullanarak hazırladığımız çözelti ile ellerindeki mikropların yaklaşık %85'nin gelişiminin engellendiği görülmüştür. Tablo 14' de alkolsüz el dezenfektanı ile yapılan SWAB testi analizi sonucunda oluşan koloni sayıları verilmiştir. Öte yandan %25 izopropil alkol ilaveli dezenfektan çözeltisi ile yaptığımız çalışmada ise panelistlerin ellerindeki mikropların %98'nin gelişimini engellendiği tespit edilmiştir (Tablo 15).

Tablo 14. SWAB Testi alkolsüz dezenfektan testi sayım sonuçları (kob/mL).

	Örnek Miktarı	Sayım Sonucu (kob/mL)*
Dezenfektan Öncesi	15	175,60 ± 86,742
Dezenfektan Sonrası	15	31,53 ± 17,291
*: p>0.05 anlamlılık düzeyinde, 2 paralel 1 tekrar, ortalama ± standart sapma		

Tablo 15. Swab Testi, %25 izopropil alkol ilaveli dezenfektan ile yapılan çalışma sonuçları (kob/mL).

	Örnek Miktarı	Sayım Sonucu (kob/mL)*
İzopropil içeren Dezenfektan Öncesi	15	147,87 ± 41,253
İzopropil içeren Dezenfektan Sonrası	15	2,87 ± 1,995
*: p>0.05 anlamlılık düzeyinde, 2 paralel 1 tekrar, ortalama ± standart sapma		

3.5.1. İzopropil Alkol İçermeyen Dezenfektan ile Yapılan Çalışma Sonuçları

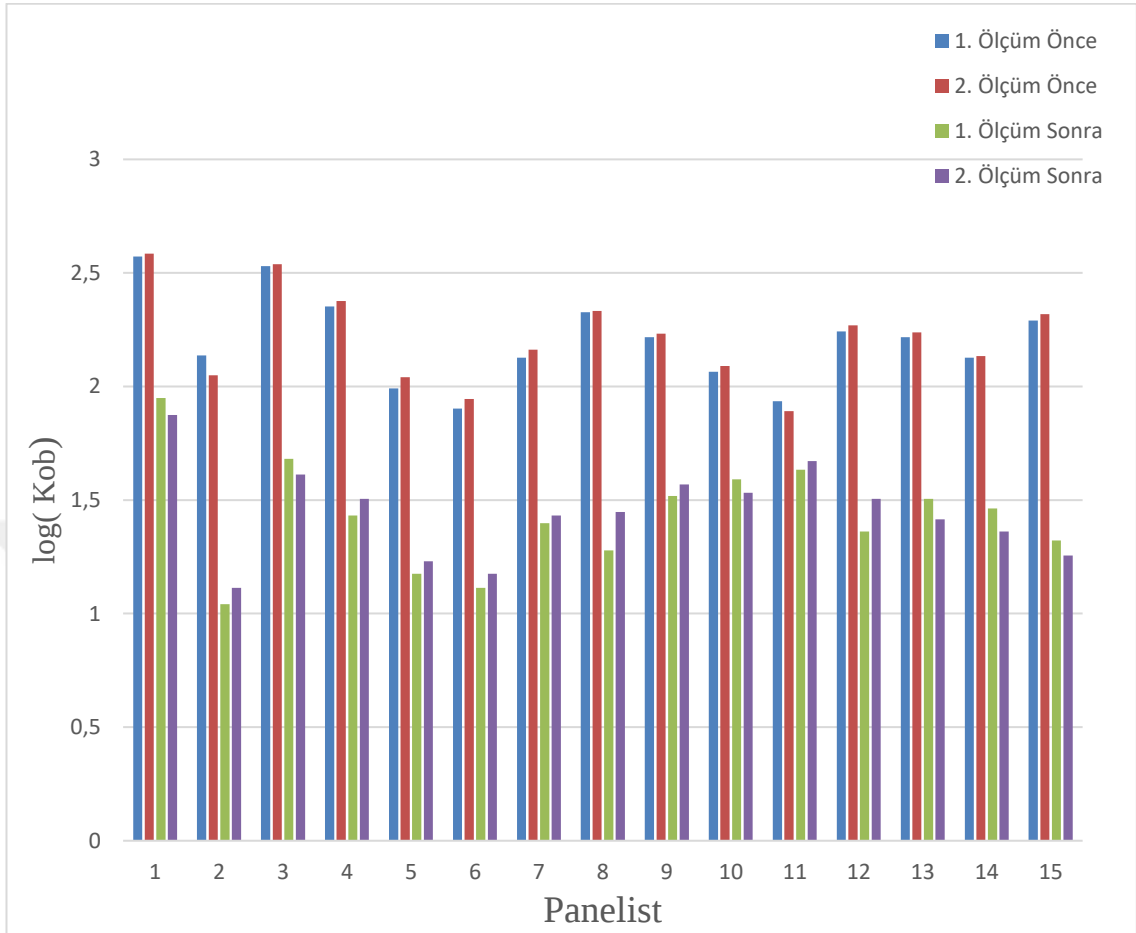
SWAB analizine başlamadan önce teste katılan panelistlerden aldığımız sürüntü örneklerinin mikrobiyal ekim sonuçları Tablo 16'da verilmiştir. Sonuçların logaritmik değerleri görsel olarak Şekil 16'da verilmiştir. Panelistlerin, ellerine 1ml dezenfektan çözeltisini dökdükten yaklaşık 1dk sonra aldığımız sürüntü numuneleri petrilere ekilmiştir. 24 saat inkübasyon sonucunda elde ettiğimiz sonuçlar Tablo 17'de sunulmuştur. Bu sonuçlara göre, bulunan rakamların günlük normal hayatta bir insanın elinde bulunan toplam bakteri miktarı olduğu kabul edilebilir.

Tablo 16. Dezenfektan dökmeden önce alınan örneklerin sayım sonuçları (kob/mL).

Panelist	1. Ölçüm	2. Ölçüm
1	373 ^a	385 ^c
2	137	112
3	339	345
4	225	238
5	98	110
6	80 ^b	88
7	134	145
8	212	215
9	165	171
10	116	123
11	86	78 ^d
12	175	186
13	165	173
14	134	136
15	195	208
a. 1. ölçüm den en yüksek değer	c. 2. ölçümden en yüksek değer	
b. 1. ölçümde en düşük değer	d. 2. ölçümden en düşük değer	

Tablo 17. Dezenfektan döktükten sonra alınan örneklerin sayım sonuçları (kob/ml).

Panelist	1. Ölçüm	2. Ölçüm
1	89 ^a	75 ^c
2	11 ^b	13 ^d
3	48	41
4	27	32
5	15	17
6	13	15
7	25	27
8	19	28
9	33	37
10	39	34
11	43	47
12	23	32
13	26	29
14	23	21
15	18	22
a: 1. ölçüm en yüksek değeri	c: 2. Ölçüm en yüksek değer	
b: 1. Ölçüm en düşük değer	d: 2. Ölçüm en düşük değer	



Şekil 16. İzopropil Alkol İçermeyen Dezenfektan için SWAB Testi Sonuçları logaritmik grafiği.

3.5.2. İzopropil Alkol İçeren Dezenfektan ile Yapılan Çalışma Sonuçları

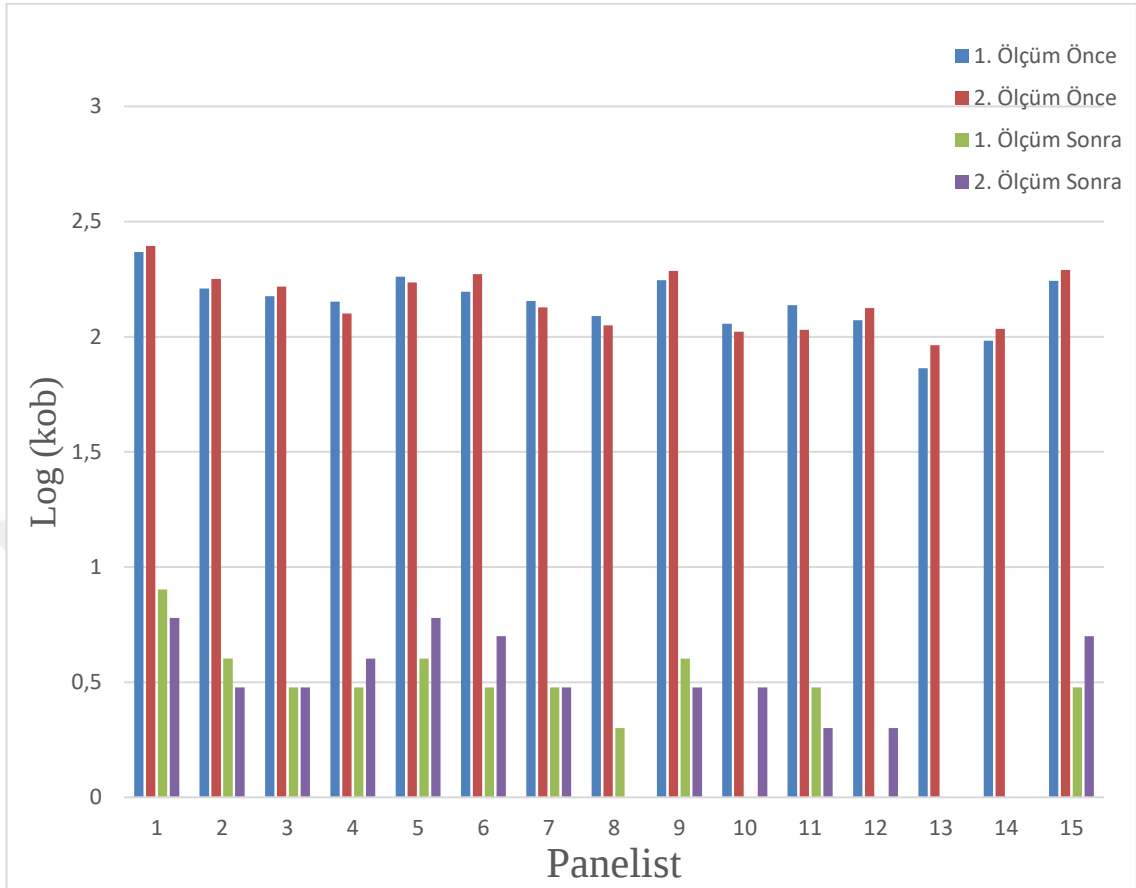
Teste katılan panelistler dezenfektan sıvısını kullanmadan önce ellerinden aldığımız örneklerin mikrobiyolojik ekim sonucuna göre oluşturdukları koloni sayım sonuçları Tablo 18’de verilmiştir. Ayrıca, Şekil 17’de görsel olarak hazırlanmıştır. İzopropil alkol kullanılarak hazırlanan dezenfektan çözeltisini SWAB testine katılan panelistlerin ellerine döktükten 1 dk sonra aldığımız sürüntü örneklerine ait mikrobiyolojik ekim sonucunda elde edilen koloni sayım sonuçları Tablo 19’da verilmiştir. Ayrıca sonuçlar sütun grafiği olarak da Şekil 17’de sunulmuştur.

Tablo 18. Dezenfektan dökmeden önce alınan örneklerin sayım sonuçları (kob/mL).

Panelist	1. Ölçüm	2. Ölçüm
1	233 ^a	248 ^c
2	162	178
3	150	165
4	142	126
5	182	172
6	157	187
7	143	134
8	123	112
9	176	193
10	114	105
11	137	107
12	118	133
13	73 ^b	92 ^d
14	96	108
15	175	195
a. 1. ölçüm içinde en yüksek değer	c. 2. ölçüm içinde en yüksek değer	
b. 1. ölçüm içinde en düşük değer	d. 2. ölçüm içinde en düşük değer	

Tablo 19. Dezenfektan döktükten sonra alınan örneklerin sayım sonuçları (kob/mL).

Panelist	1. Ölçüm Sonuçları	2. Ölçüm Sonuçları
1	8 ^a	6 ^c
2	4	3
3	3	3
4	3	4
5	4	6
6	3	5
7	3	3
8	2	0 ^d
9	4	3
10	0	3
11	3	2
12	1	2
13	0 ^b	0
14	0	0
15	3	5
a: 1. Ölçüm içinde en yüksek değer	c: 2. Ölçüm içinde en yüksek değer	
b: 1. Ölçüm içinde en düşük değer	d: 2. Ölçüm içinde en düşük değer	



Şekil 17. Alkol içeren dezenfektan sıvısı için yapılan SWAB testi analiz sonuçlarının logaritmik grafiği.

3.6. Zeta Potansiyeli ve Parçacık Boyutu Analiz Sonuçları

Defne (*Laurus nobilis*), karanfil (*Syzygium aromaticum*), tarçın (*Cinnamomum verum*) esansiyel yağları ve tween-80 kullanarak hazırladığımız çözeltinin zamana bağlı olarak homojenitesi ve stabilitesinin test edilmesi için depolama süresi boyunca, belirli aralıklarla parçacık boyutu analizleri yapılmıştır. Sonuçlar tablolar halinde her bir uçucu yağ için ayrı başlıklar halinde verilmiştir.

3.6.1. Defne Esansiyel Yağı Çözeltisinin Parçacık Boyutu ve Zeta Analizleri

Defne (*Laurus nobilis*) esansiyel yağı çözeltisi ile 15 günlük aralıklarla yapılan parçacık boyutu analiz raporu Tablo 20’da verilmiştir. Analize ait grafik görüntüleri ise EK-1-4’te sunulmuştur.

Tablo 20. Defne (*Laurus nobilis*) esansiyel yağı çözeltisinin parçacık boyutu ölçüm sonuçları.

Ölçüm Sırası	Z-Ortalama (nm)	Türetilmiş Sayım Oranı (kcps)
1	145,4106	3899,255
2	191,0499	3761,281
3	202,9538	5031,103
4	205,7822	4975,390

Defne (*Laurus nobilis*) esansiyel yağ çözeltisinin Z-ortalama değerindeki değişimin 2 ay içerisinde fazla olmadığı göze çarpmaktadır. Sonuçlar değerlendirildiğinde, 2 ay sonunda 50nm'lik bir değişimin gerçekleştiği göze çarpmaktadır. Ayrıca türetilmiş sayım oranı sayısı ise ilk ölçümde az olduğundan Z-ortalama değerinin ilk ölçümde gerçeği yansıtmadığı düşünülmektedir. Defne esansiyel yağ çözeltisinin yine aynı tarihlerde yapılan zeta potansiyeli ölçüm sonucuna ait rapor Tablo 21'de sunulmuştur. Ölçüm sonuçlarının grafiksel dökümü ise Ek 13-16'da verilmiştir.

Tablo 21. Defne (*Laurus nobilis*) esansiyel yağı çözeltisinin zeta potansiyeli ölçüm sonuçları.

Ölçüm Sırası	Sayım Oranı (kcps)	Ölçüm tekrarı	Zeta Potansiyeli (mV)	Zeta Sapması (mV)	İletkenlik (mS/cm)	Sonuç Kalitesi
1	202,2	12	-10,7	3,58	0,0884	İYİ
2	125,2	6	-11,5	3,33	0,0800	İYİ
3	177,7	5	-14,3	4,22	0,0692	İYİ
4	150,7	12	-15,0	4,47	0,105	İYİ

Defne esansiyel yağı çözeltisinin zeta potansiyeli analiz sonuç raporuna bakıldığında 2 aylık depolama sonucunda esansiyel çözeltisindeki iletkenlik değerinde çok az bir değişimin olduğu göze çarpmaktadır. Bu değer in sıfıra yaklaşması parçacıklar arasında hareketliliğin olduğunu ve birleşme olacağına işaretler. Bu çalışma kapsamında gerçekleştirdiğimiz analizlerde bu değerin sıfırdan uzaklaştığı göze çarpmaktadır. Çözeltinin stabilitesini koruduğu anlaşılmaktadır.

3.6.2. Karanfil Esansiyel Yağı Çözeltilisinin Parçacık Boyutu ve Zeta Potansiyeli Analiz Sonuçları

Karanfil (*Syzygium aromaticum*) esansiyel yağı çözeltisi için 15 günlük aralıklarla yapılan parçacık boyutu analizi sonuç raporu Tablo 22’de sunulmuştur. Analize ait sonuç grafikleri ise EK 5-8’de sunulmuştur.

Tablo 22. Karanfil (*Syzygium aromaticum*) esansiyel yağı çözeltisinin parçacık boyutu ölçüm sonuçları.

Ölçüm Sırası	Z-Ortalama (nm)	Türetilmiş Sayım Oranı (kcps)
1	117,2827	2915,910
2	122,6201	4728,923
3	126,346	8772,424
4	137,1392	5443,761

Karanfil esansiyel yağı çözeltisindeki parçacık boyutlarında Z-ortalama değerinin 2 ay sonunda 20 nm değiştiği Tablo 22’de gözlemlenmektedir. Karanfil esansiyel yağı çözeltisinin zeta potansiyeli ölçümlerine ait rapor Tablo 23’de verilmiştir. Sonuçların grafiksel dökümü ise EK 17-20’de verilmiştir.

Tablo 23. Karanfil (*Syzygium aromaticum*) esansiyel yağı çözeltisinin zeta potansiyeli ölçüm sonuçları.

Ölçüm Sırası	Sayım Oranı (kcps)	Ölçüm Tekrarı	Zeta Potansiyeli (mV)	Zeta Sapması (mV)	İletkenlik (mS/cm)	Sonuç Kalitesi
1	51,6	12	-11,9	2,81	0,0748	İYİ
2	303,6	3	-12,3	3,33	0,108	İYİ
3	421,3	5	-12,8	5,07	0,102	İYİ
4	165,2	4	-12,6	4,23	0,118	İYİ

Karanfil (*Syzygium aromaticum*) esansiyel yağ çözeltisinin zeta potansiyelinde 2 aylık depolama boyunca neredeyse hiç değişim olmadığı söylenebilir. Esansiyel yağ çözeltisindeki yağ parçacıklarının stabilitesini koruduğu sonucuna varılabilir.

3.6.3. Tarçın Esansiyel Yağı Çözeltisinin Parçacık Boyutu ve Zeta Potansiyeli Sonuçları

Tarçın (*Cinnamomum verum*) esansiyel yağı çözeltisinin 15 günde bir yapılan parçacık boyutu analizine ait sonuç raporu Tablo 24’de verilmiştir. Bu sonuçlara ait grafikler ise EK 9-12’de verilmiştir.

Tablo 24. Tarçın (*Cinnamomum verum*) esansiyel yağı çözeltisinin parçacık boyutu analiz sonuçları.

Ölçüm Sırası	Z-Ortalama (nm)	Türetilmiş Sayım Oranı (kcps)
1	214,9654	1942,510
2	180,1147	2076,828
3	187,0121	2910,810
4	202,7082	4669,368

Tarçın (*Cinnamomum verum*) esansiyel yağı çözeltisi de diğer çözelti gibi 2 aylık depolamada Z-ortalama değerinde 20 nm’lik çok az değişimler oluşturmuştur. Tarçın esansiyel yağı çözeltisinin 15 günde bir yapılan zeta potansiyeli analizi sonuç raporu Tablo 25’te sunulmuştur. Bu rapora ait grafikler ise EK 21-24’te verilmiştir.

Tablo 25. Tarçın (*Cinnamomum verum*) esansiyel yağı çözeltisinin zeta potansiyeli ölçüm sonuçları.

Ölçüm Sırası	Sayım Oranı (kcps)	Ölçüm Tekrarı	Zeta Potansiyeli (mV)	Zeta Sapması (mV)	İletkenlik (mS/cm)	Sonuç Kalitesi
1	116,3	12	-15,9	3,30	0,0604	İYİ
2	299,4	4	-14,5	4,84	0,0750	İYİ
3	141,4	3	-13,4	3,51	0,0651	İYİ
4	95,3	12	-13,1	4,22	0,109	İYİ

Tarçın (*Cinnamomum verum*) esansiyel yağındaki parçacıkların zeta potansiyeli ölçüm sonuçlarında değişimin çok az olduğu göze çarpmaktadır. Değerlerin 0'dan uzak olduğu ve stabilitesini koruduğu görülmektedir. İletkenlik değerleri ise oldukça düşük olduğu yine Tablo 25'ten anlaşılmaktadır.

3.7. Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

3.7.1. Koloni Yüğü Hesaplama Sonuçları

3.7.1.1. Bakteri ve Maya Sayımı

Bakterilerin 0.5 McFarland (McF) stok çözeltisinin 10^{-1} 'den başlayarak 10^{-7} 'e kadar dilüsyonlarının ekimleri sonucu oluşan kolonilerin sayım sonucu Tablo 26'da sunulmuştur. Sonuçlara göre mL'deki mikroorganizma yükü Tablo 26'daki gibi hesaplanmıştır. Tablodaki değerler bir paralel bir tekrar toplam iki sayım sonucunun ortalaması olarak verilmiştir ($p < 0.05$). Şekil 18'de bakterilerin inkübasyondan sonra oluşan kolonilerin görüntüsü yer almaktadır.



Şekil 18. Toplam bakteri sayımı için inkübasyonda bekletilen bir petride oluşan kolonilerin görüntüsü.

Tablo 26. Mikrobiyal suşlara ait 0.5 MacFarland (McF) konsantrasyonda hazırlanan dilüsyonların ekimi ve inkübasyon sonucundaki elde edilen ortalama mikrobiyal yük değerleri (kob/mL).

Mikroorganizma	1. Ölçüm(adet/mL)	2. Ölçüm(adet/mL)	Ölçüm Sonucu, adet/mL (Ortalama ± Standart Sapma)*
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	4,9*10 ⁷	5,2*10 ⁷	5,05 ± 0,15 *10 ⁷
<i>Escherichia coli</i>	1,19*10 ⁸	1,32*10 ⁸	1,25 ± 0,06 *10 ⁸
<i>Staphylococcus aureus</i>	5,5*10 ⁶	6,4*10 ⁶	5,95 ± 0,40 *10 ⁶
<i>Bacillus cereus</i>	7,5*10 ⁷	6,1*10 ⁷	6,75 ± 0,75 *10 ⁷
<i>Salmonella typhimurium</i>	1,68*10 ⁷	1,54*10 ⁷	1,61 ± 0,07 *10 ⁷
<i>Proteus mirabilis</i>	1,57*10 ⁷	1,66*10 ⁷	1,61 ± 0,05 *10 ⁷
<i>Proteus vulgaris</i>	1,18*10 ⁷	1,01*10 ⁷	1,09 ± 0,08 *10 ⁷
<i>Listeria monocytogenes</i>	1,2*10 ⁸	1,32*10 ⁸	1,26 ± 0,06 *10 ⁸
<i>Yersinia enterocolitica</i>	8,9*10 ⁶	9*10 ⁶	8,95 ± 0,05 *10 ⁶
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7,9*10 ⁷	8,8*10 ⁷	8,35 ± 0,45 *10 ⁷
<i>Candida albicans</i>	1,28*10 ⁷	1,45*10 ⁷	1,36 ± 0,08 *10 ⁷

*: p<0.05 anlamlılık düzeyinde, 2 paralel 1 tekrar 2 ölçüm sonucu

3.7.1.2. Küf Sayımı

Aspergillus flavus ve *Aspergillus parasiticus* için thoma lamı içinde bulunan 16 küçük karedeki küf sporlarının sayımı Tablo 27’de verilmiştir.

Tablo 27. *Aspergillus flavus* (sol) ve *Aspergillus parasiticus* (sağ) için thoma lamı içinde bulunan 16 küçük karedeki sayım sonuçları.

12	9	18	23	-	16	14	18	24
21	14	8	11	-	27	23	19	22
12	10	11	10	-	21	17	26	24
9	13	8	17	-	17	19	22	23

16 karede toplam 206 küf sporu tespit edilmiştir. Bu sonuca göre mL deki *Aspergillus flavus* miktarı $206 \cdot 10 \cdot 10.000 = 2 \cdot 10^7$ adet/mL olarak hesaplanmıştır. Tablo 27’de görülen 16 karede toplam 637 küf sporu tespit edilmiştir. Bu sonuca göre mL deki *Aspergillus parasiticus* miktarı $637 \cdot 10 \cdot 10.000 = 6.41 \cdot 10^7$ spor/mL olarak saptanmıştır.

3.7.2. Antimikrobiyal Etkinlik Testi Sonuçları

3.7.2.1. Defne Esansiyel Yağı Antimikrobiyal Etkinlik Testi

Defne (*Laurus nobilis*) esansiyel yağı ile yapılan agar well (kuyucuk) düfüzyon metodu referans alınarak 2 paralelli ve 2 tekrarlı olarak gerçekleştirilen antibiyogram testinde ölçülen inhibisyon zonu (mm) sonuçları Tablo 28’de sunulmuştur.

Tablo 28. Defne (*Laurus nobilis*) esansiyel yağı antimikrobiyal etkinlik testi ölçüm sonuçları(mm).

Mikroorganizma ismi	Ölçüm*				Ölçüm sonucu, mm (Ortalama ± Standart sapma) ^Y
	1	2	3	4	
<i>Bacillus cereus</i>	15,83	16,08	15,65	16,05	15,9025 ± 0,1748
<i>Candida albicans</i>	13,98	15,6	14,65	15,78	15,0025 ± 0,7299
<i>Escherichia coli</i> 11230	15,66	17,1	16,21	17,52	16,6225 ± 0,7297
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	16,1	14,6	17,1	15,6	15,852 ± 0,9013
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	16,15	15,66	16,45	15,64	15,975 ± 0,3419
<i>Listeria monocytogenes</i>	12,77	11,95	13,05	12,55	12,588 ± 0,4045 ^a
<i>Proteus mirabilis</i>	15,4	15,53	15,6	15,75	15,574 ± 0,1262
<i>Proteus vulgaris</i>	14,65	13,8	14,8	14,2	14,3625 ± 0,3927
<i>Salmonella typhimurium</i>	13,13	13,23	13,62	14,35	13,5825 ± 0,4794
<i>Staphylococcus aureus</i>	18,6	17,57	18,71	17,81	18,1725 ± 0,4914 ^b
<i>Yersinia enterocolitica</i>	14,12	13,22	14,25	13,45	13,765 ± 0,4351

a: Ortalamalr içinde en küçüğü b: Ortalamalar içinde en büyüğü
 *: 2 paralel, 2 tekrar toplam 4 ölçüm Y: p<0.05 anlamlılık düzeyindeki sonuçlar

Sonuçlar incelendiğinde defne (*Laurus nobilis*) esansiyel yağının en yüksek 18,1725 ± 0,4914 mm inhibisyon zonu ile *Staphylococcus aureus* bakterisi üzerine etki gösterdiği belirlenmiştir. En düşük inhibisyon zonu ise, 12,588 ± 0,4045 mm ile *Listeria monocytogenes*’in test edildiği petrilere gözlenmiştir.

3.7.2.2. Karanfil Esansiyel Yağı Antimikrobiyal Etkinlik Testi Sonuçları

Karanfil (*Syzygium aromaticum*) esansiyel yağı ile yaptığımız antimikrobiyal etkinlik testi ne ait sonuçlar Tablo 29’daki gibidir.

İstatistiksel sonuç tablosu incelendiğinde, karanfil (*Syzygium aromaticum*) esansiyel yağı numunesi, en yüksek inhibisyon zonunu *S. aureus* üzerinde göstermiştir. İkincil yüksek etki ise *E. coli* türleri üzerinde gözlenmiştir ($p>0.05$). En düşük etki ise *Listeria monocytogenes* bakterisi ile elde edilmiştir. Karanfil esansiyel yağı hem gram pozitif hem de gram negatif bakteriler üzerine neredeyse eşit oranda etki gösterdiği Tablo 29'dan anlaşılmaktadır.

Tablo 29. Karanfil (*Syzygium aromaticum*) esansiyel yağı antimikrobiyal etkinlik testi ölçüm sonuçları.

Mikroorganizma	Ölçüm*				Ölçüm sonucu, mm (ortalama $\pm$ standart sapma) ^Y
	1	2	3	4	
<i>Bacillus cereus</i>	21,21	21,95	21,32	21,50	21,495 $\pm$ 0,2823
<i>Candida albicans</i>	21,25	22,66	21,25	22,04	21,864 $\pm$ 0,5920
<i>Escherichia coli</i> 11230	23,81	24,67	23,75	24,07	24,075 $\pm$ 0,3639
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	22,89	23,41	22,54	23,01	22,962 $\pm$ 0,3107
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	18,66	18,05	18,33	17,94	18,245 $\pm$ 0,2786
<i>Listeria monocytogenes</i>	18,25	17,77	18,00	17,65	17,917 $\pm$ 0,2294 ^a
<i>Proteus mirabilis</i>	18,56	19,15	18,65	19,02	18,845 $\pm$ 0,2464
<i>Proteus vulgaris</i>	19,23	19,77	18,70	19,23	19,235 $\pm$ 0,3783
<i>Salmonella typhimurium</i>	17,89	18,66	18,81	18,95	18,577 $\pm$ 0,4099
<i>Staphylococcus aureus</i>	25,66	24,78	25,76	24,88	25,273 $\pm$ 0,4428 ^b
<i>Yersinia enterocolitica</i>	18,23	18,66	17,94	18,34	18,292 $\pm$ 0,2576
a: Ortalamalar içinde en küçüğü					b: Ortalamalar içinde en büyüğü
*: 2 paralel, 2 tekrar toplam 4 ölçüm					^Y : $p<0.05$ anlamlılık düzeyindeki sonuçlar

3.7.2.3. Tarçın Esansiyel Yağı Antimikrobiyal Etkinlik Testi Sonuçları

Tarçın (*Cinnamomum verum*) esansiyel yağlarına ait antibiyogram sonuçlarına göre, tarçına ait esansiyel yağın hem karanfil hem de defne esansiyel yağlarından çok daha etkili olduğu anlaşılmıştır. Tablo 30'da tarçın esansiyel yağı ile yaptığımız çalışmanın sonuçları verilmiştir.

Tablo 30 incelendiğinde, yapılan testlerde tarçın esansiyel yağı numunesinin en yüksek inhibitör etkiyi *E. coli* 11230 suşuna gösterdiği anlaşılmaktadır ($p<0,05$). İkincil büyük biyosidal etki, *B. cereus* 'a ait ortalama inhibisyon zonu (32,967 $\pm$ 0,5555 mm)

değerinden anlaşılabilmektedir. En düşük inhibisyon zonu ($23,224 \pm 0,1661$ mm) değeri ise *P. mirabilis* 'e ait test sonucunda elde edilmiştir.

Tarçın (*Cinnamomum verum*) esansiyel yağları ile yapılan küf çalışmalarında tarçın esansiyel yağı numunesinin bulunduğu petrilerde herhangi bir küf gelişimi gözlenmemiştir. Kontrol olarak ekim yapılan petrilerde *A. flavus* ve *A. paraticus* küfleri suşlarının aynı inkübasyon süresi içerisinde gelişme gösterdiği gözlenmiştir. Tarçın esansiyel yağı bulunduğu ortamlarda, bakteri ve mayalar üzerinde gösterdiği biyosidal etkiyle birlikte benzer etkinlik küf türlerinde de gözlenmiştir.

Tablo 30. Tarçın (*Cinnamomum verum*) esansiyel yağı antimikrobiyal etkinlik testi ölçüm sonuçları(mm).

Mikroorganizma	Ölçüm*				Ölçüm sonucu, mm (ortalama $\pm$ standart sapma) ^Y
	1	2	3	4	
<i>Bacillus cereus</i>	32,52	33,37	32,33	33,65	$32,967 \pm 0,5555$
<i>Candida albicans</i>	31,16	30,87	31,56	31,65	$31,312 \pm 0,3139$
<i>Escherichia coli</i> 11230	34,64	33,15	33,61	33,20	$33,653 \pm 0,5987^b$
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	26,19	25,69	26,05	25,77	$25,925 \pm 0,2031$
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	29,15	28,67	28,78	28,65	$28,812 \pm 0,2010$
<i>Listeria monocytogenes</i>	27,65	26,77	27,86	26,84	$27,281 \pm 0,4814$
<i>Proteus mirabilis</i>	23,00	23,40	23,12	23,36	$23,224 \pm 0,1661^a$
<i>Proteus vulgaris</i>	27,98	28,70	27,67	27,55	$27,975 \pm 0,4470$
<i>Salmonella typhimurium</i>	25,47	25,78	25,56	25,80	$25,652 \pm 0,1413$
<i>Staphylococcus aureus</i>	28,16	28,67	28,36	28,57	$28,443 \pm 0,1965$
<i>Yersinia enterocolitica</i>	23,15	24,16	23,54	23,71	$23,649 \pm 0,3624$
a: Ortalamalar içinde en küçüğü					b: Ortalamalar içinde en büyüğü
*: 2 paralel, 2 tekrar toplam 4 ölçüm					^Y : $p < 0.05$ anlamlılık düzeyindeki sonuçlar

3.7.3. MİK Analizi Sonuçları

Minimum inhibitör konsantrasyonunun (MİK) belirlenmesi analizi, antibakteriyel maddelerin etkinlik gösterdiği en düşük derişimi belirlemek için başvuru bir yöntemdir. Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında, defne (*Laurus nobilis*), karanfil (*Syzygium aromaticum*) ve tarçın (*Cinnamomum verum*) esansiyel yağ örneklerinin etkin olduğu minimum oranı makro dilüsyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Esansiyel yağlara ait MİK değerleri aşağıda ayrı başlıklar altında sunulmuştur.

Tablo 31’de verilen değerler mikroorganizma çözeltisi ile MİK için hazırlanan çözeltilerin ilk ekildiği andaki ölçüm sonuçlarıdır. Tablo 32’de gösterilen 24 saat inkübasyon sonucunda elde edilen absorbans değerlerinde, yukarıdan aşağıya aynı sütunda esansiyel yağın konsantrasyonu azalmakta, absorbans değerleri ilk ölçüm ile karşılaştırıldığında değerlerde artışlar olduğu belirlenmiştir. G satırında bulunan kuyucuklar, esansiyel yağ içermeksizin sadece 100 µL 0.5 McFarland mikroorganizma çözeltisi ve 100 µL pozitif kontrol çözeltisi içermektedir. 24 saat inkübasyon sonucunda tüm absorbans değerleri ilk okumaya göre değiştiği görülmüştür. Mikroorganizmaların normal gelişim gösterdiğinin bir göstergesi olarak kabul edilmiştir. H satırındaki kuyucuklar ise sadece negatif kontrol çözeltisi yer almakta ve içinde herhangi bir mikroorganizma bulunmamaktadır. İlk okunan absorbans değerlerine kıyasla çok az bir değişim olduğu gözlemlenmektedir. Aseptik tekniğe uyularak çalışıldığının göstergesidir. Bu değerlerin okunduğu kuyucuklar da bulunan mikroorganizmalarda gelişmelerin olduğu sonucuna varılabilir. Bu sonuca göre, değişimin başladığı kuyucuktan bir önceki kuyucuk için esansiyel yağ oranı MİK değeri kabul edilir. Buna göre defne esansiyel yağı için elde edilen, her bir test mikroorganizması için MİK değerleri Tablo 33’de verilmiştir.

Tablo 33. Defne (*Laurus nobilis*) esansiyel yağı MİK değerleri.

Mikroorganizma	MIC değeri (µl/ml)
<i>Bacillus cereus</i>	5
<i>Proteus mirabilis</i>	5
<i>Proteus vulgaris</i>	10
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	10
<i>Salmonella typhimurium</i>	5
<i>Candida albicans</i>	10
<i>Staphylococcus aureus</i>	10
<i>Listeria monocytogenes</i>	5
<i>Escherichia coli</i> 11230	10
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5
<i>Yersinia enterocolitica</i>	5

3.7.3.2. Karanfil Esansiyel Yağı MİK Analiz Sonuçları

Karanfil (*Syzygium aromaticum*) esansiyel yağına ait 96 mikropate absorbens ölçüm değerleri Tablo 34 ve Tablo 35'te verilmiştir.

Tablo 34. Karanfil (*Syzygium aromaticum*) esansiyel yağ, MİK analizi 620 nm başlangıç absorbens değerleri.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A	1,8004	1,8190	1,7050	1,6415	1,6800	1,6619	1,6721	1,7215	1,7403	1,6899	1,7335
B	1,3510	1,5218	1,5535	1,4249	1,5437	1,3506	1,5791	1,4897	1,4401	1,5301	1,5819
C	1,1548	1,1094	1,0878	1,1361	1,1199	1,1358	1,1207	1,1854	1,2368	1,2284	1,1961
D	0,7809	0,8776	0,8172	0,7512	0,8704	0,7595	0,7709	0,8023	0,8078	0,7643	0,7477
E	0,5132	0,6338	0,6519	0,6519	0,5883	0,5896	0,6946	0,6538	0,6084	0,6775	0,6655
F	0,2027	0,2509	0,3323	0,3755	0,3589	0,2082	0,3815	0,2142	0,3285	0,2403	0,2939
G	0,6912	0,0680	0,0749	0,0951	0,0604	0,0648	0,0550	0,0585	0,0539	0,0804	0,0503
H	0,0765	0,0574	0,1011	0,0890	0,1038	0,0783	0,0557	0,0665	0,0914	0,0777	0,0630
1. sütun: <i>Bacillus cereus</i> 5. sütun: <i>Salmonella typhimurium</i> 9. sütun: <i>Escherichia coli</i> 11230											
2. sütun: <i>Proteus mirabilis</i> 6. sütun: <i>Candida albicans</i> 10. sütun: <i>Klebsiella pneumoniae</i>											
3. sütun: <i>Proteus vulgaris</i> 7. sütun: <i>Staphylococcus aureus</i> 11. sütun: <i>Yersinia enterocolitica</i>											
4. sütun: <i>Escherichia coli</i> O157:H7											

Tablo 35. Karanfil (*Syzygium aromaticum*) esansiyel yağ MİK analizi, 24 saat inkübasyon sonrası 620 nm absorbens ölçüm sonuçları.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A	1,6496	1,8099	1,7913	1,8139	1,8118	1,6446	1,6920	1,7225	1,7988	1,8040	1,7354
B	1,4612	1,5525	1,3678	1,3677	1,4488	1,5968	1,5248	1,5101	1,4639	1,4680	1,5954
C	1,2173	1,1877	1,1519	1,1688	1,1234	1,1450	1,1361	1,1333	1,2436	1,1363	1,1908
D	0,7545	0,8127	0,8423	0,8759	0,8673	0,8489	0,7640	0,8071	0,7880	0,7985	0,8708
E	0,8961*	0,5416	0,7627	0,9873*	0,7188	0,6776	0,6704	0,5226	0,6192	1,8042*	0,6122
F	1,2716*	1,0474*	1,2698*	1,3951*	1,3616*	1,3509*	1,2463*	1,2178*	1,3594*	2,0064*	1,3327*
G	2,0820	2,3721	2,3999	2,3536	2,1339	2,4807	2,0533	2,4617	2,3310	2,2597	2,1969
H	0,0765	0,1095	0,0537	0,0530	0,0990	0,0557	0,1079	0,1002	0,0697	0,0601	0,0858
1. sütun: <i>Bacillus cereus</i> 5. sütun: <i>Salmonella typhimurium</i> 9. sütun: <i>Escherichia coli</i> 11230											
2. sütun: <i>Proteus mirabilis</i> 6. sütun: <i>Candida albicans</i> 10. sütun: <i>Klebsiella pneumoniae</i>											
3. sütun: <i>Proteus vulgaris</i> 7. sütun: <i>Staphylococcus aureus</i> 11. sütun: <i>Yersinia enterocolitica</i>											
4. sütun: <i>Escherichia coli</i> O157:H7 *: Artış olan değerler											

Bu sonuçlara göre, kalın-kırmızı ile işaretlenen absorbens değerleri, değişimin başladığı kuyucuklardan önce gelen kuyucuktaki esansiyel yağ oranını, yani MİK değerini

Tablo 38. Tarçın (*Cinnamomum verum*) esansiyel yağı MİK analizi, 24 saat inkübasyon sonrası 620 nm absorban ölçüm sonuçları.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A	1,9329	1,8616	1,9671	1,8350	1,8609	1,8554	1,8619	1,9253	1,8851	1,8873	1,9840
B	1,5954	1,6134	1,5640	1,6190	1,6512	1,5305	1,6923	1,5631	1,6461	1,6295	1,6374
C	1,3195	1,2840	1,4027	1,3802	1,3075	1,2395	1,2712	1,4252	1,3393	1,4164	1,3865
D	1,0178	1,0561	0,8063	1,0942	0,8185	0,8509	0,8266	0,8996	0,7526	1,0446	0,8675
E	0,9143	0,9057	0,6419	1,4599*	0,4888	0,3846	0,5033	0,5990	0,3049	0,5085	0,4843
F	1,2947*	1,3923*	1,2898*	1,8281*	1,3492*	1,3895*	1,2037*	1,3014*	1,3982*	1,3461*	1,2919*
G	2,2854	2,2438	2,2138	2,1067	2,1681	2,2246	2,2294	2,0723	2,0811	2,1198	2,1729
H	0,0765	0,0699	0,1026	0,0910	0,0651	0,0929	0,0804	0,0649	0,0515	0,0796	0,1031
1. sütun: <i>Bacillus cereus</i>				5. sütun: <i>Salmonella typhimurium</i>				9. sütun: <i>Escherichia coli</i> 11230			
2. sütun: <i>Proteus mirabilis</i>				6. sütun: <i>Candida albicans</i>				10. sütun: <i>Klebsiella pneumoniae</i>			
3. sütun: <i>Proteus vulgaris</i>				7. sütun: <i>Staphylococcus aureus</i>				11. sütun: <i>Yersinia enterocolitica</i>			
4. sütun: <i>Escherichia coli</i> O157:H7				*: Artış olan değerler							

Tablo 37 ve 38’de sunulan sonuçlara göre tarçın (*Cinnamomum verum*) esansiyel yağının hesaplanan MİK değerleri Tablo 39’da gösterilmiştir.

Tablo 39. Tarçın (*Cinnamomum verum*) esansiyel yağı MİK değerleri.

Mikroorganizma	MIC değeri (µl/ml)
<i>Bacillus cereus</i>	5
<i>Proteus mirabilis</i>	5
<i>Proteus vulgaris</i>	5
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	10
<i>Salmonella typhimurium</i>	5
<i>Candida albicans</i>	5
<i>Staphylococcus aureus</i>	5
<i>Listeria monocytogenes</i>	5
<i>Escherichia coli</i> 11230	5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5
<i>Yersinia enterocolitica</i>	5

Tarçın (*Cinnamomum verum*) esansiyel yağının, defne (*Laurus nobilis*) ve karanfil (*Syzygium aromaticum*)e göre daha düşük konsantrasyonda etkinlik gösterdiği anlaşılmıştır. *E. coli* O157:H7 bakterisi hariç diğer tüm bakterilerde 5µl/ml gibi düşük değerler etki göstererek 0.5 McFarland yoğunluktaki bakteriyel gelişimi inhibe etmektedir.

4. BÖLÜM

TARTIŞMA-SONUÇ VE ÖNERİLER

4.1. Sonuçların Tartışılması

4.1.1. GC-MS Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi

4.1.1.1. Defne Esansiyel yağı GC-MS Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Bu tez çalışmasında, defne (*Laurus nobilis*) esansiyel yağında %48,50 oranla birincil majör bileşik olarak, 1,8-Cineole tespit edilmiştir. Bu sonuç Sangun ve arkadaşlarının (2007) yaptığı çalışmaya benzerlik göstermektedir, çalışmada elde edilen sonuçlara göre, 1,8-Cineole bileşiği %47,64 oranında bulunmuştur. Az bir farkla 1,8-Cineole bileşiği oranında farklılık görülmektedir. Bu farklılıkların iklim ve yetiştirilme koşullarından kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Sangun ve ark., 2007). Defne uçucu yağına ait GC-MS analiz sonuçları Peris ve arkadaşları (2015) tarafından da rapor edilen analiz sonuçları ile örtüşmekte olup, 1,8-Cineole bileşiğinin defne esansiyel birincil ana bileşeni olduğu anlaşılmaktadır. Halkalı bir yapıya sahip olan 1,8-Cineole, ‘Ökalyptol’ olarak da adlandırılmaktadır. Okalyptus yağındaki volatil bileşiklerin %90’ını oluşturmaktadır. 1,8-Cineole bileşiği antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri sayesinde medikal disiplinde çokça kullanılmaktadır (Peris ve Blázquez, 2015).

Defne esansiyel yağında en çok bulunan ikincil majör bileşen ise %14,88 ile α -Terpenenyl-acetate bileşiğidir. Bu bileşik halkalı yapıda olup defne bitkisinin karakteristik özelliklerine katkı sağlamaktadır (Peris ve Blázquez, 2015). Defne bitkisinde bulunan bileşiklerin oranı yetiştirilme koşullarına göre farklılık gösterse de bileşiklerin bulunma yüzdesindeki sıralamanın değişmediği hem bu çalışmada hem de daha önceden gerçekleştirilmiş olan diğer çalışmalarla ispatlanmıştır (Braun ve ark., 2001; Sangun ve ark., 2007; Peris ve Blázquez, 2015).

Defne esansiyel yapında baskın olarak bulunan üçüncü bileşik ise %11 ile γ -Terpinene bileşiğidir. Bu bileşiğe Akdeniz ikliminde yetişen defne veya narenciye gibi bitkilerin yapısında çokça rastlanılmaktadır. Dao ve ark. (2022) farklı ekstraksiyon metotlarının verimini araştırdığı çalışmada, limon kabuklarında bu bileşiği %12,35 oranında tespit etmişlerdir. (Dao ve ark., 2021).

4.1.1.2. Karanfil Esansiyel yağının GC-MS Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Karanfil (*Syzygium aromaticum*) esansiyel yağı içerisinde yüzde olarak en çok bulunan madde olan Eugenol bileşiği, alil-benzen sınıfının bir üyesidir. Yapısında bir alil zinciri bulundurulur. Özellikle karanfil, hindistan cevizi, fesleğen gibi ürünlerin kimyasal kompozisyonu içerisinde yer alır (Pramod ve ark., 2010).

İkinci en çok bulunan bileşik olan Caryophyllene bileşiği ile ilgili literatüre, Hindistan, Endonezya gibi baharat kullanımı ve üretimi fazla olan ülkelerdeki araştırmacıların gerçekleştirdikleri çalışmalarda rastlanılmaktadır. Sufriadi ve ark.(2021) Hindistan'daki "Ache" olarak adlandırılan yerli bir bitki üzerinde yaptığı çalışmada GC-MS analizi sonucunda %5,51 oranında Caryophyllene bileşiği olduğunu tespit etmişlerdir (Sufriadi ve ark., 2021). Brezilya'nın Amazon bölgesinde Kopaiba (*Copaifera L.*) bitkisinden çokça elde edilen copaiba yağı içerisinde Caryophyllene bileşiği majör bileşik olarak raporlanmıştır (Lucca ve ark., 2015).

Karanfil esansiyel yağında, %4,06 oranında bulunan ve üçüncül majör bileşen olan α -Humulene bileşiği Fildişi sahillerinde yöreye özgü olan "Aframomum" olarak adlandırılan mevsimsel bitkinin meyvelerinde de rastlanılmıştır. Bu bitkiden elde edilen esansiyel yağların GC-MS analiz sonuçları bu tez çalışmasındaki karanfil esansiyel yağların analiz sonuçlarına oldukça benzemektedir. Farklı bir familyadan olmasına rağmen bu benzerlik dikkat çekicidir. Karanfil (*Syzygium aromaticum*) esansiyel yağına nazaran aframomum bitkisinin esansiyel yağında en çok β -pinene bileşiği bulunmaktadır. Aframomum bitkisinde de ikincil majör bileşik olarak caryophyllene bileşiği bulunmaktadır (Diomande ve ark., 2012).

Karanfil ile yapılan çalışmalarda GC-MS analizi ile birçok volatil bileşik belirlenmiştir. Gülçin ve ark. (2012) karanfil uçucu yağlarında, GC-MS analizi ile 18 farklı bileşik tespit etmişlerdir. Bu bileşiklerin, TBARS testinde bir dereceye kadar antioksidan aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (Gülçin ve ark., 2012).

Dorman ve ark. (2000) karanfil ve Hindistan cevizi uçucu yağlarının antioksidan aktivitesinin *in vitro* değerlendirilmesini yapmışlardır. Çalışmada GC-MS analizi ile iki türden 16-18 arasında farklı bileşik tespit etmişlerdir. Defne yaprağında %91,2 oranında bulunan eugenol bileşiği Hindistan cevizinde %0,3 oranında bulunmuştur (Dorman ve ark., 2000).

4.1.1.3. Tarçın Esansiyel Yağı GC-MS Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Dört farklı tarçın (*Cinnamomum verum*) bitki türünün incelendiği bir çalışmada, GC-MS analizi ile yapılan içerik tayininde elde edilen sonuçlar ile bizim çalışmamızda elde edilen sonuçlar birbirine çok benzemektedir. Tarçın bitkisinin farklı türlerinin ve farklı konumlarda bulunanlarının benzer maddeler içerdiğini, sadece oranların çok küçük bir farkla değiştiği belirtilmiştir (Li ve ark., 2013). Tarçın esansiyel yağında %65,34 gibi oldukça fazla şekilde bulunan Cinnamaldehyde bileşiği tarçın dahil birçok bitkide ve işlenmiş gıdalara katılan baharatlarda bulunmaktadır (Friedman ve ark., 2000).

Tarçın esansiyel yağında %11,55 ile ikinci sırada bulunan α -copaene bileşiği Hindistan'ın güney kesimlerinde bozkırlarda yetişen topalak (*Cyperus rotundus L.*) bitkisinin kök ve yumrularında majör bileşik olarak raporlanmıştır. Bileşiğin koku aroması üzerine oldukça fazla etkisi olabileceği üzerinde durulmuştur (Jirovetz ve ark., 2004).

Hindistan, Tayland ve Buruma da yetişen forskolin (*Coleus forskohlii*) bitkisinin GC-MS analiz sonuçlarına göre %92,4 oranında α -Cadinene bileşiği içermektedir. Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında ise, bu oran %10,07 olarak bulunmuştur.

Zhang ve ark. (2016) yaptığı çalışmada tarçın esansiyel yağında %92,40 oranında cinnamaldehyde bileşiği tespit etmiştir (Zhang ve ark., 2016).

Burt ve ark. (2013) yayınladıkları makalede pirinç ve balık orijinli gıdalarda eser miktarda cinnamaldehyde bileşiğine rastlanıldığı belirtilmiştir. Ayrıca karanfil esansiyel yağının majör bileşiği olan eugenol ve Cinnamaldehyde arasında sinerjistik bir etki olabileceği belirtilmiştir (Turek ve Stintzing, 2013b).

Prabuseenivasan ve ark. (2006) yaptıkları çalışmada farklı esansiyel yağların değişken konsantrasyonlarda mikroorganizmalar ile etkileşimlerini belirlemişlerdir. Bu çalışmada tarçın kabuklarında %52,4 oranında cinnamaldehyde bileşiği olduğunu tespit etmişlerdir (Prabuseenivasan ve ark., 2006). Bu tez çalışmasında tespit edilen majör bileşiklerin

bulunma oranlarındaki farklılıkların, iklimsel ve coğrafi koşullar başta olmak üzere, kullanılan esansiyel yağ ekstraksiyon yöntemindeki farklılıklardan kaynaklanabileceği anlaşılmıştır.

4.1.2. DPPH Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Esansiyel yağların bir diğer önemli özelliği ise yüksek seviyede antioksidan kapasiteye sahip olmasıdır (Katalinić ve ark., 2010; Gülçin ve ark., 2012; El ve ark., 2014; Bülbül, 2016; Elshafie ve Camele, 2017; Teles ve ark., 2021). Bu tez çalışmasında, defne (*Laurus nobilis*) esansiyel yağı için %89,53 DPPH inhibisyonu yüksek bir değerdir. İzmir ve civarında toplanan defne yapraklarından yapılan çalışmada bu değer %83,3 te kalmıştır (El ve ark., 2014), Özcan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise %94,65 olarak ölçülmüştür. Bitkilerin antioksidan aktivitelerindeki farklılıklar esas olarak içerdikleri fenolik bileşikler ve uçucu yağların miktarına ve kompozisyonuna bağlıdır (Ozcan ve ark., 2010).

Defne esansiyel yağının 40'tan fazla bileşene sahip olduğu gerçekleştirilen bu tez çalışmasından ve geçmişte yapılan çalışmalardan bilinmektedir. Ölçümlerdeki bu değişiklikler defne yapraklarındaki uçucu bileşiklerin bileşiminin büyük ölçüde bitkilerin yaşına, kökenlerine, yaprakların toplanma zamanına ve süresine, saklanma koşullarına bağlı olduğu çalışmalarda belirtilmiştir (Sangun ve ark., 2007). Bitkinin yapısında bulunan uçucu aglikon gruplarındaki azalmanın antioksidan aktivitede bir azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. Defne esansiyel yağındaki uçucu aglikon fraksiyonunda bulunan bileşikler ise Eugenol ve metil Eugenol bileşikleridir. Bunların defne esansiyel yağının antioksidan aktivitesine katkıda bulunan bileşikler olduğu rapor edilmiştir. (El ve ark., 2014).

Bu tez çalışmasında, karanfil (*Syzygium aromaticum*) esansiyel yağı için elde edilen %91,64 lük DPPH inhibisyonu daha önce yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir (Jirovetz ve ark., 2006; Richter ve ark., 2014). Literatürde daha önceden gerçekleştirilmiş olan çalışmalarda, farklı çözügen kullanılarak elde edilen ekstraktların DPPH inhibisyon değerleri %10 ile %93 arasında değişiklik göstermektedir. Ayrıca, en yüksek verimli (%) inhibisyon sonuçlarının alkol distilasyonu ile elde edilen esansiyel yağlardan elde edildiği bildirilmiştir (Lee ve Shibamoto, 2001). Nassar ve ark. (2007) yaptığı çalışmada, karanfil bitkisi içerisinde bulunan eugenol, eugenol acetate ve thymol bileşikleri polar bir

çözücüde daha iyi çözündüğünü belirtmişlerdir. Bu tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen uçucu yağ distilasyonunda ise çözgen olarak su kullanılmıştır. Bu çalışma sonucunda elde edilen %93 lük DPPH inhibisyon değerine nazaran Nassar ve ark. (2007) en yüksek etkiyi alkol distilasyonu ile elde edilen karanfil uçucu yağından %95 DPPH inhibisyon değeri elde etmişlerdir (Richter ve ark., 2014).

Tarçın (*Cinnamomum verum*) esansiyel yağı için %93,52 DPPH inhibisyon değeri elde edilmiştir. Bu sonuç diğer iki esansiyel yağa göre en yüksek olanıdır. Lin ve arkadaşları (2009) da yaptığı bir çalışmada 42 farklı bitki çeşidinin DPPH değerlerini incelemiş ve en yüksek DPPH inhibisyon skorunu tarçın dan elde etmişlerdir (Lin ve ark., 2009). Bu açıdan bu tez çalışmasında elde edilen sonuç literatür ile benzerlik göstermektedir.

Ünal (2017) yaptığı çalışmada, içerisinde %28,85-33,37 arasında değişik oranlarda yağ bulunan sucuk örneklerinin tarçın esansiyel yağ karışımlarının antioksidan özelliklerini belirlemiştir. Çalışmanın sonucunda, tarçın ve karanfil esansiyel yağ ilaveli sucuk örneklerinin kontrol grubuna göre daha yüksek DPPH inhibisyon aktivitesine sahip olduğunu saptanmıştır. Kontrol grubu sucukların en düşük antioksidan aktivite etkiye sahip olduğunu, formülasyona ilave edilen karanfil ve tarçının antioksidan aktiviteyi artırdığını belirlemiştir (Ünal, 2017).

Brodowska ve ark. (2016) tarçın bitkisinin çin tarçını (*Cinnamomum cassia*) adında alt türündeki bitkisinin su kullanarak elde ettiği esansiyel yağının IC₅₀ değerini 42,03 ± 0.06 (µg/L) olarak tespit etmiştir (Brodowska ve ark., 2016).

Pashazadeh ve ark. (2020) yaptığı çalışmada darbeli elektrik alan destekli ekstraksiyon yönteminin verimini tespit etmişlerdir. Darbeli elektrik alanının optimal voltajı ve darbe sayısı (voltaj 5.12 kV/cm ve darbe sayısı 40 n), tarçın ekstraktının antioksidan ve fenolik aktivitesini güçlü bir şekilde etkilediği belirlenmiştir. Çalışmada maksimum DPPH oranı ise %86,94 olarak ölçülmüştür (Pashazadeh ve ark., 2020).

4.1.3. Mikrobiyal Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Farklı bitkisel kaynaklar kullanılarak elde edilen esansiyel yağlar geçmişten günümüze birçok araştırmada kullanılmıştır (Prabuseenivasan ve ark., 2006; Al-Otaibi ve El-Demerdash, 2008; Oyman, 2017; El Atki ve ark., 2019). Çalışmalarda elde edilen sonuçlardan, esansiyel yağların özellikle bakteriler üzerinde bakteriyosid etkisi olduğu

sonuçlarına varılmıştır. Nitekim bu tez çalışmasında da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Defne (*Laurus nobilis*) esansiyel yağı ile bu tez çalışması kapsamında elde edilen analiz sonuçları daha önceden literatür de gerçekleştirilmiş olan çalışmalar da rapor edilen test sonuçları ile birebir uyuşmaktadır (Sağdıç ve Özcan, 2002; Sangun ve ark., 2007; Nazzaro ve ark., 2013; Da Silveira ve ark., 2014). Defne esansiyel yağı ile yapılan küf denemelerinde ise kontrol numunesine karşı içerisinde defne esansiyel yağ bulunan petrilerde herhangi bir küf gelişimi görülmemiştir. Karanfil (*Syzygium aromaticum*) esansiyel yağ numunesi, en yüksek inhibisyon zonu değerini *Staphylococcus aureus* bakterisinde göstermiştir. İkincil en büyük inhibitör etkisi ise *Escherichia.coli* türlerine olmuştur.

Yapılan çalışmalarda karanfil (*Syzygium aromaticum*) esansiyel yağının bu bakterilerin hücre zarına zarar vererek hücrelerin ölümüne yol açtığını bildirilmiştir. Bu etkinin, ortamdaki Eugenol bileşiğinin hücre içindeki iyon konsantrasyon dengesini bozarak hücrenin parçalanmasına sebep olmasından kaynaklandığı raporlamıştır (Prabuseenivasan ve ark., 2006; Xu ve ark., 2016). Karanfil esansiyel yağının ortamdaki *Candida.albicans* maya türü üzerinde de etkinliği olduğu görülmektedir. Maya hücrelerinin esansiyel yağlarla etkileşmesinden sonra protein fraksiyonlarında ve maya enzimatik aktivitesinde değişimlerin meydana geldiği ve buna bağlı olarak hücre gelişiminin durduğu tahmin edilmektedir (Rajkowska ve ark., 2017).

Bu çalışmada, tarçın (*Cinnamomum verum*) esansiyel yağının aksine karanfil (*Syzygium aromaticum*) esansiyel yağı hem gram (+) hem de gram (-) bakteriler üzerine neredeyse eşit oranda etki ettiği Tablo 30'dan anlaşılmaktadır. Karanfil esansiyel yağı her iki bakteri çeşidine yaptığı bu etkinin yapısında çok miktarda Eugenol bileşiğinden kaynaklandığı sonucuna varılabilir (Solórzano-Santos ve Miranda-Novales, 2012; Turek ve Stintzing, 2013b). Tablo 30 incelendiğinde, yapılan testlerde tarçın (*Cinnamomum verum*) esansiyel yağı numunesinin bakteriler üzerinde en çok *E. coli* ATCC 11230 suşu üzerinde bakteriyosid etki gösterdiği görülmektedir. Tarçın esansiyel yağının, $33,9750 \pm 0,51617$ mm gibi oldukça yüksek inhibisyon zonu değerine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu değer ile *E. coli* gibi oldukça patojen bir bakteri üzerinde etkisi çok önemlidir. İkincil büyük bakteriyosid etki görülen tür ise *Bacillus cereus*'dur. İnsanlar için tehlikeli patojen bakterilerden olan *B. cereus*'a karşı $32,9675 \pm 0,64148$ mm gibi oldukça yüksek bir

inhibisyon zonu değeri elde etmiştir. Bu değerler tarçın esansiyel yağının bakterileri inhibe etmek için kullanılabilir olduğunu göstermektedir. En düşük inhibisyon zonu değeri ise *P. mirabilis* bakteriyel suşunda gözlemlenmiştir, $23,2202 \pm 0,19162$ mm inhibisyon zonuyla etkinlik gösteren tarçın esansiyel yağı gram (-) bakteriler üzerinde etkisinin diğerlerine oranla daha az olduğunu görünmektedir.

Tarçın kabuğundan elde edilen esansiyel yağlar gram (+) bakteriler üzerine daha etkili olduğu raporlanmıştır. Chao ve arkadaşlarının (2000) yaptığı çalışmayı da göz önünde bulundurarak şöyle bir sonuç çıkarılabilir; gram (-) bakteriler, lipopolisakkarit, fosfolipid ve bir miktar proteinden oluşan bir dış zarla kaplı hücre duvarına sahip olduklarından, bu yapı ya yağların alımını engelleyebilir ya da peptidoglikan tabakasını yağlardan koruyabilir (Turek ve Stintzing, 2013b). Gram negatif (-) bakterilerin dış lipopolisakkarit (LPS) zarı, hücre içine girebilen ve büyümesini engelleyebilen hidrofobik maddelere karşı bir bariyer vazifesi sunar. Gram pozitif (+) bakterilerde peptidoglikan tabakası daha dışarıdadır ve yağlarla temasa daha müsaittir. Esansiyel yağlardaki antimikrobiyal bileşiklerin bazıları bu kategoriye girebilir. Bu da gram negatif (-) bakterilerin belirli yağlara karşı artan direncini açıklayabilir. Çünkü bu yağ bileşenleri hücreye giremediği için gram negatif (-) bakterilere zarar veremez (Chao ve ark., 2000). Bu tez çalışmasında tarçın esansiyel yağının gram negatif (-) bakteriler üzerinde düşük etkinlik göstermesinin sebebinin bu olduğu sonucuna varılmıştır.

Bu tez çalışması kapsamında, tarçın esansiyel yağları ile yapılan küf analizlerinde tarçın esansiyel yağı numunesinin bulunduğu petrilere herhangi bir küf gelişimi görülmemiştir. Kontrol petrisinde *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* küfleri aynı süre içerisinde gelişme gösterdiği halde tarçın esansiyel yağı bulunan petrilere herhangi bir gelişme görülmemiştir. Tarçın esansiyel yağının bulunduğu ortamlarda küf gelişimini durdurduğu sonucuna varılmıştır.

Silveria ve arkadaşlarının (2014) toskana sosislerinin kontaminasyona bağlı olarak patojen mikroorganizma gelişimini engellemek için defne esansiyel yağı ile yaptığı çalışmada, mikroorganizmalara karşı defne esansiyel yağının MİK değerini belirlemiştir. Elde ettiği sonuçlar ile bu çalışmada elde edilen sonuçlar arasında benzerlik olduğu gözlenmiştir (Da Silveira ve ark., 2014). Nafis ve arkadaşlarının (2020) Fas'ta yetişen

Laurus nobilis L. (defne, Lauraceae) ve *Prunus armeniaca* L. (kayısı, Rosaceae) ağaçlarından elde ettiği esansiyel yağlar ile *C. albicans* ile yaptığı çalışmada MİK değerini 11.70 bulmuştur. Bu çalışmada ise çok az bir farkla 10 olarak tespit edilmiştir (Nafis ve ark., 2020). Elde edilen MİK değerleri daha önceden yapılan çalışmalara benzemektedir. Biberiye (*Salvia rosmarinus*) ve karanfil (*Syzygium aromaticum*) esansiyel yağının insan patojeni bakteriler ve küfler üzerine sinerjik etkisini araştıran bir çalışmada yapılan MİK analizinde de benzer sonuçlar elde edilmiştir (Fu ve ark., 2007). Tarçın (*Cinnamomum verum*) esansiyel yağının antibiyotikler ile kombinasyon halinde kullanılmasında ne gibi bir etkinin görüldüğünü araştıran bir çalışmada sadece tarçın esansiyel yağı, *Staphylococcus aureus* 'a karşı 4.88 µL/mL MİK değeri tespit edilmiştir. Yine aynı çalışmada *Escherichia coli* ATCC 25922 için 4.88 µL/ml ve *Pseudomonas aeruginosa* için 19.53 µL/mL ölçülmüştür (El Atki ve ark., 2019). Tarçın esansiyel yağının bakteriler üzerindeki etkisinin mekanizmasını ortaya koyan bir çalışmada ise ölçülen MİK değerleri bu çalışmada elde edilenlerle oldukça yakın olduğu anlaşılmıştır (Cui ve ark., 2016).

Esansiyel yağların gıdalarda, var olanlara alternatif koruyucu olarak kullanılması literatürde çokça çalışılan bir konu olmuştur. Konsantre yoğurda (labne) kekik, mercanköşk ve adaçayı olmak üzere üç uçucu yağ, 0,2, 0,5 ve 1,0 ppm konsantrasyonlarında ilave edilerek gerçekleştirilen bir çalışmada, esansiyel yağların labnenin kimyasal, mikrobiyolojik ve organoleptik özellikleri üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir. Muamele edilen labne örneklerinde mayalar ve küfler, bakteriler ve spor oluşturan bakteriler tespit edilmemiştir. Çalışmanın sonucunda, labnenin raf ömrünü 21 güne kadar artırmak için 0,2 ppm kekik, mercanköşk veya adaçayı kullanılabileceği sonucuna varılmıştır (Al-Otaibi ve El-Demerdash, 2008). Bazı kekik türleri (*Oreganum compactum* ve *Thymus zygisct Thymol*) ve tarçın (*Cinnamomum zeylanicum*) esansiyel yağları kullanılarak yapılan bir çalışmada marine (10% NaCl, 2% laktik asit, pH 4.5) edilmiş balık, tavuk ve bazı kırmızı etlerin esansiyel yağ eklenmesi durumunda mikroorganizma gelişiminin ne yönde etkileneceği araştırılmıştır. Çalışma sonucunda sadece marinasyon yapılarak hazırlanan etlerde mikroorganizma gelişiminin durdurulamadığı tespit edilmiştir. Düşük konsantrasyonlarda uygulanan tarçın (*Cinnamomum verum*), kekik (*Oreganum compactum*) esansiyel yağları, marinasyon karışımı içinde uygulandığında et/balık ürünleri üzerindeki bozulmaya neden olan

mikroorganizmalarının gelişimini yavaşlatma (mikrobiyal raf ömrünü uzatma) potansiyeli gösterdiği tespit edilmiştir. Esansiyel yağ kombinasyonlarının, antimikrobiyal spektrumu arttırmak için bir strateji olabileceği tartışılmıştır. Tarçın (*Cinnamomum verum*) esansiyel yağının diğer iki esansiyel yağ örneklerine nazaran daha etkili olduğu belirlenmiştir (Van Haute ve ark., 2016). Yapılan çalışmalar ışığında esansiyel yağların gıdalarda koruyucu etkisi olduğu kaçınılmaz bir gerçektir. Literatürde hiç rastlanılmamış salça ile beraber kullanıldığında oluşan etkisi bu tez çalışması ile ispatlanmıştır.

4.1.4. Zeta Potansiyeli ve Parçacık Boyutu Analizlerinin Değerlendirilmesi

Mutlu ve ark. (2020) yaptıkları çalışmada kimyon, dereotu otu, rezene, zencefil ve kekik bitkilerinin esansiyel yağlarının zeta potansiyeli ve parçacık boyutunu ölçmüşlerdir. Ayrıca çalışmada bu bitkilerin esansiyel yağlarının *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* bakteri suşlarına karşı etkinliklerini incelemişlerdir. Çalışmada ölçülen parçacık boyutları 554,90 nm ile 972 nm arasında değişiklik göstermekte olduğu belirlenmiştir (Mutlu-Ingok ve ark., 2020). Bu tez çalışması kapsamında, parçacık boyutu analizinde ise değerler 117,28 nm ile 214,96 nm arasında değişmektedir. Çalışmamızda hazırladığımız esansiyel yağ çözeltileri 3 dakika boyunca Ultra-Turrax (Heidolph DiAx900 ultra turrax) cihazı ile 9000 rpm de karıştırıldığı için parçacık boyutlarında düşük sonuçlar elde edildiği sonucuna varılmıştır. Ultra-Turrax cihazının yüksek devirlerde dönmesi sonucunda bütün halde bulunan yağ parçacıkları daha küçük parçalara bölünmüştür. Tween 80 emülgatörü tarafından çevrilen yağ damlacıkları tekrar birleşemeyip stabil bir kolloid dispers yapının meydana geldiği anlaşılmıştır.

Yaptığımız çalışmada esansiyel yağ çözeltilerinin zeta potansiyeli değerleri -10,7 mV ile 15,9 mV arasında değişmektedir. Mutlu ve ark. (2020) yaptıkları çalışmada esansiyel yağların zeta potansiyel ölçüm değerleri -14,97 mV ile 23,48 mV arasında ölçülmüştür. Ölçülen bileşiklerin saf esansiyel yağ olduğu unutulmamalıdır. Bu tez çalışmasında, kullanılan kolloid çözelti formülasyonunun saf esansiyel yağın zeta potansiyeli sonuçlarına yaklaştığı görülmektedir (Mutlu-Ingok ve ark., 2020).

Sonuç olarak yapılan çalışmadan elde ettiğimiz çıkarım ve öneriler şu şekildedir:

- Bitkisel kaynaklardan saf su kullanarak hidrodestilasyon yolu ile elde edilen esansiyel yağların antimikrobiyal madde olarak kullanılabileceği tespit edilmiştir. Bu

kapsamda ileride yapılacak olacak çalışmalarda defne (*Laurus nobilis*), karanfil (*Syzygium aromaticum*) ve tarçın (*Cinnamomum verum*) bitkilerinden hidrodistilasyon yöntemi ile elde edilen esansiyel yağların antibakteriyel olarak özellikle patojen bakteriler için kullanılabilirler. Esansiyel yağlar içinde tarçın (*Cinnamomum verum*) esansiyel yağının bakteriler üzerinde açık ara en etkili esansiyel yağdır. Elde edilen esansiyel yağların bakteriler üzerinde bakteriyosid etkili olduğu özellikle gram (+) bakterilere spesifik çalışmalarda kullanılabileceği anlaşılmıştır.

- Esansiyel yağların antioksidan özelliklerinin çok iyi olduğu özellikle tarçın (*Cinnamomum verum*) esansiyel yağının %93,52 oranında DPPH radikal süpürme aktivitesi gösterdiği açığa çıkarılmıştır. Yapılacak olan çalışmalarda önemli bir antioksidan süpürücü olarak kullanılabilir.
- Esansiyel yağların insan vücudu için toksik olmadığı hatta tarçın (*Cinnamomum verum*) ve karanfil (*Syzygium aromaticum*) esansiyel yağlarının, L-929 (Fare subkutansöz bağdokusu) hücre hattı üzerinde proliferatif etki (bölünerek çoğalmayı teşvik edici) sağladığı yapılan test ile belirlenmiştir. Bu esansiyel yağların canlı hücre hattı üzerinde sitotoksik etkisinin olmadığı, aksine hücre yenileyici etki gösterdiği açığa çıkmıştır. Bunun sonucu olarak, kullanılan esansiyel yağlar kozmetik sanayisinde kullanılabilirler.
- Tez kapsamında elde edilen esansiyel yağların salça model gıda ortamında koruyucu olarak kullanıldığında 25 günlük depolamada %1 ve %1,5 konsantre içerikli esansiyel yağ kullanımının bakteri, maya ve küfler üzerinde mikrobiyosid etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Dolayısıyla sanayi ölçeğinde salça üretiminde tarçın ve karanfil esansiyel yağlarının kullanılması değerlendirilebilir.
- Esansiyel yağlar kullanılarak oluşturulan homojen çözeltilerin parçacık boyutu mikro düzeyde olup, depolama süresince stabilitesini koruduğu gözlemlenmiştir. Esansiyel yağların hacmini arttırmak amacıyla uygun bir emülgatör kullanarak çözelti hazırlanıp daha geniş ölçekler de kullanılabilir.
- Esansiyel yağ karışımlarının patojen bakteriler üzerinde inhibe edici etkisinin olduğu ve el dezenfektanı olarak kullanılma potansiyeli olacağı sonucuna varılmıştır.

KAYNAKÇA

1. Adinew, B. 2014. GC-MS and FT-IR analysis of constituents of essential oil from Cinnamon bark growing in South-west of Ethiopia, **International Journal of Herbal Medicine**, **1**(6), 22–31.
2. Al-Otaibi, M. ve El-Demerdash, H. 2008. Improvement of the quality and shelf life of concentrated yoghurt (labneh) by the addition of some essential oils, **African Journal of Microbiology Research**, **2**(7), 156–161.
3. Alqareer, A., Alyahya, A. ve Andersson, L. 2006. The effect of clove and benzocaine versus placebo as topical anesthetics, **Journal of Dentistry**, **34**(10), 747–750.
4. Amelia, B., Saepudin, E., Cahyana, A. H., Rahayu, D. U., Sulistyoningrum, A. S. ve Haib, J. 2017. GC-MS analysis of clove (*Syzygium aromaticum*) bud essential oil from Java and Manado, **AIP Conference Proceedings**, **2**(32), 1-15.
5. Andersen, F. A. 2001. Final report on the safety assessment of Benzyl Alcohol, Benzoic Acid, and Sodium Benzoate, **International Journal of Toxicology**, **20**(SUPPL. 3), 23–50.
6. Andersson, A., R  nner, U. ve Granum, P. E. 1995. What problems does the food industry have with the spore-forming pathogens *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens*?, **International Journal of Food Microbiology**, **28**(2), 145–155.
7. El Atki, Y., Aouam, I., El Kamari, F., Taroq, A., Nayme, K., Timinouni, M., Lyoussi, B. ve Abdellaoui, A. 2019. Antibacterial activity of cinnamon essential oils and their synergistic potential with antibiotics, **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research**, **10**(2), 63–67.
8. Aydemir, Ő.,      , N., Gülay, Z., G  r, D., Hasdemir, U., Karahan, Z. C., Karatuna, O., Kayacan, Z.    ve Söyletir, G. 2016. Antibiyotik Duyarlılık Testleri, EUCAST: Uygulama, Yorum ve Uzman Kurallar, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi. Editör Deniz G  r. Ankara, 46, 11–25.
9. Bintsis, T. 2017. Foodborne pathogens, **AIMS Microbiology**, **3**(3), 529–563.
10. Braun, N. A., Meier, M., Kohlenberg, B. ve Hammerschmidt, F. J. 2001. δ -Terpinyl

acetate. A new natural component from the essential leaf oil of *Laurus nobilis* L. (Lauraceae), **Journal of Essential Oil Research**, **13**(2), 95–97.

11. Brodowska, K. M., Brodowska, A. J., Śmigielski, K. ve Łodyga-chruścińska, E. 2016. Antioxidant profile of essential oils and extracts of cinnamon bark (*Cinnamomum cassia*), **European Journal of Biological Research Research**, **6**(4), 310–316.
12. Buchanan, R. L., Gorris, L. G. M., Hayman, M. M., Jackson, T. C. ve Whiting, R. C. 2017. A review of *Listeria monocytogenes*: An update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology, and risk assessments, **Food Control**, **75**(2), 1–13.
13. Bülbül, L. E., 2016., Erzurum’da Yetişen Bazı Bitki Türlerinin Uçucu Yağlarının Bileşenleri, Antimikrobiyal ve Antioksid Aktiviteleri. Atatürk Üniversitesi, Doktora Tezi, Erzurum 119 s.
14. Chang, A., Schnall, A. H., Law, R., Bronstein, A. C., Marraffa, J. M., Spiller, H. A., Hays, H. L., Funk, A. R., Mercurio-Zappala, M., Calello, D. P., Aleguas, A., Borys, D. J., Boehmer, T. ve Svendsen, E. 2020. Cleaning and Disinfectant Chemical Exposures and Temporal Associations with COVID-19 — National Poison Data System, United States, January 1, 2020–March 31, 2020, MMWR. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, **69**(16), 496–498.
15. Chao, S. C., Young, D. G. ve Oberg, C. J. 2000. Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses, **Journal of Essential Oil Research**, **12**(5), 639–649.
16. Chowdhury, S. ve Kumar, S. 2020. Alpha-terpinyl acetate: A natural monoterpenoid from *Elettaria cardamomum* as multi-target directed ligand in Alzheimer’s disease, **Journal of Functional Foods**, **68**(6), 100–120.
17. Christen, P. ve Kaufmann, B. 2002. Recent Extraction Techniques for Natural Products : Microwave-assisted Extraction and Pressurised Solvent Extraction, **Phytochemical Analysis**, **113**(13), 105–113.
18. Christiansen, L. N., Johnston, R. W., Kautter, D. A., Howard, J. W. ve Aunan, W. J. 1973. Effect of Nitrite and Nitrate on Toxin Production by *Clostridium botulinum* and on Nitrosamine Formation in Perishable Canned Comminuted Cured Meat ,

Applied Microbiology, 25(3), 357–362.

19. Cui, H. Y., Zhou, H., Lin, L., Zhao, C. T., Zhang, X. J., Xiao, Z. H. ve Li, C. Z. 2016. Antibacterial activity and mechanism of cinnamon essential oil and its application in milk, **Journal of Animal and Plant Sciences**, 26(2), 532–541.
20. Dao, T. P., Tran, N. Q., Tran, T. T. ve Lam, V. T. 2021. Assessing the kinetic model on extraction of essential oil and chemical composition from lemon peels (*Citrus aurantifolia*) by hydro-distillation process, **Materials Today: Proceedings**, 51(4), 172–177.
21. Diomande, G. D., Koffi, A. M., Tonzibo, Z. F., Bedi, G. ve Figueredo, G. 2012. GC and GC-MS Analysis of essential oil of five *Aframomum* species from Cote d'Ivoire., **Middle-East J.Sci.Res.**, 11(6), 808–813.
22. Domadia, P., Swarup, S., Bhunia, A., Sivaraman, J. ve Dasgupta, D. 2007. Inhibition of bacterial cell division protein FtsZ by cinnamaldehyde, **Biochemical Pharmacology**, 74(6), 831–840.
23. Dorman, H. J. D., Figueiredo, A. C., Barroso, J. G. ve Deans, S. G. 2000. In vitro evaluation of antioxidant activity of essential oils and their components, **Flavour and Fragrance Journal**, 15(1), 12–16.
24. El, K. ve Paul A., G. 2011. The use of food preservatives, **Leatherhead Food Research**, 22(3), 22–23.
25. El, S. N., Karagozlu, N., Karakaya, S. ve Sahin, S. 2014. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential Oils Extracted from *Laurus nobilis* L. Leaves by Using Solvent-Free Microwave and Hydrodistillation, **Food and Nutrition Sciences**, 05(02), 97–106.
26. Elshafie, H. S. ve Camele, I. 2017. An overview of the biological effects of some mediterranean essential oils on human health, **BioMed Research International**, 1(1), 1–14.
27. Erkekoğlu, P. ve Baydar, T. 2021. Güncel in vitro sitotoksikite testleri, **Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy**, 41(1), 45–63.
28. FDA 2012. Bad bug book: Handbook of Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins, Bad bug book: Handbook of Foodborne Pathogenic Microorganisms

and Natural Toxins, 292.

29. Friedman, M., Kozukue, N. ve Harden, L. A. 2000. Cinnamaldehyde content in foods determined by gas chromatography-mass spectrometry, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **48**(11), 5702–5709.
30. Fu, Y. J., Zu, Y. G., Chen, L. Y., Shi, X. G., Wang, Z., Sun, S. ve Efferth, T. 2007. Antimicrobial activity of clove and rosemary essential oils alone and in combination, **Phytotherapy Research**, **21**(10), 989–994.
31. García, A., Fox, J. G. ve Besser, T. E. 2010. Zoonotic enterohemorrhagic escherichia coli: A one health perspective, **ILAR Journal**, **51**(3), 221–232.
32. Geda, Y. E., Schneider, L. S., Gitlin, L. N., Miller, D. S., Smith, G. S., Bell, J., Evans, J., Lee, M., Porsteinsson, A., Lanctôt, K. L., Rosenberg, P. B., Sultzer, D. L., Francis, P. T., Brodaty, H., Padala, P. P., Onyike, C. U., Ortiz, L. A., Ancoli-Israel, S., Bliwise, D. L., Martin, J. L., Vitiello, M. V., Yaffe, K., Zee, P. C., Herrmann, N., Sweet, R. A., Ballard, C., Khin, N. A., Alfaro, C., Murray, P. S., Schultz, S. ve Lyketsos, C. G. 2013. Neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease: Past progress and anticipation of the future, **Alzheimer's and Dementia**, **9**(5), 602–608.
33. Gülçin, I., Elmastaş, M. ve Aboul-Enein, H. Y. 2012. Antioxidant activity of clove oil - A powerful antioxidant source, **Arabian Journal of Chemistry**, **5**(4), 489–499.
34. Gutierrez, J., Barry-Ryan, C. ve Bourke, P. 2008. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients, **International Journal of Food Microbiology**, **124**(1), 91–97.
35. Van Haute, S., Raes, K., Van der Meeren, P. ve Sampers, I. 2016. The effect of cinnamon, oregano and thyme essential oils in marinade on the microbial shelf life of fish and meat products, **Food Control**, **68**(3), 30–39.
36. Hyldgaard, M., Mygind, T. ve Meyer, R. L. 2012. Essential oils in food preservation: Mode of action, synergies, and interactions with food matrix components, **Frontiers in Microbiology**, **3**(12), 1–24.
37. Jain, S. R. ve Kar, A. 1971. The antibacterial activity of some essential oils and their combinations., **Planta medica**, **20**(2), 118–123.
38. Jirovetz, L., Buchbauer, G., Stoilova, I., Stoyanova, A., Krastanov, A. ve Schmidt,

- E. 2006. Chemical composition and antioxidant properties of clove leaf essential oil, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **54**(17), 6303–6307.
39. Jirovetz, L., Wobus, A., Buchbauer, G., Shafi, M. P. ve Thampi, P. T. 2004. Comparative analysis of the essential oil and SPME-headspace aroma compounds of *Cyperus rotundus* L. roots/tubers from south-india using GC, GC-MS and olfactometry, **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, **7**(2), 100–106.
 40. Katalinić, V., Možina, S. S., Skroza, D., Generalić, I., Abramović, H., Miloš, M., Ljubenković, I., Piskernik, S., Pezo, I., Terpinč, P. ve Boban, M. 2010. Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 *Vitis vinifera* varieties grown in Dalmatia (Croatia), **Food Chemistry**, **119**(2), 715–723.
 41. Keleş, F. 1989. Kükürt Dioksit ve Gıdalarda Kullanılması, **Gıda**, **14**(3), 159–164.
 42. Lee, K. G. ve Shibamoto, T. 2001. Antioxidant property of aroma extract isolated from clove buds [*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry], **Food Chemistry**, **74**(4), 443–448.
 43. Li, Y. Q., Kong, D. X. ve Wu, H. 2013. Analysis and evaluation of essential oil components of cinnamon barks using GC-MS and FTIR spectroscopy, **Industrial Crops and Products**, **41**(1), 269–278.
 44. Lin, C. W., Yu, C. W., Wu, S. C. ve Yih, K. H. 2009. DPPH free-radical scavenging activity, total phenolic contents and chemical composition analysis of forty-two kinds of essential oils, **Journal of Food and Drug Analysis**, **17**(5), 386–395.
 45. Lucca, L. G., de Matos, S. P., Borille, B. T., Dias, D. de O., Teixeira, H. F., Veiga, V. F., Limberger, R. P. ve Koester, L. S. 2015. Determination of β -caryophyllene skin permeation/retention from crude copaiba oil (*Copaifera multijuga* Hayne) and respective oil-based nanoemulsion using a novel HS-GC/MS method, **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, **104**(12), 144–148.
 46. Lucera, A., Costa, C., Conte, A. ve Del Nobile, M. A. 2012. Food applications of natural antimicrobial compounds, **Frontiers in Microbiology**, **3**(287), 1–13.
 47. McDonnell, G. ve Russell, A. D. 1999. Antiseptics and disinfectants: Activity, action, and resistance, **Clinical Microbiology Reviews**, **12**(1), 147–179.

48. Murata, S., Shiragami, R., Kosugi, C., Tezuka, T., Yamazaki, M., Hirano, A., Yoshimura, Y., Suzuki, M., Shuto, K., Ohkohchi, N. ve Koda, K. 2013. Antitumor effect of 1, 8-cineole against colon cancer, **Oncology Reports**, **30**(6), 2647–2652.
49. Mutlu-Ingok, A., Firtin, B., Karbancioglu-Guler, F. ve Altay, F. 2020. A study on correlations between antimicrobial effects and diffusion coefficient, zeta potential and droplet size of essential oils, **International Journal of Food Engineering**, **16**(11), 1–15.
50. Nafis, A., Kasrati, A., Jamali, C. A., Custódio, L., Vitalini, S., Iriti, M. ve Hassani, L. 2020. A comparative study of the in vitro antimicrobial and synergistic effect of essential oils from laurus nobilis L. And prunus armeniaca L. from Morocco with antimicrobial drugs: New approach for health promoting products, **Antibiotics**, **9**(140), 1–10.
51. Nagababu, E. ve Lakshmaiah, N. 1994. Inhibition of microsomal lipid peroxidation and monooxygenase activities by eugenol, **Free Radical Research**, **20**(4), 253–266.
52. Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R. ve De Feo, V. 2013. Effect of essential oils on pathogenic bacteria, **Pharmaceuticals**, **6**(12), 1451–1474.
53. Ouattara, B., Simard, R. E., Holley, R. A., Piette, G. J. P. ve Bégin, A. 1997. Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms, **International Journal of Food Microbiology**, **37**(2–3), 155–162.
54. Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L. ve Lacroix, M. 2007. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E. coli O157:H7, Salmonella Typhimurium, Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes, **Food Control**, **18**(5), 414–420.
55. Oyman, B. U. 2017. Essential Oil Analysis of Some Plant Species and Antimicrobial Activities. Yeditepe Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 71s.
56. Ozcan, B., Esen, M., Kemal Sangun, M., Coleri, A. ve Caliskan, M. 2010. Effective antibacterial and antioxidant properties of methanolic extract of Laurus nobilis seed oil, **Journal of Environmental Biology**, **31**(5), 637–641.
57. Ozturk, G., Yetiman, A. E. ve Dogan, 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.

58. Pashazadeh, B., Elhamirad, A. H., Hajnajari, H., Sharayei, P. ve Armin, M. 2020. Optimization of the pulsed electric field -assisted extraction of functional compounds from cinnamon, **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, **23**(1), 101461.
59. Peris, I. ve Blázquez, M. A. 2015. Comparative GC-MS analysis of bay leaf (*Laurus nobilis* L.) essential oils in commercial samples, **International Journal of Food Properties**, **18**(4), 757–762.
60. Prabuseenivasan, S., Jayakumar, M. ve Ignacimuthu, S. 2006. In vitro antibacterial activity of some plant essential oils, **BMC Complementary and Alternative Medicine**, **6**(2), 1–8.
61. Pramod, K., Ansari, S. H. ve Ali, J. 2010. Eugenol: A natural compound with versatile pharmacological actions, **Natural Product Communications**, **5**(12), 1999–2006.
62. Raina, V. K., Srivastava, S. K., Aggarwal, K. K., Syamasundar, K. V. ve Kumar, S. 2001. Essential oil composition of *Syzygium aromaticum* leaf from Little Andaman, India, **Flavour and Fragrance Journal**, **16**(5), 334–336.
63. Rajkowska, K., Otlewska, A., Kunicka-Styczyńska, A. ve Krajewska, A. 2017. *Candida albicans* impairments induced by peppermint and clove oils at sub-inhibitory concentrations, **International Journal of Molecular Sciences**, **18**(6), 1–11.
64. Richter, M., Winkel, A. F., Schummer, D., Gerlitz, M., de Hoop, M., Brunner, B., Glien, M. ve Schmoll, D. 2014. Pau d'arco activates Nrf2-dependent gene expression via the MEK/ERK-pathway, **Journal of Toxicological Sciences**, **39**(2), 353–361.
65. Rutala, W. A. ve Weber, D. J. 2016. Disinfection, sterilization, and antisepsis: An overview, **American Journal of Infection Control**, **44**(5), e1–e6.
66. Sağdıç, O. ve Özcan, M. 2002. Antibacterial activity of Turkish spice hydrosols,

Food Control, **14**(3), 141–143.

67. Samadi, M., Abidin, zurina zainal, Yunus, R., Awang Biak, D. R., Yoshida, H. ve Lok, E. H. 2017. Assessing the kinetic model of hydro-distillation and chemical composition of *Aquilaria malaccensis* leaves essential oil, **Chinese Journal of Chemical Engineering**, **25**(2), 216–222.
68. Samara, F., Badran, R. ve Dalibalta, S. 2020. Are Disinfectants for the Prevention and Control of COVID-19 Safe?, **Health Security**, **18**(6), 496–498.
69. Sangun, M. K., Aydin, E., Timur, M., Karadeniz, H., Caliskan, M. ve Ozkan, A. 2007. Comparison of chemical composition of the essential oil of *Laurus nobilis* L. leaves and fruits from different regions of Hatay, Turkey, **Journal of Environmental Biology**, **28**(4), 731–733.
70. Santos, F. A. ve Rao, V. S. N. 2000. Antiinflammatory and antinociceptive effects of 1,8-cineole a terpenoid oxide present in many plant essential oils, **Phytotherapy Research**, **14**(4), 240–244.
71. Schenck, F. J., Callery, P., Gannett, P. M., Daft, J. R. ve Lehotay, S. J. 2002. Comparison of magnesium sulfate and sodium sulfate for removal of water from pesticide extracts of foods, **Journal of AOAC International**, **85**(5), 1177–1180.
72. Shen, S., Zhang, T., Yuan, Y., Lin, S., Xu, J. ve Ye, H. 2015. Effects of cinnamaldehyde on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* membrane, **Food Control**, **47**(25), 196–202.
73. Da Silveira, S. M., Luciano, F. B., Fronza, N., Cunha, A., Scheuermann, G. N. ve Vieira, C. R. W. 2014. Chemical composition and antibacterial activity of *Laurus nobilis* essential oil towards foodborne pathogens and its application in fresh Tuscan sausage stored at 7°C, **LWT - Food Science and Technology**, **59**(1), 86–93.
74. Singh Kumar, M. ve Singh, N. 2011. Comparison of antimicrobial activity of herbs & spices and their phytochemical determination, **International Journal of Green Pharmacy**, **5**(3), 229–235.
75. Smith, R. L., Cohen, S. M., Doull, J., Feron, V. J., Goodman, J. I., Marnett, L. J., Portoghese, P. S., Waddell, W. J., Wagner, B. M., Hall, R. L., Higley, N. A., Lucas-Gavin, C. ve Adams, T. B. 2005. A procedure for the safety evaluation of natural

- flavor complexes used as ingredients in food: Essential oils, **Food and Chemical Toxicology**, **43**(3), 345–363.
76. Solórzano-Santos, F. ve Miranda-Novales, M. G. 2012. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents, **Current Opinion in Biotechnology**, **23**(2), 136–141.
 77. Standardization, E. C. for 1999. Biological Evaluation of Medical Devices - Part 5: Tests for in Vitro Cytotoxicity (ISO 10993-5:1999), TS EN ISO 10993-5. (Web Sayfası:
<https://intweb.tse.org.tr/Standard/Standard/Standard.aspx?081118051115108051104119110104055047105102120088111043113104073089106102050106050101105074084068>), (Erişim Tarihi: Ocak 2022)
 78. Subash Babu, P., Prabuseenivasan, S. ve Ignacimuthu, S. 2007. Cinnamaldehyde-A potential antidiabetic agent, **Phytomedicine**, **14**(1), 15–22.
 79. Sufriadi, E., Meilina, H., Munawar, A. A., Muhammad, S. ve Idroes, R. 2021. Identification of β -Caryophyllene (BCP) in Aceh patchouli essential oil (PEO) using gas chromatography-mass spectrophotometry (GC-MS), IOP Conference Series: **Earth and Environmental Science**, **667**(1), 012032.
 80. Teles, A. M., Silva-Silva, J. V., Fernandes, J. M. P., Abreu-Silva, A. L., Calabrese, K. D. S., Mendes Filho, N. E., Mouchrek, A. N. ve Almeida-Souza, F. 2021. GC-MS Characterization of Antibacterial, Antioxidant, and Antitrypanosomal Activity of *Syzygium aromaticum* Essential Oil and Eugenol, **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, **20**(3), 1–12.
 81. Turek, C. ve Stintzing, F. C. 2013a. Stability of essential oils: A review, **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, **12**(1), 40–53.
 82. Turek, C. ve Stintzing, F. C. 2013b. Stability of essential oils: A review, **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, **12**(1), 40–53.
 83. Turner, P., Saeed, B. ve Kelsey, M. C. 2004. Dermal absorption of isopropyl alcohol from a commercial hand rub: Implications for its use in hand decontamination, **Journal of Hospital Infection**, **56**(4), 287–290.
 84. Ultee, A., Bennik, M. H. J. ve Moezelaar, R. 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*,

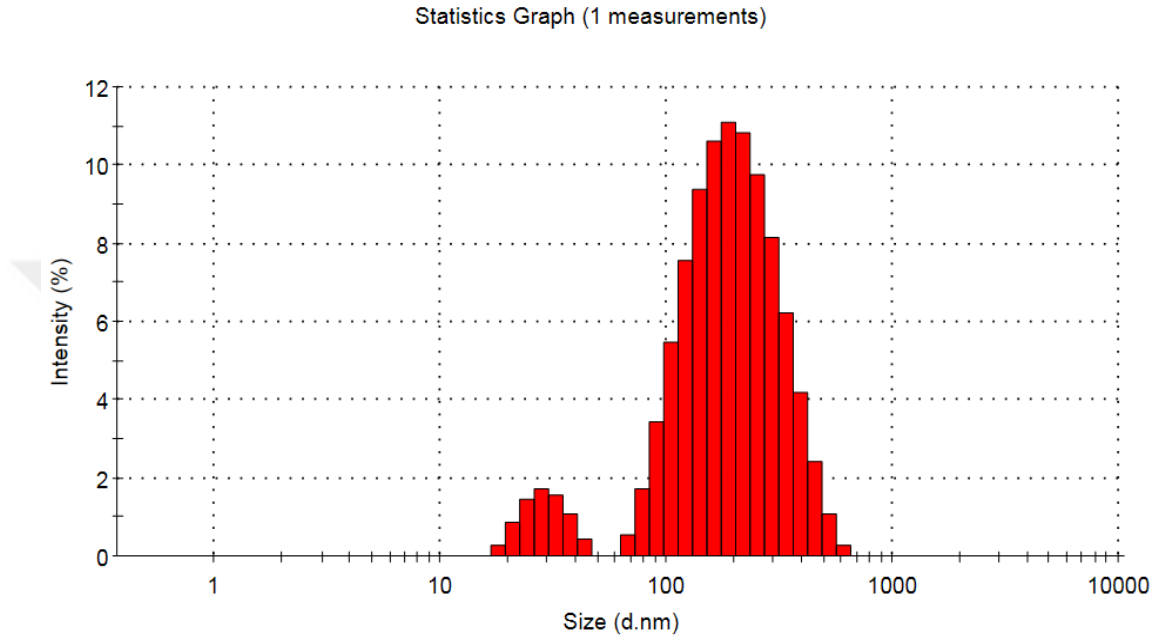
Applied and Environmental Microbiology, 68(4), 1561–1568.

85. Ünal, K. 2017. Farklı Hayvansal Yağlar İlave Edilerek Üretilen Sucukların Bazı Fizikokimyasal Özellikleri Üzerine Karanfil ve Tarçının Etkisi, **Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi**, 14(03), 55–65.
86. Wiegand, I., Hilpert, K. ve Hancock, R. E. W. 2008. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances, **Nature Protocols**, 3(2), 163–175.
87. Xu, J. G., Liu, T., Hu, Q. P. ve Cao, X. M. 2016. Chemical composition, antibacterial properties and mechanism of action of essential oil from clove buds against staphylococcus aureus, **Molecules**, 21(9), 1–13.
88. Zhang, Y., Liu, X., Wang, Y., Jiang, P. ve Quek, S. Y. 2016. Antibacterial activity and mechanism of cinnamon essential oil against Escherichia coli and Staphylococcus aureus, **Food Control**, 59(6), 282–289.

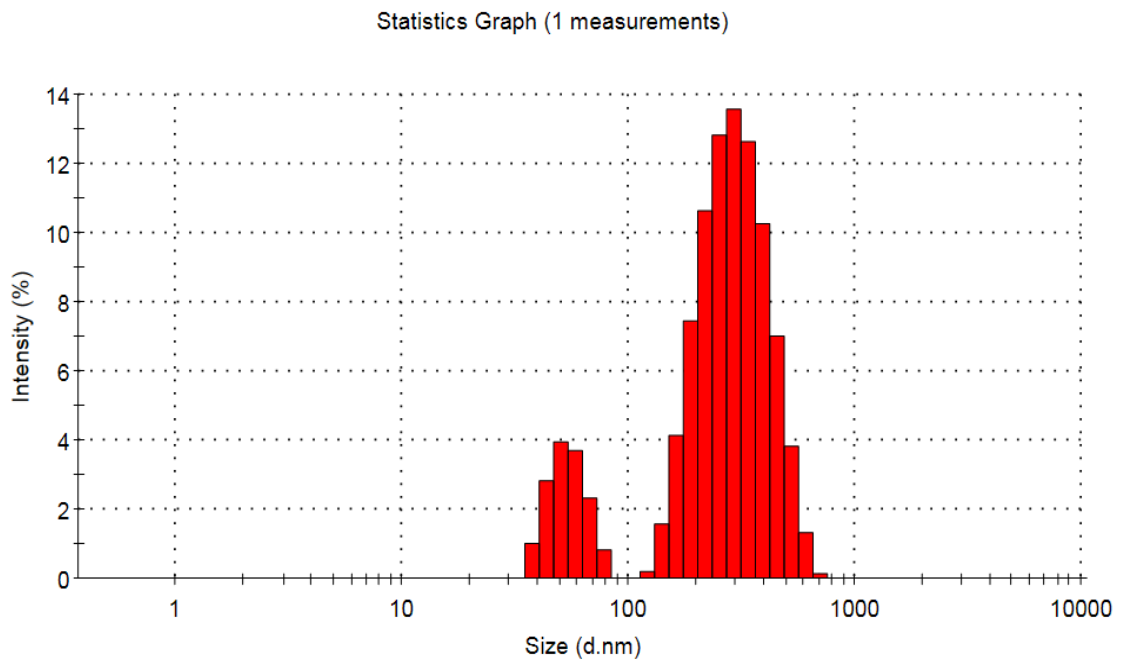
EKLER

Parçacık Boyutu Analizleri Dağılım Grafikleri

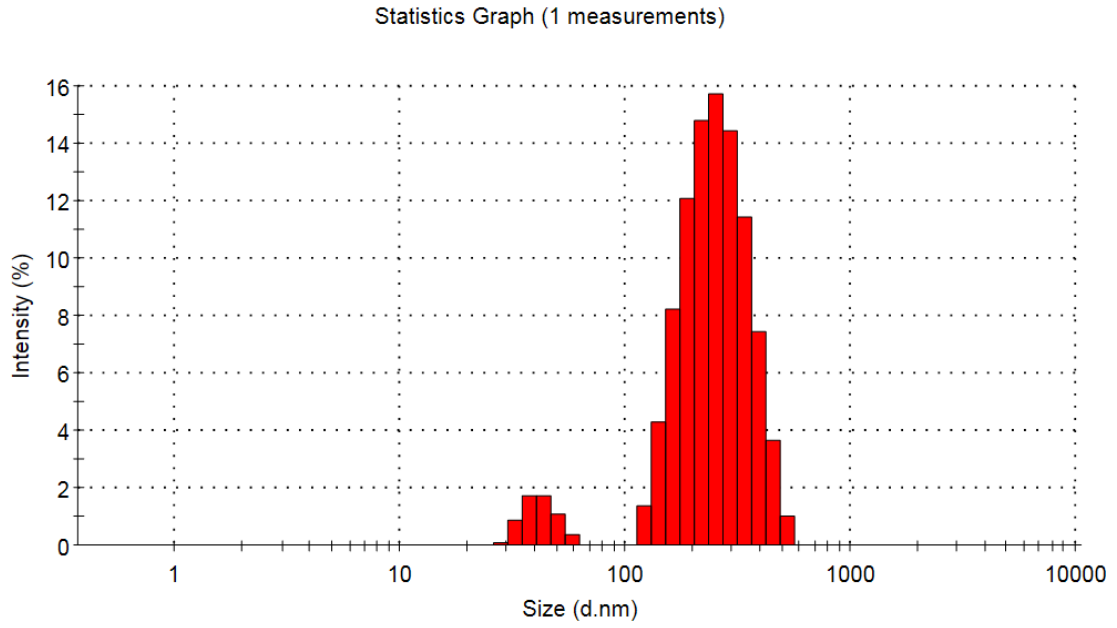
EK 1. Defne(*Laurus nobilis*) esansiyel yağı için 1. Ölçüme ait partikül boyutu dağılım grafiği.



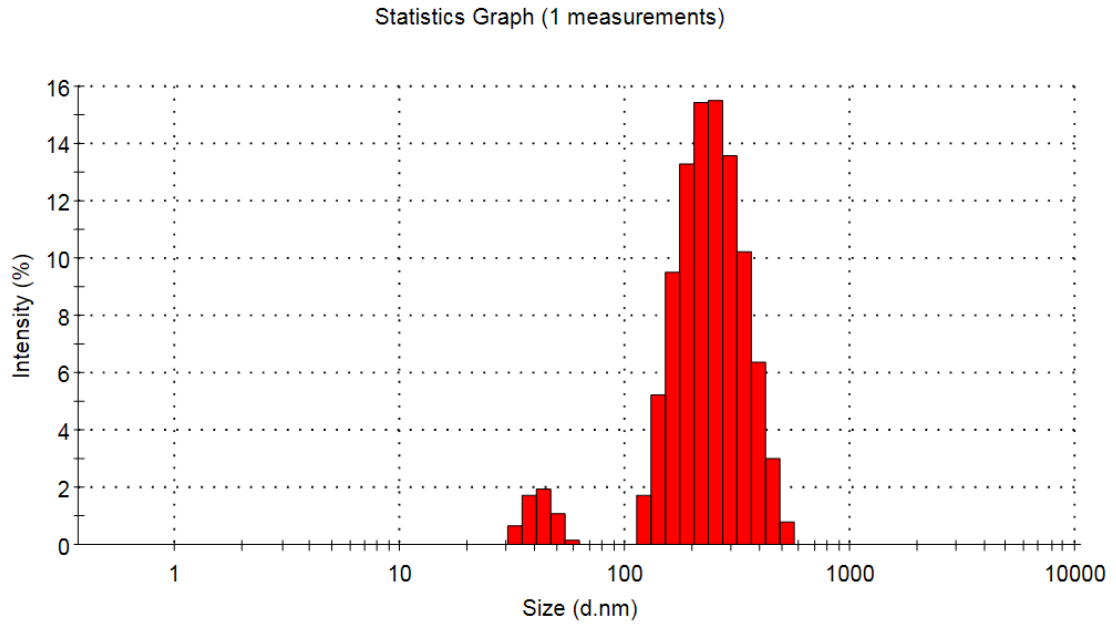
EK 2. Defne(*Laurus nobilis*) esansiyel yağı için 2. Ölçüme ait partikül boyutu dağılım grafiği.



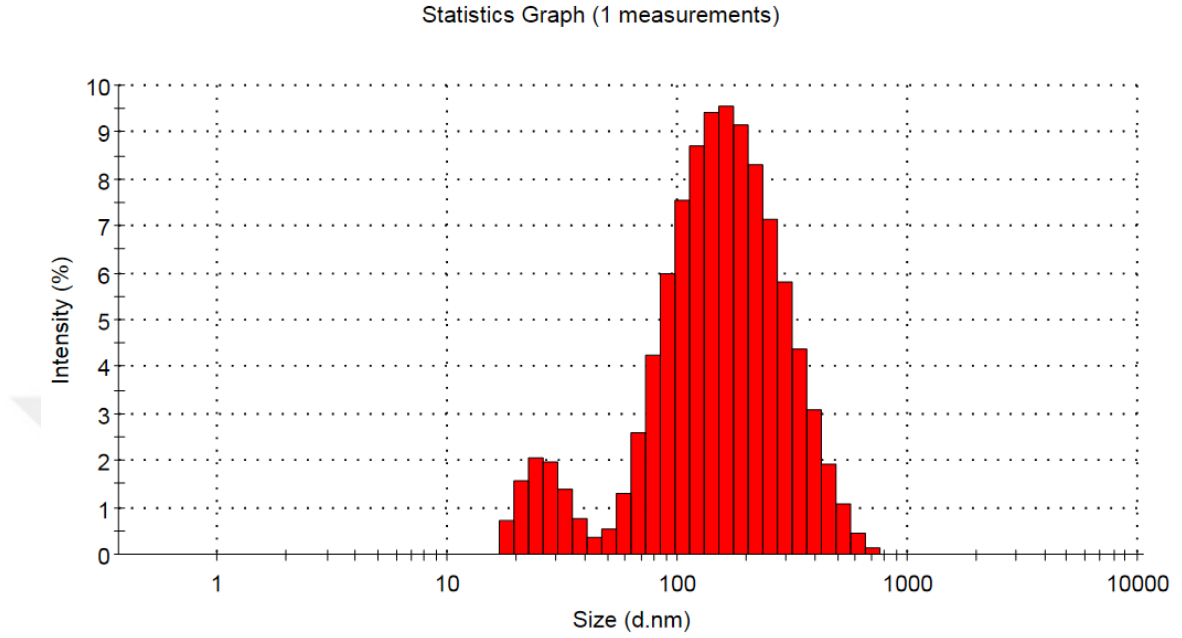
EK 3.Defne(*Laurus nobilis*) esansiyel yağı için 3. Ölçüme ait partikül boyutu dağılım grafiği.



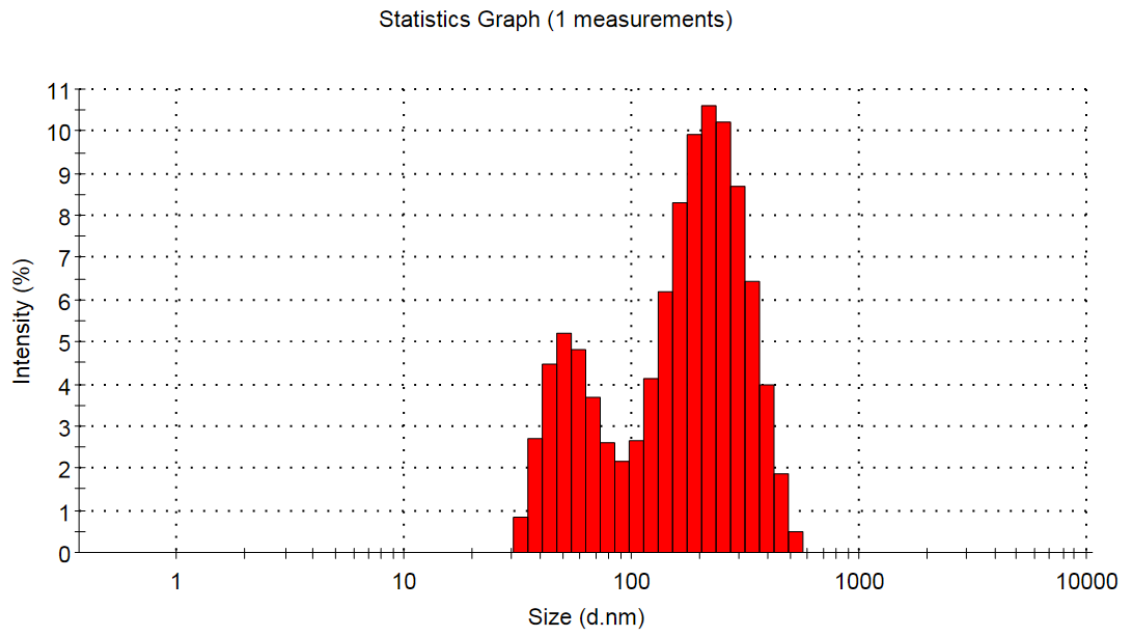
EK 4. Defne(*Laurus nobilis*) esansiyel yağı için 4. Ölçüme ait partikül boyutu dağılım grafiği.



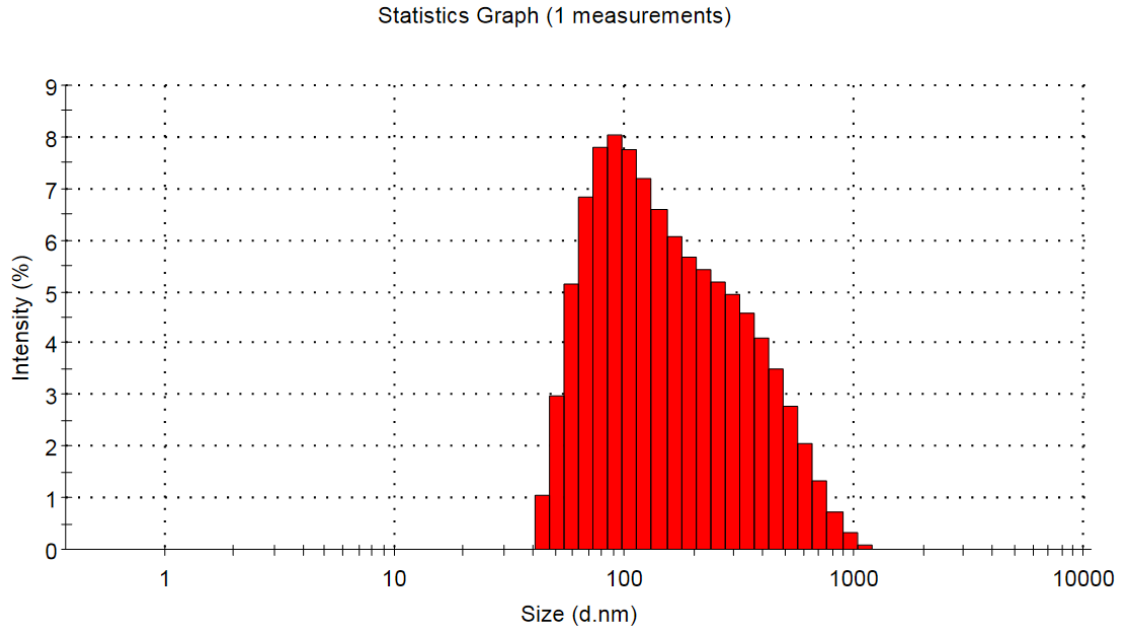
EK 5. Karanfil(*Syzygium aromaticum*) esansiyel yağı için 1. Ölçüme ait partikül boyutu dağılım grafiği.



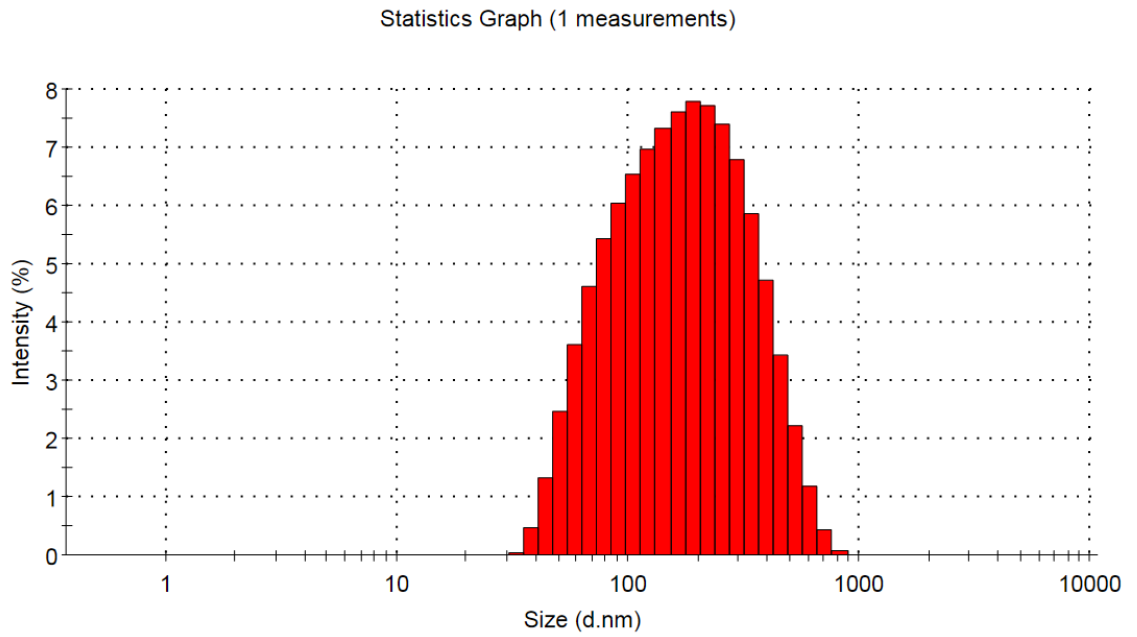
EK 6. Karanfil(*Syzygium aromaticum*) esansiyel yağı için 2. Ölçüme ait partikül boyutu dağılım grafiği.



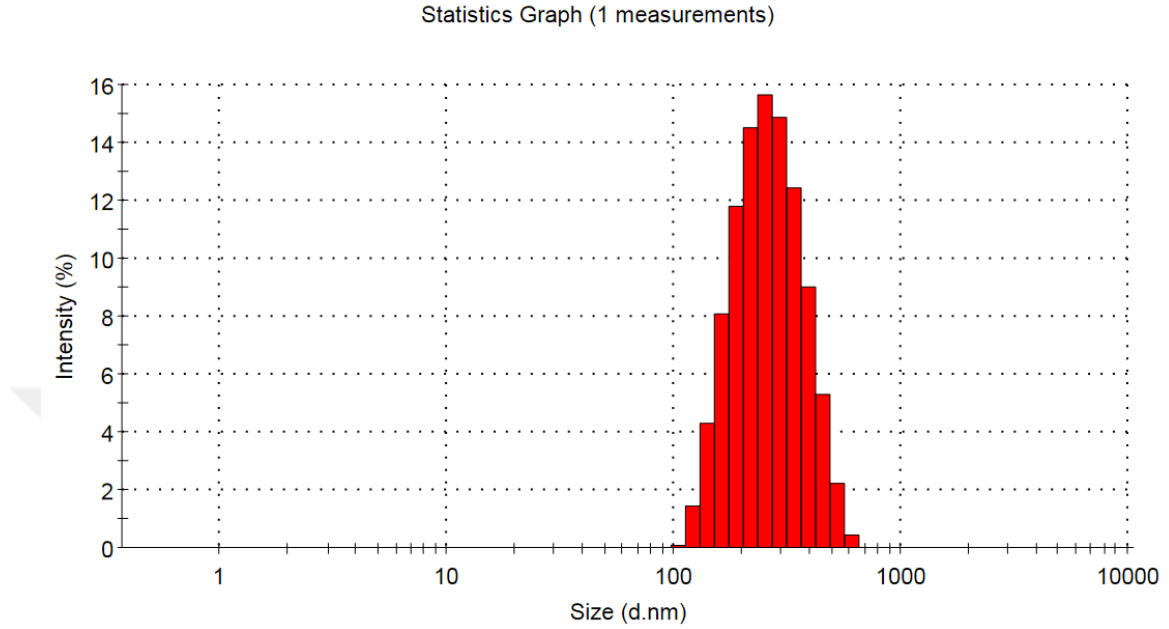
EK 7. Karanfil(*Syzygium aromaticum*) esansiyel yağı için 3. Ölçüme ait partikül boyutu dağılım grafiği.



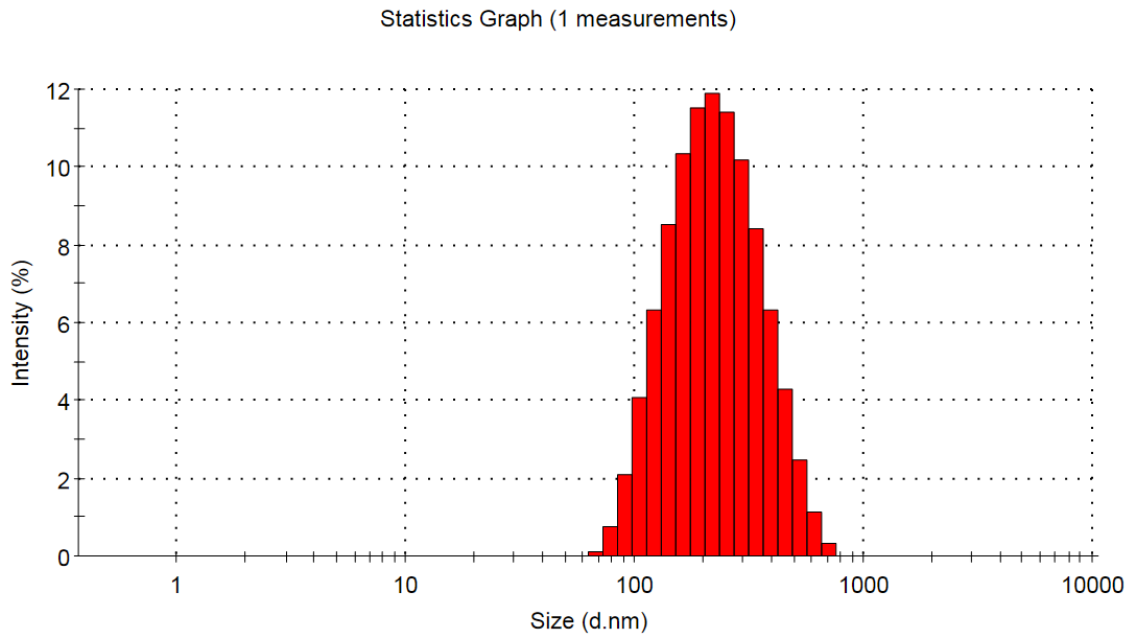
EK 8. Karanfil(*Syzygium aromaticum*) esansiyel yağı için 4. Ölçüme ait partikül boyutu dağılım grafiği.



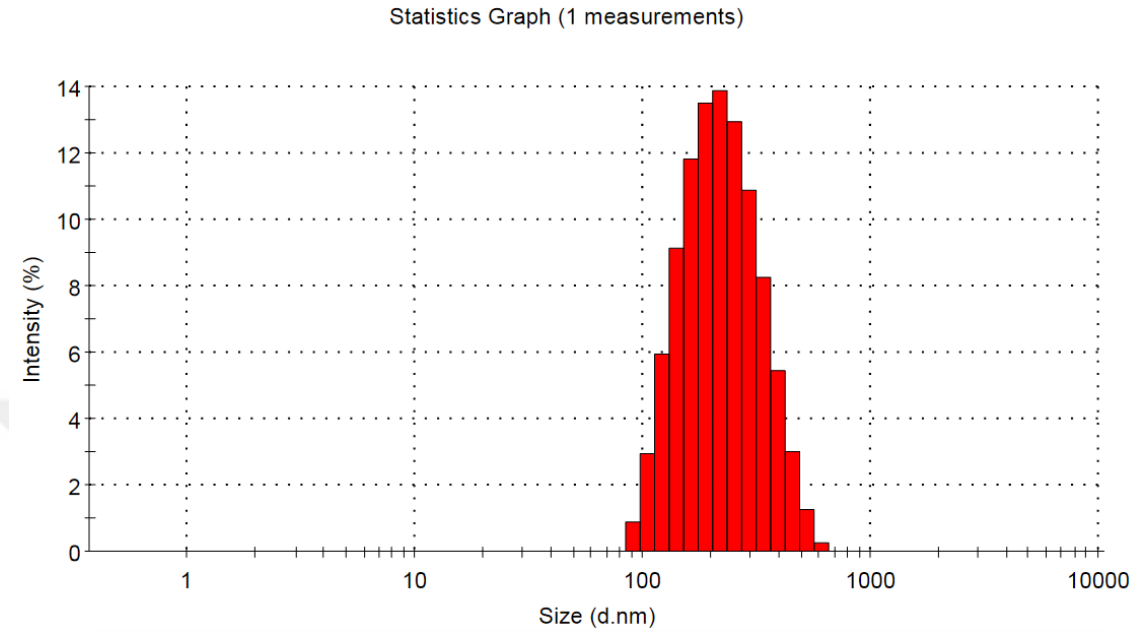
EK 9. Tarçın(*Cinnamomum verum*) esansiyel yağı için 1. Ölçüme ait partikül boyutu dağılım grafiği.



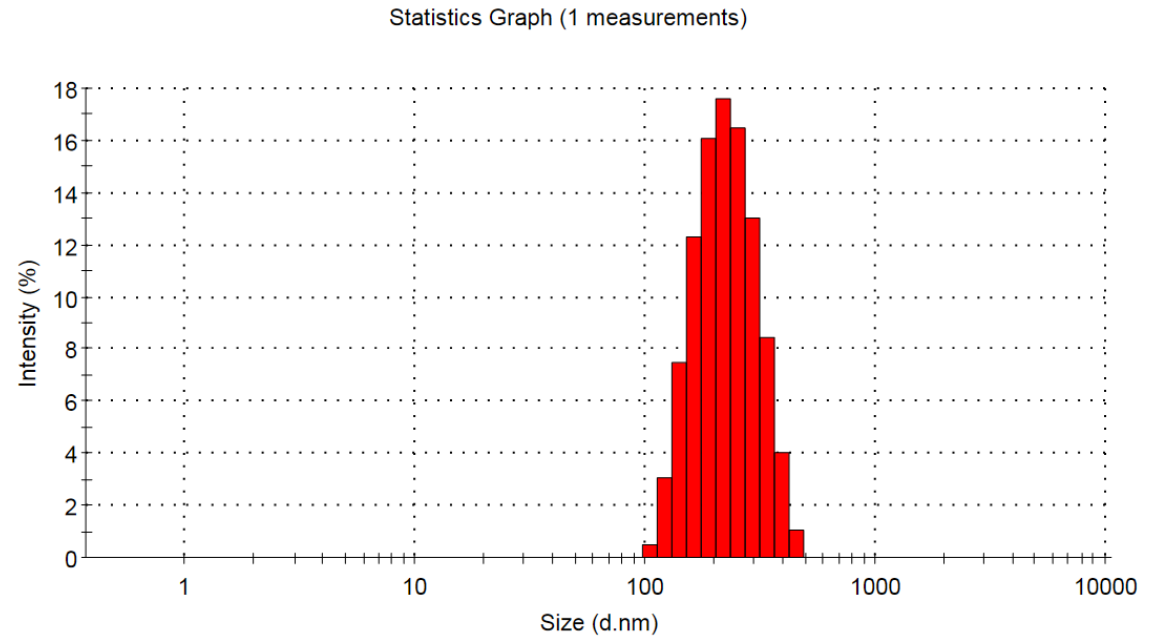
EK 10. Tarçın(*Cinnamomum verum*) esansiyel yağı için 2. Ölçüme ait partikül boyutu dağılım grafiği.



EK 11. Tarçın(*Cinnamomum verum*) esansiyel yağı için 3. Ölçüme ait partikül boyutu dağılım grafiği.

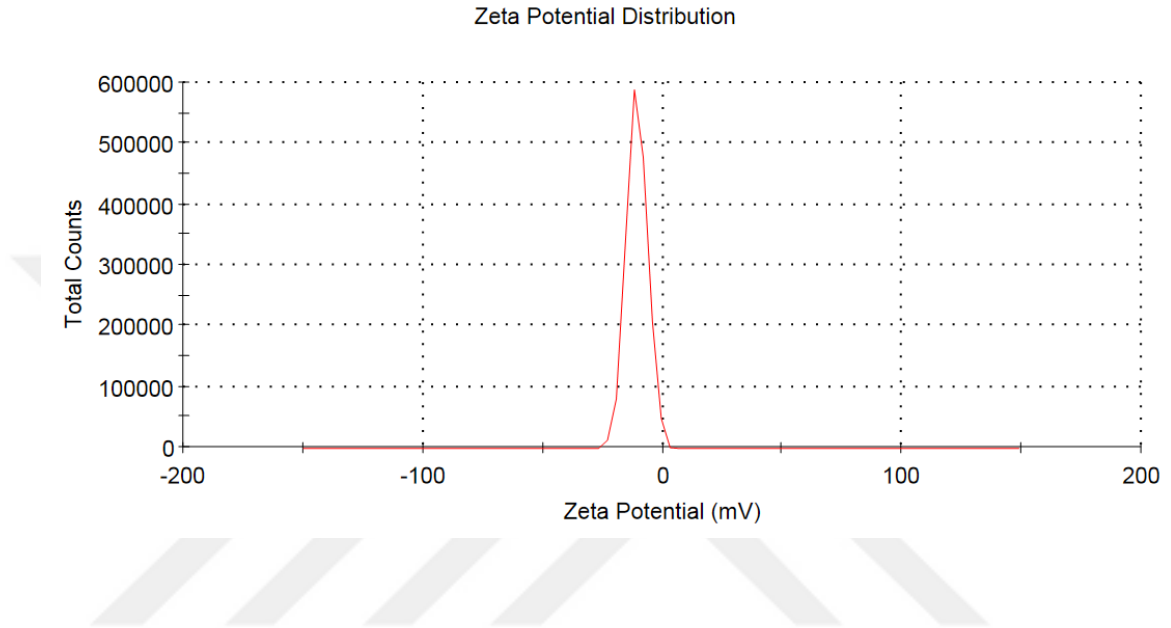


EK 12. Tarçın(*Cinnamomum verum*) esansiyel yağı için 4. Ölçüme ait partikül boyutu dağılım grafiği.

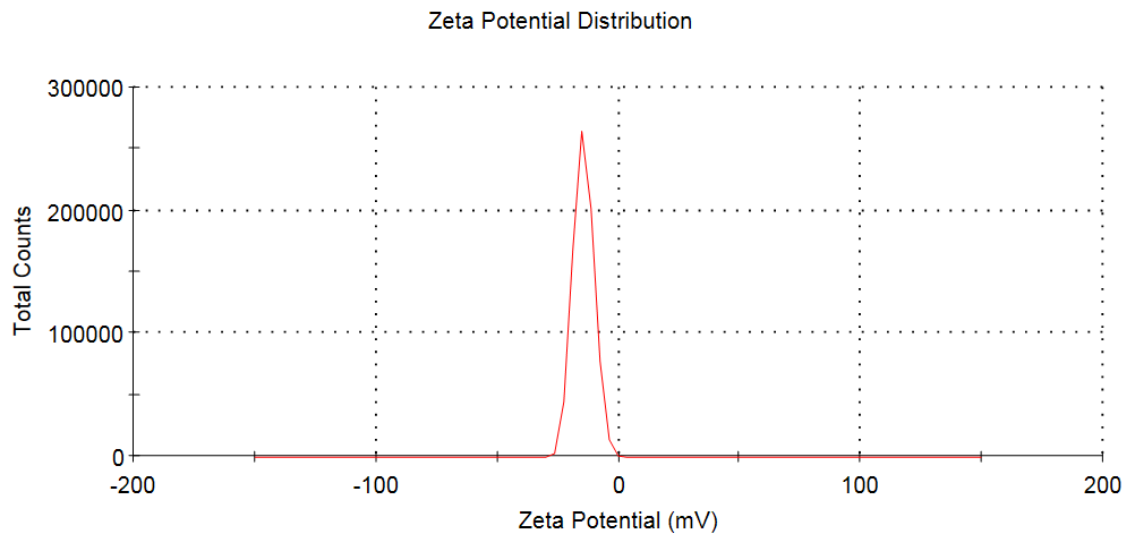


Zeta Potansiyeli Analizleri Grafikleri

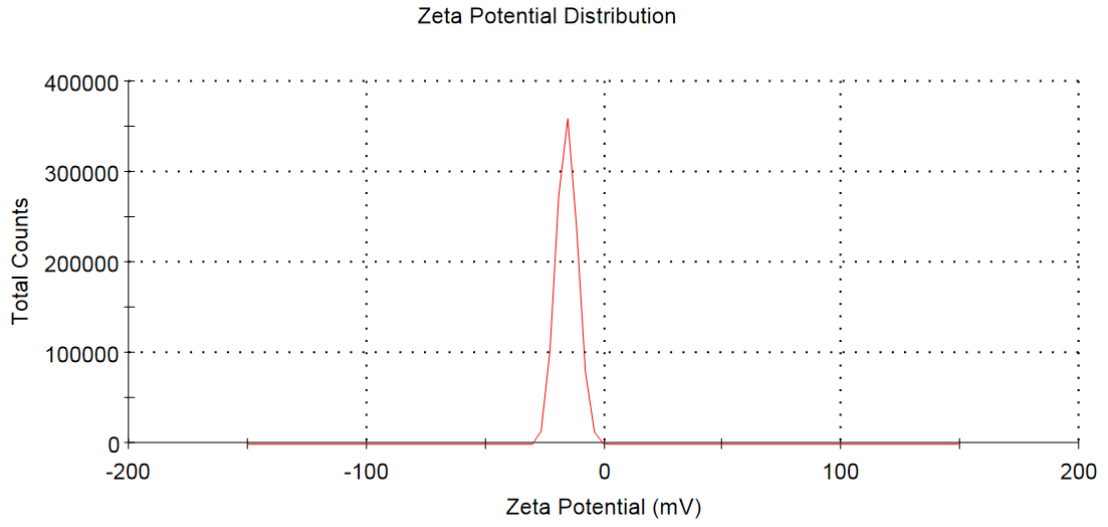
EK 13. Defne(*Laurus nobilis*) esansiyel yağı için gerçekleştirilen zeta potansiyeli analizi 1. ölçüme ait sonuç grafiği.



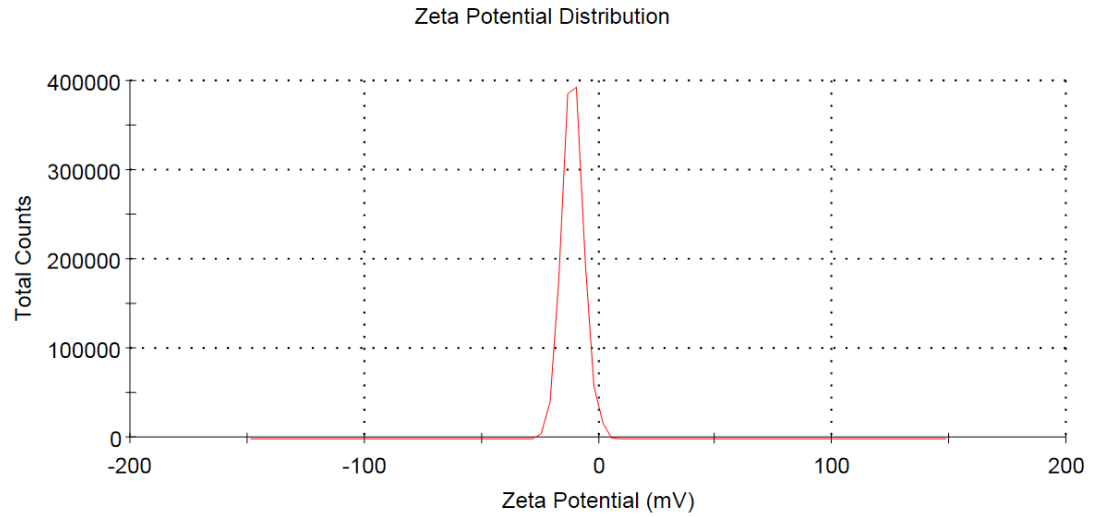
EK 14. Defne(*Laurus nobilis*) esansiyel yağı için gerçekleştirilen zeta potansiyeli analizi 2. ölçüme ait sonuç grafiği.



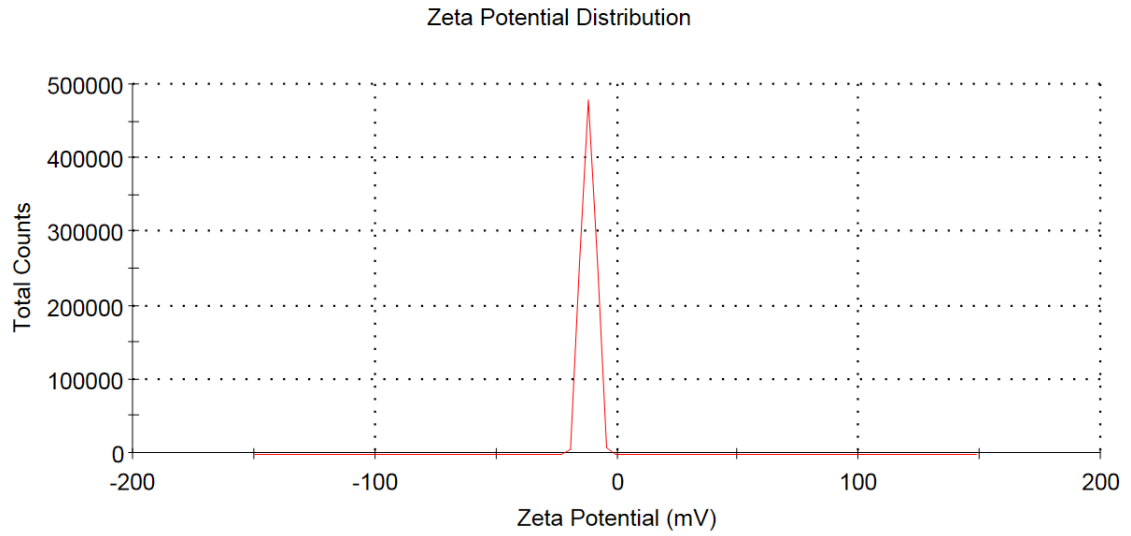
EK 15. Defne(*Laurus nobilis*) esansiyel yağı için gerçekleştirilen zeta potansiyeli analizi 3. ölçüme ait sonuç grafiği.



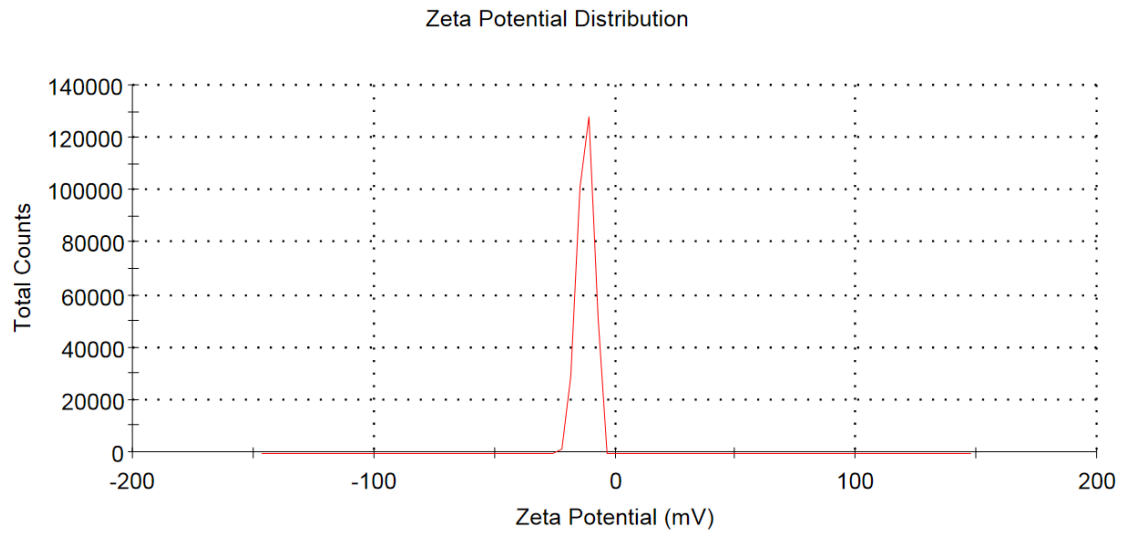
EK 16. Defne(*Laurus nobilis*) esansiyel yağı için gerçekleştirilen zeta potansiyeli analizi 4. ölçüme ait sonuç grafiği.



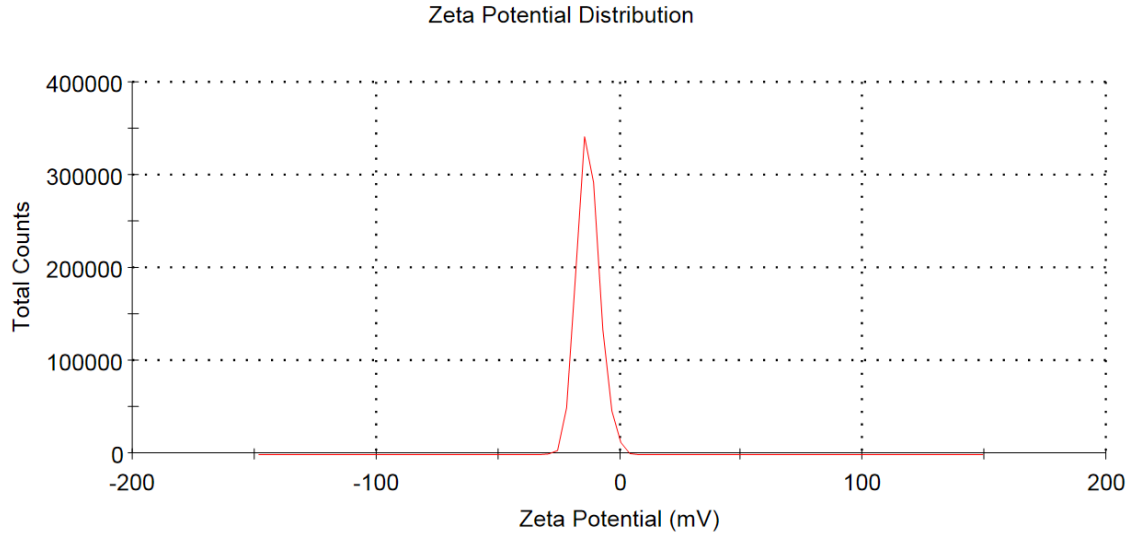
EK 17. Karanfil(*Syzygium aromaticum*) esansiyel yağı için gerçekleştirilen zeta potansiyeli analizi 1. ölçüme ait sonuç grafiği.



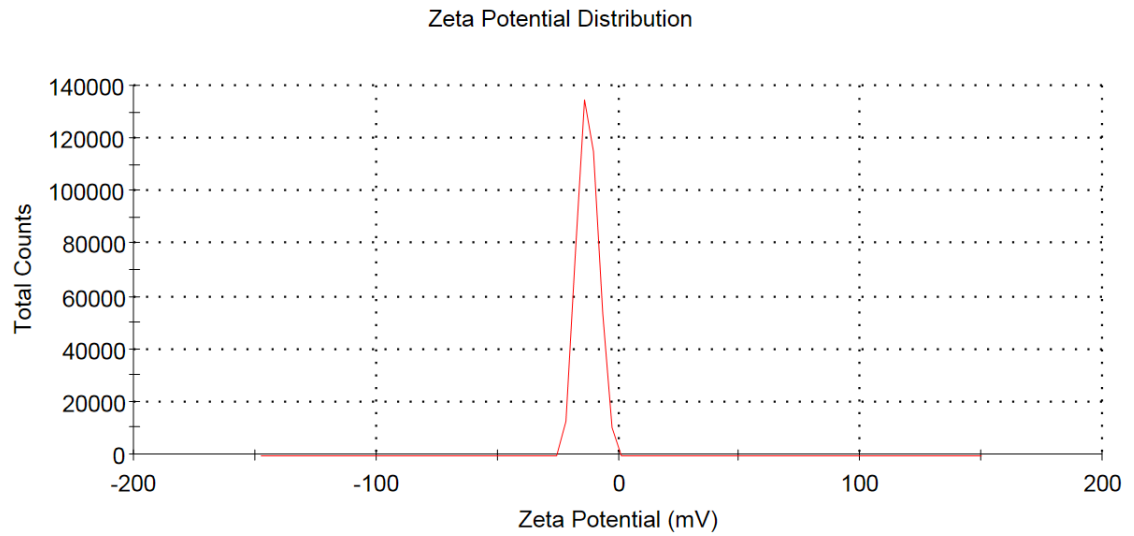
EK 18. Karanfil(*Syzygium aromaticum*) esansiyel yağı için gerçekleştirilen zeta potansiyeli analizi 2. ölçüme ait sonuç grafiği.



EK 19. Karanfil(*Syzygium aromaticum*) esansiyel yağı için gerçekleştirilen zeta potansiyeli analizi 3. ölçüme ait sonuç grafiği.

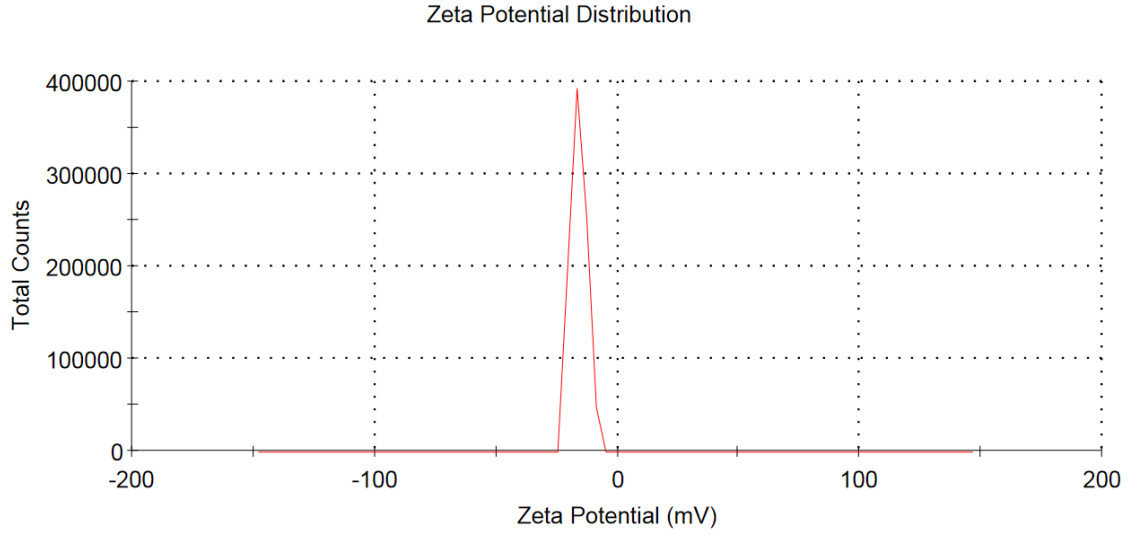


EK 20. Karanfil(*Syzygium aromaticum*) esansiyel yağı için gerçekleştirilen zeta potansiyeli analizi 4. ölçüme ait sonuç grafiği.



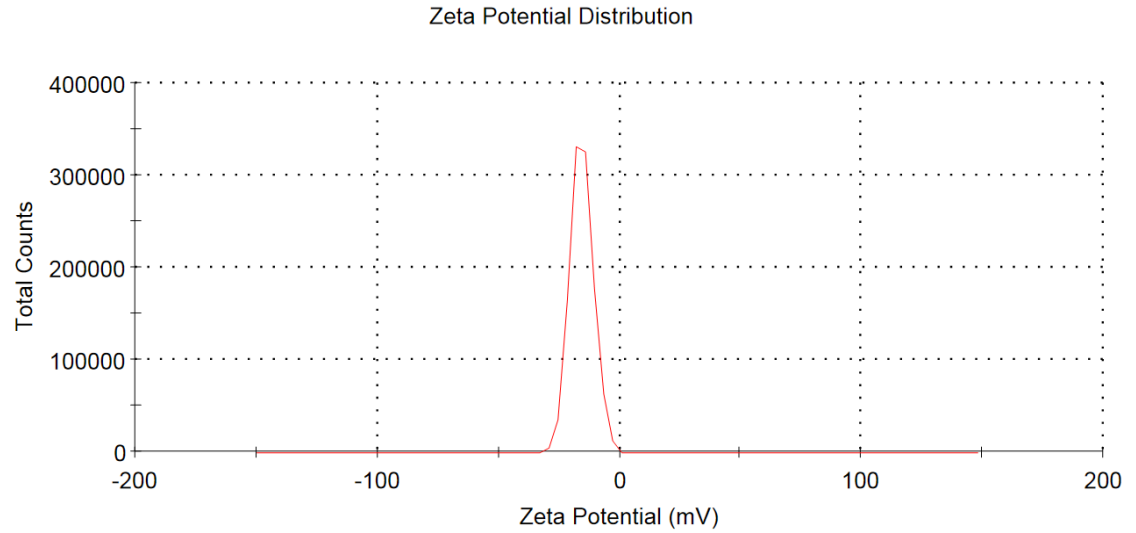
EK 21. Tarçın(*Cinnamomum verum*) esansiyel yağı için gerçekleştirilen zeta potansiyeli analizi

1. ölçüme ait sonuç grafiği.

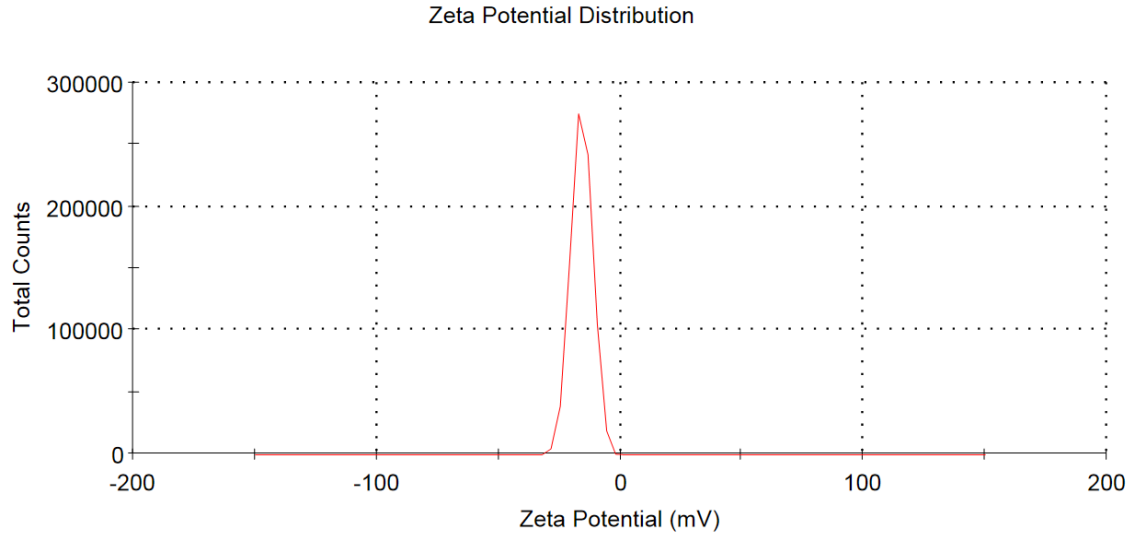


EK 22. Tarçın(*Cinnamomum verum*) esansiyel yağı için gerçekleştirilen zeta potansiyeli analizi

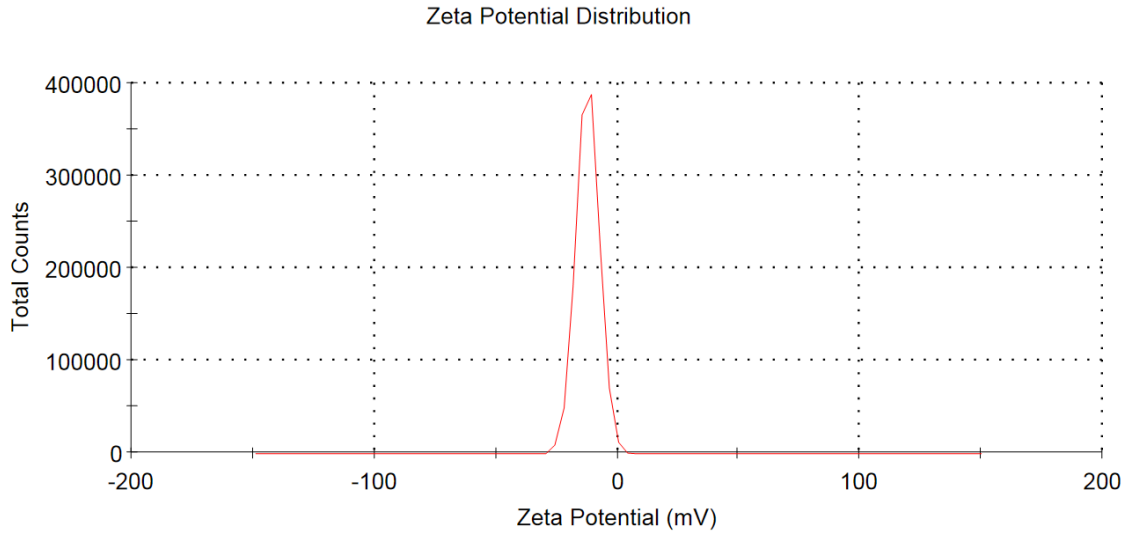
2. ölçüme ait sonuç grafiği.



EK 23. Tarçın(*Cinnamomum verum*) esansiyel yağı için gerçekleştirilen zeta potansiyeli analizi
3. ölçüme ait sonuç grafiği.



EK 24. Tarçın(*Cinnamomum verum*) esansiyel yağı için gerçekleştirilen zeta potansiyeli analizi
4. ölçüme ait sonuç grafiği.



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Metin Oktay BEYAZ
Uyruğu: Türkiye (T.C)

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği	2022
Lisans	Erciyes Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü	2018
Lise	Adıyaman Lisesi	2013

YABANCI DİL

İngilizce