

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Filiz UÇAN

DL-LİMONENİN MAYALAR ÜZERİNE ANTİFUNGAL ETKİSİ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2008

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DL-LİMONENİN MAYALAR ÜZERİNE ANTİFUNGAL ETKİSİ

Filiz UÇAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu tez .../.../2008 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

İmza:.....	İmza:.....	İmza:.....
Yrd.Doç.Dr. M.Ümit ÜNAL	Prof.Dr. Sadık DİNÇER	Yrd.Doç.Dr. Salih AKSAY
DANIŞMAN	ÜYE	ÜYE

Bu tez Enstitümüz Biyoteknoloji Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

Prof. Dr. Aziz ERTUNÇ
Enstitü Müdürü
İmza ve mühür

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.

Proje No: ZF2006.YL.34

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DL-LİMONENİN MAYALAR ÜZERİNE ANTİFUNGAL ETKİSİ

Filiz UÇAN
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman: Yrd. Doç. Dr. M. Ümit ÜNAL

Yılı: 2008 Sayfa:62

Jüri: Yrd. Doç. Dr. M. Ümit ÜNAL

Prof. Dr. Sadık DİNÇER

Yrd. Doç. Dr. Salih AKSAY

Bu çalışmada DL-limonenin bazı mayalar üzerine antifungal etkisi disk difüzyon yöntemi ve minimum inhibe edici konsantrasyon (MİK) yöntemleriyle araştırılmıştır. Ayrıca, DL-limonenin *Saccharomyces cerevisiae*'nin etil alkol fermentasyonuna etkisi de incelenmiştir. Disk difüzyon yöntemi sonuçlarına göre, denenen bütün mikroorganizmalarda inhibisyon zonu görülmüştür. Zon çapları kontrol olarak kullanılan Fungizone antibiyotikine kıyasla daha büyük olmuştur. DL-limonen konsantrasyonu arttıkça zon çapı da artmıştır. MİK değerleri, maya suşuna göre 500-4000 µg/ml arasında değişmiştir. DL-limonen *S. cerevisiae*'nin etil alkol fermentasyonunu inhibe etmiş ve oluşan aroma maddelerini de etkilemiştir.

Anahtar Kelimeler: DL-limonen, Antifungal Etki, Esansiyel Yağ

ABSTRACT

MSc. THESIS

ANTIFUNGAL EFFECT OF DL-LIMONENE ON YEASTS

Filiz UÇAN

**DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF ÇUKUROVA**

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. M. Ümit ÜNAL

Year: 2008 Page: 62

Jury: Assoc. Prof. Dr. M. Ümit ÜNAL

Prof. Dr. Sadık DİNÇER

Assoc. Prof. Dr. Salih AKSAY

This study was undertaken to investigate antifungal effect of DL-limonene on yeasts by disc diffusion and minimum inhibitory concentration (MIC). Furthermore, effect of DL-limonene on ethyl alcohol fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* was also investigated. According to disc diffusion results, development of inhibition zone was observed with all the microorganisms tested. The inhibition zones were larger than those with Fungizone antibiotic which was used as the control. As the concentration of DL-Limonene increased, diameters of the inhibition zones were increased, too. MIC results varied between 500-4000 µg/ml depending on the yeast strain. DL-Limonene inhibited alcoholic fermentation by *S. cerevisiae* and affected the aroma compounds formed.

Key Words: Essential Oil, Antifungal Effect, DL-limonene

TEŞEKKÜR

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

Jüri üyesi olarak tezimi değerlendiren değerli hocalarım Prof. Dr. Sadık DİNÇER'e ve Yrd. Doç. Dr. Salih AKSAY'a ,

Ayrıca çalışmamın deney aşamasında Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü laboratuvar olanaklarından yararlanmamı sağladıkları ve tez çalışmam boyunca yaptıkları yardımlardan dolayı sayın hocam Prof. Dr. Sadık DİNÇER'e,

Tezimin deney aşamasında yardımlarını esirgemeyen ve manevi desteğini her zaman hissettiğim değerli arkadaşım Arş. Gör. Aysun ŞENER'e ,

Tezimin GC analizleri aşamasında emeği geçen ve manevi desteğini esirgemeyen değerli arkadaşım Arş.Gör. Murat YILMAZTEKİN'e, tezimin deney aşamasındaki yardımlarından ve manevi desteğinden dolayı değerli arkadaşım Arş. Gör. Hasan TANGÜLER'e, ayrıca Arş. Gör. Adnan BOZDOĞAN'a, Arş. Gör. Kemal ŞEN'e ve Biyolog Elçin TAŞ'a,

Bölüm olanaklarından yararlanmamı sağlayan Gıda Mühendisliği Bölüm Başkanlığı'na ve maddi desteklerinden dolayı Ç.Ü. Araştırma Fonu'na,

Hayatımın her aşamasında yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen değerli annem Fatma UÇAN ve babam Kaya UÇAN'a, ailemin diğer fertlerine, ayrıca arkadaşlarıma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	4
3. MATERYAL VE METOT	25
3.1. Materyal.....	25
3.1.1. Esansiyel Yağ ve Diğer Malzemeler	25
3.1.2. Mikroorganizmalar	25
3.1.3. Besiyerleri.....	26
3.2. Metot	27
3.2.1. Mikrobiyel Kültürlerin Çoğaltılması ve Saklanması	27
3.2.2. Tek Koloni Eldesi	27
3.2.3. Esansiyel Yağın Antimikrobiyel Etkisinin Belirlenmesi	27
3.2.3.1. Disk Difüzyon Yöntemi.....	27
3.2.3.2. Minimum İnhibe Edici Konsantrasyon Yöntemi	28
3.2.4. DL-Limonenin Etil Alkol Üretimine Etkisi.....	29
3.2.5. Fermentasyon Ürünlerinin Belirlenmesi	29
3.2.5.1. Etil Alkol Tayini.....	29
3.2.5.2. Aroma Maddelerinin Tayini.....	32
3.2.5.2.1. Cevap Faktörünün Bulunması	32
3.2.5.2.2. Aroma Maddelerinin Miktarlarının Hesaplanması.....	32
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	35
4.1. Disk Difüzyon Yöntemiyle DL-Limonenin Antifungal Etkisinin Belirlenmesi	35

4.2. En Düşük İnhibe Edici Konsantrasyon (MİK) Yöntemiyle DL-Limonenin Antifungal Etkisinin Belirlenmesi	43
4.3. DL-Limonenin Fermentasyon Ürünleri Oluşumuna Etkisi.....	44
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	48
KAYNAKLAR.....	49
ÖZGEÇMİŞ	62

ÇİZELGELER DİZİNİ	SAYFA
Çizelge 3.1. Araştırmada Kullanılan Mayalar	26
Çizelge 3.2. Aroma Maddelerinin Kalibrasyon Verileri	32
Çizelge 4.1. DL-Limonenin Mayalar Üzerine Antifungal Etki Zonları ve Bunların Fungizone ile Karşılaştırılması.....	36
Çizelge 4.2. Zon Çapları Değerlendirilmesi.....	42
Çizelge 4.3. MİK Sonuçları.....	44
Çizelge 4.4. DL-Limonenin Fermentasyon Ürünleri Oluşumuna Etkisi.....	47

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 1.1. Limonenin kimyasal yapısı.....	2
Şekil 3.1. Etil Alkol Analizlerinde Elde Edilen Örnek Kromotogram	31
Şekil 3.2. Aroma Maddelerinin Analizlerinde Elde Edilen Örnek Kromotogram.....	34
Şekil 4.1. DL-Limonen Miktarına Bağlı Olarak Oluşan Zon Çapları.....	40
Şekil 4.2. <i>Kluyveromyces(K.) thermotolerans</i> 10, 25 ve 50 µL DL-Limonen Konsantrasyonlarında Meydana Gelen İnhibisyon Zonları.....	41
Şekil 4.3. <i>S. cerevisiae Maurivin</i> (50 µL) İnhibisyon Zonu.....	41
Şekil 4.4. DL-Limonenin Etil Alkol Fermentasyonu Sırasında <i>S. cerevisiae</i> ' nin Büyümesine Etkisi.....	45
Şekil 4.5. DL-Limonenin Fermentasyon Hızına Etkisi.....	46

1.GİRİŞ

Son yıllarda gıdaların dayandırılması için kullanılan koruyucu kimyasalların yerine kullanılabilecek alternatif doğal koruyuculara ilgi önemli ölçüde artmıştır. Bazı baharatlar ve bitkilerden elde edilen esansiyel yağlar, sahip oldukları antimikrobiyal aktiviteden dolayı gıda sanayinde kullanılan doğal olmayan koruyucu maddelere alternatif olabilirler. Bu bileşiklerin gıda katkıları gibi kullanılmalarında, gıda zehirlenmelerine neden olan patojenlerin gelişmesini önlemelerinin yada gıda bozulmalarının gecikmesini de teşvik etmelerinin önemli payları vardır (Nychas , 1995; Tassou ve ark., 2000; Chang ve ark., 2001; Ultee ve Smid, 2001).

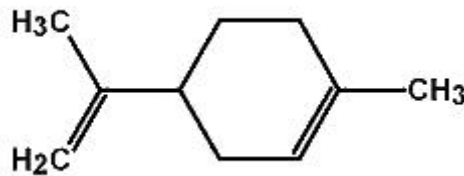
Günümüzde esansiyel yağ bileşenleri, antimikrobiyal ve antioksidatif aktivitelerinden dolayı gıda dayandırmada doğal antimikrobiyalların kaynağı olarak büyük ilgi görmektedirler (Ultee ve ark., 2000; Periago ve Moezelaar, 2001). Doğal antimikrobiyal bileşiklerin kullanımı sadece gıdaların dayandırılmasında değil aynı zamanda mikrobiyel bitki ve insan hastalıklarının kontrolünde de önemlidir (Barata ve ark., 1998). Bitkisel özütlerin antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılmaları; yüksek bitkilerin, yeni anti-infektif maddelerin potansiyel bir kaynağı olmadıklarını (Pres, 1996), bununla birlikte, asıl öncü bileşimler için doğal ürünlerden ilaçların ortaya çıkarılmalarına yardımcı olduklarını göstermektedir (Lawrence, 1999; Ojala ve ark., 2000).

Baharatlar ve esansiyel yağlarının değişen derecelerde antimikrobiyal etki gösterdiği tarihin eski dönemlerinden beri bilinmektedir. Tıbbi bitkilerden elde edilen ekstraktların gıdalarda doğal koruyucu olarak kullanılması ile ilgili çalışmalar gittikçe önem kazanmaktadır. Eczacılık, gıda, parfüm ve kozmetik gibi birçok alanda kullanılan hammaddeler olmaları nedeniyle doğal bitkiler ve esansiyel yağlar, antimikrobiyal etkileri açısından çok sayıda araştırmada ele alınmış ve koruyucu etkilerinin olduğuna dair önemli sonuçlar elde edilmiştir. Son 20 yıldır özellikle tıbbi bitki ekstraktlarının patojen yada bozulma yapan mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal etkileri üzerine araştırmalar yapılmaktadır (Farg ve ark., 1989; Aureli ve ark., 1992; Akın, 1996; Nielson ve Rios, 2000; Karanika ve ark., 2001).

Turunçgil esansiyel yağları ticari olarak bitkilerin farklı kısımlarının soğuk preslenmesi (kabuklar) veya distilasyonu (yapraklar) ile elde edilirler. Turunçgil esansiyel yağları önemli ölçüde antimikrobiyal etki gösterirler. Ancak, kompleks ve değişken bir yapıda olmaları, bu etkilerinin belli bir bileşenle ilişkilendirilmesini zorlaştırır. Çünkü, esansiyel yağın bileşenlerinin olası antagonistik ve sinerjik etkileri söz konusu olabilir. Esansiyel yağların antimikrobiyal etkileri aromatik halkalı C10 ve C15 terpenlerin varlığı ve fenolik hidroksilik grubun bazı enzimlerin aktif merkezleriyle hidrojen bağı oluşturabilmesiyle açıklanmaktadır. Bununla beraber, diğer aktif terpenler, alkoller, aldehitler ve esterler de esansiyel yağların toplam antimikrobiyal etkisine katkı yapabilirler (Juven ve ark., 1994; Deans ve Dorman, 2000).

Turunçgil esansiyel yağları, meyve kabuğunda bulunan renkli kısım veya flavedo tabakasındaki küçük balon şekilli keseciklerden elde edilmektedir. Çoğunlukla aroma, gıda, kozmetik, kimya endüstrisinde ve eczacılıkta kullanılırlar (Raeissi ve Peters, 2005). Bu esansiyel yağlar terpenler, oksijenle doymuş ve uçucu olmayan bileşikleri içeren 100'den fazla bileşiğin karışımından meydana gelir. Terpenler kabuk yağının %50-95'lik kısmını oluşturur. Turunçgil meyveleri % 0.2-0.5 oranında esansiyel yağ içermektedir. Turunçgil esansiyel yağlarının önemli bir kısmını (% 90'dan daha fazla) limonen teşkil eder (Hendrickson ve Kesterson, 1951; Sousa ve ark., 2004; Diaz ve ark., 2005).

Limonen, turunçgillerin ve diğer birçok bitki türünün esansiyel yağlarında bulunur ve portakalın ana aroma bileşenidir (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Limonenin kimyasal yapısı (Anon, 2007 a).

Limonen molekülü ($C_{10}H_{16}$) birbirinin simetriği olan D ve L-Limonen olmak üzere iki formda bulunabilir (Anon, 2004). L-limonen, çam ve turpentin kokusundadır; D-limonen ise hoş bir portakal kokusuna sahiptir (Anon, 2007 b). Turunçgil meyveleri; % 86-92 su, % 5-8 şeker, % 1-2 pektik madde, % 0.7-1.5 asit, % 0.6-0.8 protein, % 0.2-0.5 lipid ve % 0.2-0.5 oranında esansiyel yağ içermektedirler (Hendrickson ve Kesterson, 1951).

Literatürde saf haldeki limonenin antimikrobiyal etkisi üzerinde bir araştırmaya rastlanmamıştır. Caccioni ve ark. (1998) portakal, mandarin, greyfurt ve limon esansiyel yağlarının *Penicillium (P.) digitatum* ve *P. italicum* üzerine etkilerini incelemişlerdir. Chaibi ve ark. (1997) portakal ve greyfurt esansiyel yağlarının bazı bakteri sporları üzerindeki spor oluşumu ve vejetatif büyüme üzerine etkilerini araştırmışlardır. Belletti ve ark. (2004)'nın yaptığı çalışmada, turunçgil esanslarının *Saccharomyces (S.) cerevisiae* üzerine antimikrobiyal etkisi incelenmiştir.

Daha önce de değinildiği gibi, esansiyel yağların kompleks ve değişken bir yapıda olmaları bu etkilerinin belli bir bileşenle ilişkilendirilmesini zorlaştırır. Çünkü, esansiyel yağın bileşenlerinin olası antagonistik ve sinerjik etkileri söz konusu olabilir. Bu çalışmanın amacı, turunçgil esansiyel yağının önemli bir kısmını teşkil eden limonenin bazı mayalar üzerindeki antifungal etkisini disk difüzyon ve minimum inhibe edici konsantrasyon (MİK) testleri ile araştırmaktır. Bu çalışmanın sonuçları, limonenin hem alkolsüz içeceklerde bozulmaya neden olan mayaların gelişimi üzerinde inhibe edici etkisinin ortaya konulması bakımından, hem de portakal şarabı yapımı sırasında etil alkol fermentasyonuna inhibe edici etkisinin belirlenmesi bakımından önemli olabilecektir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

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

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

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

Nakatani (1994) ve Tassou ve Nychas (1995), *Gram (+)* bakterilerin esansiyel yağlara karşı *Gram (-)* bakterilerden daha hassas olduklarını belirtmişlerdir.

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

Esansiyel yağlar, baharatlar ve diğer birçok bitkisel materyalin başlıca çeşni ve özellikle koku bileşikleridir (Canillac ve Mourey, 2001). Bitkilerden yada bitkisel unsurlardan, su veya buhar distilasyonu yoluyla elde edilen, oda sıcaklığında sıvı halde olan ve bazen donabilen, uçucu, kuvvetli kokulu ve yağımsı karışımlardır (Akın, 1996). Esansiyel yağlar, bitkinin gelişme sahaları, ekolojik şartlar ve diğer faktörler ile kalite ve miktar farkı gösteren, organik maddelerin kompleks karışımlarının heterojen bir grubudur (Özcan ve Erkmen, 2001). Fenol, alkol, ester, keton, aldehit vb. yapıli oksijenli bileşikler, birçok esansiyel yağın ana ve özgün bileşenleridir (Akgül, 1993).

Esansiyel yağların aktiviteleri esansiyel yağların tipine, kompozisyonuna ve konsantrasyonuna; etki ettiğı mikroorganizmaların cinsine ve sayısına; substratın kompozisyonuna ve işleme ve depolama şartlarına bağılıdır (Pandit ve Shelef, 1994; Skandamis ve Nychas 2000; Marino ve ark., 2001).

Esansiyel yağların antimikrobiyel etkisi, enerji üretimi ve yapısal bileşiklerin sentezinde etkili olan enzimleri inhibe etmelerinden (Tassou ve ark., 2000; Lambert ve ark., 2001) veya membran yapısını parçalamalarından kaynaklanmaktadır (Brul ve Coote, 1999).

Bu esansiyel yağların farklı mikroorganizmalara karşı antibakteriyel ve antifungal etkileri çeşitli çalışmalarda belirlenmiştir. Diğer koruyucularda olduğu gibi değişik baharat yada esansiyel yağ miktarlarının antimikrobiyel etkileri, denenen mikroorganizmaların saf kültürlerinin belirli yoğunluk ve optimum inkübasyon

şartlarında uygun besiyerinde incelenmiştir (Conner, 1993; Juven ve ark., 1994; Ultee ve ark., 1998; Ultee ve Smid, 2001).

Rahalison ve ark. (1994), *Swartzia madagascariensis* (Leguminosae) bitkisinin ekstraktını biyootografi yöntemi ile *Candida* (C.) *albicans* 'a karşı değerlendirmişler, sonuçta ince tabaka kromatografisi (İTK) plağı üzerinde Rf 0,5 ve 0.82 değerlerinde iki ayrı inhibisyon zonu gözlemlemişler ve reaktif madde uygulanan referans plakta gözlenen maddelerin zonu oluşturanlarla birebir aynı konumda oldukları gösterilmiş; ancak zonu oluşturan maddelerin tayini yapılamamıştır. Ayrıca bu ekstraktın mikrodilüsyon sıvı besiyerinde *C. albicans*'a karşı güçlü antimikrobiyel aktivite gösterdiği de bildirilmiştir.

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

Chaibi ve ark. (1997), esansiyel yağların *Bacillus* (B.) *cereus* T ve *Clostridium* (C.) *botulinum* 62A'nın vejetatif büyüme ve spor oluşumu üzerine etkilerini inceledikleri bir çalışmada, portakal ve altıntop esansiyel yağlarının bu bakterilerin sporları üzerinde etkili olduğu MİK değerlerini belirlemişlerdir. Buna göre araştırmacılar portakal esansiyel yağı MİK değerinin *B. cereus* için 250ppm, *C. botulinum* 62A için 400 ppm olduğunu , altıntop esansiyel yağı MİK değerinin *B. cereus* için 300 ppm, *C. botulinum* için 500 ppm olduğunu göstermişlerdir.

Mikrodilüsyon sıvı besiyeri ile yapılan bir çalışmada da *Combretum molle* bitkisinin ekstresi, *Staphylococcus* (S.) *aureus*'a karşı denenmiş ve MİK değeri 0.56 mg/mL olarak bulunmuştur. Ayrıca bu çalışmada, tetrazolyum tuzları kullanılarak mikrotitrasyon petrilerinde sonucu değerlendirmenin daha kolay olduğu ortaya konmuştur (Eloff, 1998).

Biyootografi yöntemi ile yapılan bir diğer çalışmada *Combretum erythrophyllum* (Combretaceae) bitkisinin farklı çözücülerle elde edilmiş ekstraktları, *S. aureus*, *Enterococcus* (E.) *faecalis* , *Escherichia* (E.) *coli* ve

Pseudomonas (P.) aeruginosa 'ya karşı denenmiş ve *S. aureus*'a karşı güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. Biyogram plağında on dört ayrı aktif fraksiyon olduğu ve bu fraksiyonların üzerinde net gözlenebilen zonların olduğu bildirilmiştir; ancak bu fraksiyonların hangi maddeler olduğu aydınlatılmamıştır (Martini ve Eloff, 1998).

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

Caccioni ve ark. (1998), turuncgil esansiyel yağlarının *Penicillium (P.) digitatum* ve *P. italicum* üzerine etkilerini inceledikleri bir çalışmada portakal, mandarin, greyfurt ve limon esansiyel yağlarının bu mikroorganizmaların gelişimini engelleyici etkileri olduğunu ve *P. digitatum*'un bu yağlara karşı daha duyarlı olduğunu belirlemişlerdir.

Smith-Palmer ve ark. (1998) yaptıkları araştırmada, 21 bitki esansiyel yağının ve 2 esansın antimikrobiyel özelliklerini, *Camphylobacter (C.) jejuni*, *Salmonella (S.) Enteritidis*, *E. coli*, *S. aureus* ve *Listeria (L.) monocytogenes*'e karşı denemişlerdir. Defne, tarçın, karanfil ve kekik yağlarının, % 0.075 yada daha düşük konsantrasyonlarda bakteristatik etki ile en büyük etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Genelde Gram (+) bakterilerin, bitki esansiyel yağlarına Gram (-) bakterilerden daha hassas oldukları gözlemlenmiştir. *C. jejuni*, bitki esansiyel yağlarına karşı en dirençli bakteri olarak belirlenmiş, sadece defne ve kekik esansiyel yağları % 1 ve daha az konsantrasyonlarda bakteriosidal etkiye sahip bulunmuşlardır. 35°C'de *L. monocytogenes* en büyük hassasiyeti küçük hindistancevizi (nutmeg)

yağına karşı göstermiştir. Bakteriostatik etki % 0.001'den daha düşük konsantrasyonlarda ve bakteriosidal etki % 0.05'lik konsantrasyonlarda gözlenmiş, ancak sıcaklıktaki 4 °C'lik azalma bakteriostatik konsantrasyonu % 0.5'e ve bakteriosidal konsantrasyonu % 1'e yükseltmiştir.

Perez ve ark. (1998) yaptıkları bir çalışmada, *Seneico graveolens* bitkisinden elde edilen esansiyel yağın mayalar üzerine antimikrobiyel etkisini incelemişler ve MİK değerini *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *S. aureus* ve *C. albicans* mayaları için sırası ile 8.73, 10.91 ve 2.13×10^{-2} mg/mL olarak belirlemişlerdir.

Değişik *Abies* türlerinden izole edilen esansiyel yağların antimikrobiyel aktivitelerinin, disk difüzyon metodu kullanılarak 10 bakteri (*E. coli*, *B. megaterium*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. brevis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Klebsiella (K.) pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* ve *Staphylococcus aureus*) ve 2 maya (*S. cerevisiae* ve *C. albicans*) türüne karşı test edildiği bir çalışmada, elde edilen sonuçlara göre, test edilen esansiyel yağlar antimikrobiyel aktivitelerinin güçleri bakımından 3 grup içinde sınıflandırılmışlardır. İlk grup antimikrobiyel aktiviteye sahip olmayan ve *Abies pinsapo* ve *Abies concolor*'dan elde edilen esansiyel yağlardır. *Abies alba* ve *Abies firma*'dan elde edilen ikinci grup esansiyel yağlar az miktarda etkili iken, *Abies koreanna*, *Abies cilicia* subsp. *cilicia*, *Abies cilicia* subsp. *isaurica*, *Abies nordmanniana* subsp. *nordmanniana* ve *Abies nordmanniana* subsp. *bornmüelleriana*'dan elde edilen üçüncü grup esansiyel yağlar ise test edilen maya ve bakterilere karşı en yüksek antimikrobiyel aktivite göstermiştir. Bu çalışmada kullanılan esansiyel yağların çoğunun *E. coli*'nin gelişmesi üzerine çok düşük etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Antimikrobiyel aktivitelerinin belirlenmesi için test edilen 9 *Abies* türünün esansiyel yağları maya türlerine karşı bakteri türlerinden daha etkili olmuştur ve esansiyel yağların antimikrobiyel aktivitesinin farklılığı bakteriyel türlere ve esansiyel yağın kaynağına bağlanmıştır (Bağcı ve Dırac, 1998).

Hammer ve ark. (1999) yaptıkları bir çalışmada, 20 bitkiye ait uçucu yağ mikrodilüsyon sıvı besiyeri yöntemi kullanarak test etmiş, 16 uçucu yağın %2'lik (v/v) konsantrasyonunda, kullandıkları tüm test mikroorganizmalarının gelişimini

inhibe ettiğini diğer 4 uçucu yağın ise MİK değerlerinin %8 (v/v) değerinden büyük olduğunu ortaya koymuşlardır.

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

Samy ve ark. (1998) yaptıkları çalışmada, Hindistan’dan seçilen 18 farklı familyanın üyesi olan 34 bitki türü kullanmışlar ve *E. coli*, *Klebsiella aerogenes*, *Proteus vulgaris* ve *Pseudomonas aerogenes* bakterilerine karşı antibakteriyel aktiviteyi disk difüzyon metodu kullanarak değerlendirmişlerdir. *Cassia fistula*, *Terminalia arjuna* ve *Vitex negundo* bitkileri test bakterilerine karşı önemli antibakteriyel aktivite göstermişlerdir.

Mazzanti ve ark. (1998), *Hyssopus officinalis* L. var *decumbens* (*Lamiaceae*) bitkisinde tespit ettikleri linalol (%51.7), 1,8-cineole (%12.3) ve limonen (%5.1) esansiyel yağlarının antimikrobiyel etkisini incelemişlerdir. Disk difüzyon testleri Gram-pozitif (*Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus spp.*) ve Gram-negatif (*K.oxytoca*, *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas spp.* ve *Salmonella spp.*’nin iki cinsi) bakteriler kullanılarak yapılmıştır. 1,8 Cineole *Pseudomonas aeruginosa* 514’e karşı inaktif olduğu, buna karşılık diğer mikroorganizmaların gelişimini inhibe ettiğini gözlemlemişlerdir. Maksimum inhibisyon *Staphylococcus aureus* 484’e karşı belirlenmiştir (inhibisyon >25mm). Saf limonenin bütün Gram(-) bakteriler ve *Enterococcus faecalis* 413’e karşı inaktif olduğu fakat *Staphylococcus aureus* 484’e ve *C. albicans* 308’e karşı aktif olduğu belirlenmiştir (inhibisyon >25mm). *C. albicans* 615 ise en fazla direnci göstermiştir (inhibisyon zonu 2 mm). Linalol’ün en aktif bileşik olduğu kanıtlanmıştır. *Staphylococcus aureus* 484 ve *E. coli* 910 gelişimini tamamen inhibe etmiştir (inhibisyon >25mm). Diğer organizmaları daha düşük derecelerde inhibe etmiştir (inhibisyon zonu 4-11 arasında).

Perez ve ark. (1998), *Seneico graveolens* (*compositae*) bitkisinin yapraklarından elde edilen esansiyel yağda 14 bileşiği (8 hidrokarbon, 3 alkol, 2 keton, 1 aldehit) GLC-MS ile saptamışlardır. Esansiyel yağın antimikrobiyel etkisini

agar kuyu difüzyon metodu kullanarak belirlemişlerdir. Oxacilline hassas *Micrococcus luteus* ATCC 9341 ve oxaciline dirençli *Staphylococcus aureus*'da antibakteriyel etkiyi; *C. albicans*'da ise antifungal etkiyi gözlemlemişlerdir. MİK değerini; *Micrococcus luteus*, oxacilline hassas *Staphylococcus aureus*, *C. albicans* için sırasıyla 8.73, 10.91, $2.13 \cdot 10^{-2}$ mg/mL olarak bulduklarını; MBC'nin ise 87.3 mg/mL'nin yukarısında olduğunu belirtmişlerdir. Bu esansiyel yağın *Micrococcus luteus*'a karşı antimikrobiyel etki gösterdiğini bildirmişlerdir. *Micrococcus luteus* yüksek konsantrasyonlarda inhibe olurken, *C. albicans* düşük konsantrasyonlarda inhibe olmuştur. Antimikrobiyel etkiyi bilinen iki antibiyotikle, *amoxycillin* ve *miconazole*, karşılaştırdıklarında bu sonuçlarla uyumlu olduklarını gözlemlemişlerdir.

Kekik esansiyel yağının (%3) bilinen kompozisyonu ile birlikte koruyucu özelliği farmasötik yada kozmetik kullanım için iki formülasyonda araştırılmıştır. İstenilen koruma etkisi kriteri bakteri suşlarına, mayalara karşı formülasyonun birinde sağlanmıştır. Fakat, bu çalışmada küf suşlarına karşı etki sağlanmamıştır (Manou ve ark. ,1998).

Pelargonium (Geraniaceae) cinsleri ve kültürlerinin kokulu yapraklarından, buhar distilasyonu ile ekstraksiyonun yapıldığı bir çalışmada, ekstraktların antibakteriyel etkileri , *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *B. cereus* ve *Staphylococcus epidermise*' e karşı *in vitro* olarak incelenmiştir. Sonuçlar önemli antibakteriyel aktivite göstermiştir ve Pelargonium esansiyel yağlarının yeni antibakteriyel ajan olarak kullanılabileceği öne sürülmüştür. Sonuçlar Pelargonium esansiyel yağlarının ve çözücü ekstraktlarının gıda ve kozmetikte yeni antimikrobiyel ajan olarak kullanılabileceğini göstermiştir. En güçlü antibakteriyel etki; citral, citronellal, citronellic acid, geraniol, linalool ve α -pinene esansiyel yağlarında gözlemlenmiştir (Lis-Balchin ve ark., 1998).

Saxena ve Sharma (1999a), *Lantana aculeata* yapraklarının esansiyel yağının antimikrobiyel aktivitesini disk difüzyon yöntemi kullanarak incelemişler ve *S. pullularum*, *E. coli*, *Klebsiella (K.) pneumoniae* ve *Vibrio (V.) cholera*'ya karşı etkili olduğunu, 1/20 seyreltmelerde bile aktivite gösterdiğini saptamışlardır. Esansiyel

yağın ayrıca *Penicillium digitatum*, *Rhizophus stolonifer*, *Microsporum gypsum* ve *Penicillium notatum*'a karşı da 1/20 seyreltmelerde aktif olduğunu belirlemişlerdir.

Saxena ve Sharma (1999b), *Toddalia asiatica* yapraklarının esansiyel yağının antimikrobiyel aktivitesini disk difüzyon yöntemi kullanarak araştırmışlar ve *S. newport*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı etkili olduğunu, 1/20 seyreltmelerde bile aktivite gösterdiğini saptamışlardır. Esansiyel yağın ayrıca, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Rhizophus stolonifer* ve *Microsporum gypsum*'a karşı da 1/20 seyreltmelerde aktif olduğunu belirlemişlerdir.

Koutsoumanis ve ark. (1999) çalışmalarında, bir Yunan aperatifi olan ev yapımı balık yumurtası salatasını (taramasalad), *S. Enteritidis* ile aşlamış ve değişik konsantrasyonlarda mercan köşk esansiyel yağı ekleyerek (% 0.0, 0.5, 1.0, 2.0 h/a) farklı sıcaklıklarda (5, 10, 15, 20 °C) depolamışlardır. Ürünlerin pH'sı limon suyu ile 4.3-5.3'e ayarlanmıştır. Çevresel faktörlerin her bir kombinasyonunda, patojenlerin kinetik parametrelerini hesaplamak için bakteri sayısı zamanın bir fonksiyonu olarak modellenmiştir. Karşılaştırma için iki farklı model kullanılmıştır. *S. Enteritidis*'in indirgenmesi bütün durumlarda incelenmiş ve ölüm oranları pH, depolama sıcaklıkları ve esansiyel yağ konsantrasyonlarına bağlı bulunmuştur.

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

Sökmen ve ark. (1999), Türkiye florasında mevcut 35 bitkiden elde edilen toplam 76 ekstraktı, 5 patojenik bakteri ve bir mayaya karşı antimikrobiyel etkileri için *in vitro* olarak incelemişlerdir. İncelenen 8 baharat bitkisinden 16 rafine edilmemiş (ham) ekstrakt, test mikroorganizmalarından en az bir ya da daha fazlasına karşı antimikrobiyel aktiviteye sahip bulunmuştur. Nostro ve ark. (2000)

tarafından *S. aureus* kullanılarak *Helichrysum italicum*, *Hieracium pilosella*, *Lonicera caprifolium*, *Nepeta cataria*, *Phytolacca dodecandra* ve *Plantago lanceolata* bitkilerinin çeşitli organlarından hazırlanan ekstratlar biyootografi tekniği ile denenmiş ve *Nepeta cataria*, *Helichrysum italicum*, *Phytolacca dodecandra* ekstratlarının çok net gözlenebilen zonlar oluşturdıkları bildirilmiştir.

Asekun ve ark. (1999), *Hyptis suaveolens* (Çördük) yapraklarının esansiyel yağlarını 5mg/mL konsantrasyonda 2 Gram (+) (*Staphylococcus aureus* ve *B. cereus*) ve 4 Gram (-) (*E.coli*'nin 2 türü ve *Pseudomonas aeruginosa*'nın 2 türü) bakteri ve *C. albicans* 'a karşı disk difüzyon yöntemi kullanarak uygulamışlar ve bu esansiyel yağların Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı etkili ve özellikle *C. albicans* 'a karşı çok etkili olduğunu belirlemişlerdir.

Sarımsak, Bakeri sarımsak, Çin pırasası, Frenk soğanı, taze soğan, soğan ve arpacık soğanı ekstratlarının antifungal aktivitesi ve minimal fungisidal konsantrasyonu *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus fumigatus* 'a karşı test edilmiştir. Bu Allium bitkileri, sarımsağın en düşük MFK göstermesiyle birlikte antifungal aktiviteye sahiptir. Taze soğan dışında, Allium bitkilerinin 3 *Aspergillus* cinsine karşı inhibitör etkileri inkübasyonun ve sıcaklığın artmasıyla azalmıştır ($P<0.05$). Ekstratların asetik asit ile muamelesi bütün bitkilerin 3 mantara karşı inhibitör etkilerini arttırmıştır ($P>0.05$) ve araştırılan 3 pH değerinde (2, 4, 6) bu etkide önemli farklılıklar yoktur. Asetik asit (Ph 4'te) ve ekstratların ısı işlem uygulaması bütün allium bitkilerinin 3 küf mantarına karşı, sadece sıcaklıkla muameleye göre daha fazla inhibitör etki göstermiştir ($P<0.05$). Ekstratların 0.2M ve 0.4M konsantrasyonlarında NaCl ile muamelesi, bitkisel esansiyel yağların inhibitör etkilerini etkilememiştir. Asetik asit muamelesi Allium bitkileri kombinasyonunu etkin bir antifungal etki göstermiştir (Yin, ve Tsao, 1999).

Rahman ve ark. (1999), *Amomum subulatum*, *Cinnamomum verum*, *Coriandrum sativum*, *Cuminum cyminum*, *Elettaria cardamonum*, *Myristica fragrans* (Mace) ve *Myristica fragrans* (Nutmeg) bitkilerinden su distilasyonu ile esansiyel yağları elde etmişlerdir. Bunların sırasıyla 1,8-cineole , cinnamaldehyde, linalool, cuminaldehyde, 1,8-cineole, terpinen-4-ol içerdiklerini GC-MS tarafından belirlemişlerdir. Çeşitli patojenik mantarlara (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*,

C. albicans, *Fusarium oxysporum* var. *lycopersici*, *Microsporum canis*, *Pseudallescheria baydii*, *Trichopyton mentagrophytes* , *Trichopyton Simi*) karşı esansiyel yağların antifungal etkisini araştırmışlar ve gelişmeyi inhibe edici etkilerinin olduğunu gözlemlemişlerdir.

Artemisia afra, *Pteronia incana* ve *Rosmarinus officinalis* esansiyel yağlarının antimikrobiyel aktiviteleri 41 mikrobiyal türe karşı test edilmiştir. Test organizmaları besin bozulması ve/veya zehirlenmesi, insan veya bitki için patojen olma gibi özelliklerinin var olmasına göre seçilmiştir. Agar difüzyon deneyi nutrient agar ve antibiyotik ortam kullanılarak yapılmıştır. Test edilen yağların hepsinin bazı antimikrobiyel aktiviteler sergilediği, bununla birlikte, bu etki test edilen mikrobiyal türlerin yanı sıra yağların tipine ve konsantrasyonuna da bağlı olduğu gözlenmiştir. *Artemisia afra* ve *Rosmarinus officinalis*, *Pteronia incana*'dan daha yüksek antimikrobiyel aktivite göstermişlerdir. Bu yağların geniş antimikrobiyel aktivitelerinin yanı sıra gıda ve kozmetik endüstrisinde koruyucu olarak ta kullanılabilecekleri bildirilmiştir (Mangena ve Muyima, 1999).

Seçilen 35 Türk endemik tıbbi bitkisinden 76 ekstrenin elde edildiği bir çalışmada, bu ekstreler *Staphylococcus aureus*, *B. cereus*, *Branhamella catarrhalis*, *E. coli*, *Clostridium perfringens* ve *C. albicans*'a karşı agar difüzyon yöntemiyle denenmiştir. 1 ile 11 mm arasında inhibisyon çapları ölçülmüş ve en güçlü aktivite *Perganum harmala* ve *Hypericum scabrum* bitkilerinin ekstrelerinde gözlenmiştir (Sökmen ve ark., 1999).

Finlandiya'da yetişen 7 bitkiden hazırlanan metanol ekstraktlarının, seçilen Gram (+) ve Gram (-) bakteri, maya, küf ve bazı bitki patojeni mantarlara karşı antimikrobiyel araştırmaları yapılmıştır (Ojola ve ark., 2000). Ekstraktlara hassasiyetleri bakımından mikroorganizmalar arasında önemli farklılıklar görülmüştür. *Petroselinum crispum* (maydanoz) ve *Ruta graveolens* (sedefotu) ekstraktları en yüksek toksisiteyi *Rhizotonia solani*'ye karşı göstermiştir. *Heterobasidium annosum*'un gelişmesi engellenmiş buna karşı, *Phytophthora (cactorum)*'nın gelişmesi bütün ekstraktlar tarafından desteklenmiştir. 6 doğal kumarin bileşiğinin antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri *Fusarium culmocuma*'ya karşı engelleyici etkileri dışında zayıf bulunmuştur.

Costa ve ark. (2000) yaptıkları çalışmada, *Eugenia dysenterica* yapraklarından elde edilen esansiyel yağların antimikrobiyel etkilerini incelemişler ve yağları *C. albicans*'ın 8 suşu ve *Cryptococcus neoformans*'ın 35 suşu üzerinde denemişlerdir. Araştırmacılar bu yağların *Cryptococcus neoformans* üzerinde çok etkili olduğunu ve bu türe ait 22 suşun 250 µg/mL esansiyel yağ konsantrasyonunda tamamen inhibe olduğunu göstermişlerdir.

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

Cox ve ark. (2000), *Melaleuca alternifolia* (çay ağacı) yağının antimikrobiyel aktivitesinin geniş spektrum sergilediğini bildirmişlerdir. Gram (-) bakteri-*E. coli*, Gram (+) bakteri-*Staphylococcus aureus* NCTC 8325 ve maya olarak da *C. albicans* mikroorganizmalarını incelemişlerdir. Test organizmalarının gelişimini; minimum inhibe edici konsantrasyon (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK)'nı; O₂ tüketimlerini incelemişlerdir. Bu esansiyel yağın sözü geçen bu mikroorganizmaların gelişimini inhibe ettiğini ve hücre membran yapısını da değiştirdiğini gözlemlemişlerdir.

Vaijayanthimala ve ark. (2000), Rajah Muthiah Tıp Fakültesi ve Hastanesi'nin vajinal mantar hastalığı bulunan hastalarından izole ettikleri 30 *C. albicans* türü kullanarak, Güney Hindistan'a özgü 20 tıp bitkisinin anticandidal aktivitesini belirlemişlerdir. Su ve ethanol ekstraktları hazırlamışlar ve onların MİK değerlerini ve minimum fungisidal konsantrasyonlarını (MFK) belirlemişlerdir. Üç bitkinin su ekstraktları anticandidal aktivite göstermemiştir. *Murrya koenigii* diğer ekstraktlarda da anticandidal aktivite göstermemiştir. Diğer bitkiler ethanol ekstraktlarında daha güçlü aktivite sergilemişlerdir. Onların aktivite prensibi, bir nonpolar çözücüde daha fazla çözünür olduklarını göstermiştir.

Yapılan bir çalışmada *Peucedanum cervaira* (L.) bitkisinin köklerinden izole edilen falcarindiol ve juglon maddeleri, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium herbaum* ve *Fusarium avenaceum* küflerine karşı kağıt disk difüzyon yöntemi kullanılarak

denenmiştir. 9 mm'lik kağıt disklerle 20 µL maddenin çözeltisinden emdirilerek, üzerinde 104 cfu/mL spor solüsyonu bulunan besiyerine yerleştirilmiştir. Disklerin çevresinde oluşan inhibisyon zonları ölçülmüş ve kağıt diskteki madde miktarı MİK değeri olarak verilmiştir. Aynı zamanda mikrodilüsyon yöntemi sıvı besiyerinde denenmiş ve iki yöntem sonuçlarının hemen hemen birbirine benzediği bildirilmiştir (Hadacek ve Greger, 2000).

Mehrabian ve Majd (2000), tarafından yapılan bir çalışmada *Rubia tinctorum*, *Carthamus tinctorius* ve *Juglans regia* bitkilerinin su, metanol ve kloroformlu ekstraktlarının, havayla taşınan bazı bakteri ve funguslara karşı antimikrobiyel etkileri agar difüzyon yoluyla araştırılmıştır. Saboraud Dextrose Agar plakları üzerinde 6.4 mm çapında çukurcuklar açılarak içlerine 200'er µl ekstrakt konulmuştur. Çalışma sonucunda, özellikle *Carthamus tinctorius* bitkisinin sulu ekstresinin tüm mikroorganizmalara karşı (*B. subtilis*, *B. cereus*, *Fusarium solani*, *Alternaria alternata*) etki gösterdiği ve 25-40 mm arasında değişen inhibisyon zonları oluşturduğu bildirilmiştir. Diğer bitki ekstraktlarının de orta derecede antimikrobiyel etkiye sahip oldukları kaydedilmiştir.

Basım ve ark. (2000), *Thymbra spicata* L. var. *spicata* bitkisinin uçucu yağını, ekonomik bakımdan önemli bitki patojenleri olan *Erwinia amylovora*, *Erwinia caratovora* pv. *caratovora*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Agrobacterium tumefaciens* ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *Vesicatoria* bakterilerine karşı test etmişler ve sırasıyla 59, 569, 91, 684, 98 ve 41 mg/mL'lik konsantrasyonları minimum bakterisidal konsantrasyonlar olarak bildirmişlerdir. Habsah ve ark. (2000), *Alpinia*, *Costus* ve *Zingiber* cinslerinin, *Zingiberaceae* türüne ait 13 bitkinin dichloromethane ve methanol ekstraktlarının antimikrobiyel ve antioksidant aktivitelerini incelemişlerdir. Ekstraktların çoğu antimikrobiyel aktivite göstermiştir. *Costus discolor* methanol ekstraktı sadece antibakterial aktivite göstermiştir ve *Aspergillus ochraceous*'a karşı antifungal aktivite göstermiştir. Ekstraktların hepsi, güçlü antioksidant aktivite göstermiştir.

İki *Pelargonium* türü, *Pelargonium exstipulatum* (Cav.) L'Herit. ve *Pelargonium odoratissimum* (L.) L'Herit (Geraniaceae) ve bir hibrit P.x fragrans yapraklarından buhar distilasyonu yoluyla elde edilen esansiyel yağların kimyasal

bileşenlerinin GC ve GC-MS ile belirlendiği çalışmada metil eugenol, *Pelargonium odorassitimum* ve *Pelargonium x fragrans*'da yüksek bulunmuştur. Fenchone ve limonen, üç bitkide de aynıdır. Thujene ve α -pinene, *Pelargonium exstipulatum* ve *Pelargonium odorassitimum*'da yüksektir. *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus vulgaris* ve *B. cereus*'a karşı mikrobiyal aktiviteleri *Pelargonium odorassitimum* ve *Pelargonium x fragrans* için benzerdir. Sonuçlar, bu esansiyel yağların antimikrobiyel ajan olarak gıda koruyucularda kullanılabileceği yönündedir (Lis-Balchin ve Roth, 2000).

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

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

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

Larhsini ve ark. (2001), Fas'a özgü bazı tıbbi bitkilerin antibakteriyel etkilerini incelemişlerdir. *Calotropis procera*'nın yaprak ve çiçeklerinden elde edilen ekstraktlar *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *S. typhi*' e karşı sırasıyla 12.2; 10.5; 12.3 mm inhibisyon zonu oluşturarak antibakteriyel etkisinin olduğu gözlemlenmiştir. *E.caryophyllata* (karanfil) ekstraktının da antibakteriyel etkili olduğu gözlemlenmiştir. Bu antibakteriyel etki, gentamycin ve tetracylin antibiyotikleri kullanılarak karşılaştırılmış ve benzer sonuçlar alınmıştır.

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

Karaman ve ark. (2001), Türkiye için endemik bir bitki olan *Thymus revolutus*'ın esansiyel yağının kimyasal bileşimini GC/MS ile belirlemişler ve 22 bileşikten oluştuğunu ve carvacrolun bu yağın bileşimindeki en etkili bileşik olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, esansiyel yağı 11 bakteri ve 4 mantara karşı farklı konsantrasyonlarda test etmişler, sonuçta bu yağın önemli miktarda antibakteriyel ve antifungal etki sergilediğini gözlemlemişlerdir.

Cannabis sativa'nın beş farklı çeşidinin esansiyel yağları başlıca α -pinene, myrcene, trans- β -ocimene, α -terpinolene, trans-caryophyllene ve α -humulene bileşiklerini içermektedir. α -terpinolene içeriğine göre çeşitleri iki ayrı grupta toplamak mümkündür: Batı Avrupa grubu çeşitleri yaklaşık %8 ve Fransa grubu çeşitleri %16 civarında α -terpinolene içerirler. *Cannabis sativa* esansiyel yağının antimikrobiyel aktivitesi az olarak kabul edilebilir. Yine de kültür farklılıkları görülebilir. Δ -9-tetrahydrocannabinol (THC) hiçbir esansiyel yağda belirlenememiştir ve diğer cannabiol miktarları bakımından da çok fakirdir. Esansiyel yağların antimikrobiyel aktivitesi için 21 test suşu kullanılmıştır. Antimikrobiyel aktivite sadece *SwissMix*, *Felina 34*, *Fedrina 74*, *Kompolti*, *Secuemi* kültür organizmaları üzerinde gözlemlenmiştir (Novak ve ark., 2001).

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

inhibe etmiştir. *S. carlsbergensis* ve *Rhodotorula* spp. karşı *Larrea cuneifolia*'nın MİK değeri, 100-130 µg/ mL⁻¹ olarak belirtilmiştir.

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

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

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

Juteau ve ark. (2002), *Artemisia annua* esansiyel yağının antimikrobiyel etkisini incelemişler ve Gram-pozitif bir bakteri olan *Enterococcus hirae* ve her iki test mantarını (*C. albicans* ve *S. cerevisiae*) inhibe ettiğini gözlemlemişlerdir. Esansiyel yağın camphor, germacrene D (1-methyl-5-methylene-8-(1-methylethyl)-1,6-cyclodecadiene), trans-pinocarveol, β -selinene, β -caryophyllene ve artemisia ketone bileşiklerinden oluştuğu saptanmıştır. Antioksidant aktivite, referans bileşiğin (α -tocopherol) %18'ine eşit olduğunu belirtmişlerdir. Zayıf antioksidant etkisine rağmen, aromaterapide kullanım için iyi bir potansiyele sahip olduğunu belirtmişlerdir.

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

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

Alippi ve ark. (2002), Kekik otu (*Satureja hortensis*), Melez lavanta (*Lavandula hybrids*), ökaliptus (*Globulus*), Limon otu (*Cymbopogon citratus*), nane

(*Mentha x piperita*), oregano (*Origanum vulgare*), Biberiye (*Rosmarinus officinalis*) ve kekik (*Thymus vulgaris*) esansiyel yağlarının antimikrobiyel aktivitelerini *Paenibacillus larvae* 'ye karşı test etmişlerdir. Test edilen esansiyel yağların hepsi, *Paenibacillus larvae* 'ye karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir. Limon otu esansiyel yağının MİK değerleri 50-100µl/l arasında iken, kekik esansiyel yağının MİK değerleri 100-150µl/l arasında değişmiştir. Biberiye için MİK değeri 700 µl/l dir. Ökalyptus için MİK değerinin 700 µl/l'den daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Kekik otu ve kekik esansiyel yağlarının MİK değerlerinin 250-450 µl/l arasında değiştiği bildirilmiştir.

Stange ve ark.(2002)'nın, *Penicillium* türleri üzerinde farklı *Citrus* kabuk ekstraktlarının etkisini araştırdıkları çalışmada, 7 farklı *Citrus* kabuğundan %80'lik etanolle elde edilen ekstraktların *Penicillium* türleri üzerindeki etkisi incelemişlerdir. Sonuç olarak, bu ekstraktların; *Penicillium* türlerinden bazılarını (*Penicillium expansum*, *Penicillium italicum*, *Penicillium digitatum*) teşvik edici etkisinin olduğu, ancak bunun yüksek seyreltmelerde etkisinin azaldığı bildirilmiştir. Bu küflere karşı en fazla etkili olan maddelerin ise seskuiterpen ve monoterpen (limonen dışında) olduğu ifade edilmiştir. Bunun dışında; *Penicillium expansum* üzerinde daha az çalışma yapıldığı bunun nedeninin ise bu küfün 21 tür bitkide hastalığa yol açmasına rağmen *Citrus* meyvelerinde hastalığa neden olmaması olarak belirtilmiştir.

Baydar ve ark. (2003), Türkiye'de ticari öneme sahip *Origanum*, *Thymra* ve *Satureja* cinsi bitkilerden elde edilen esansiyel yağların antibakteriyel etkileri ilgili yaptıkları çalışmada % 0.01 (h/h) esansiyel yağ konsantrasyonlarının incelenen bakteri türlerinin tümünün gelişimini inhibe ettiğini belirtmişlerdir

Prashar ve ark. (2003), *S. cerevisiae* üzerine palmarosa esansiyel yağının (*Cymbopogon martini*) etkisini incelemişler ve % 0.1 gibi düşük konsantrasyonların *S. cerevisiae* hücrelerinin gelişimini tamamen inhibe ettiğini bulmuşlardır.

Navarro-Garcia ve ark. (2003), Meksika'ya özgü geleneksel 9 bitkiden elde edilen 18 bitki ekstraktının antifungal aktivitesini iki dermatophyte mantar türü (*Trichophyton mentagrophytes* ve *Trichophyton rubrum*), bir dermoyophyte olmayan mantar türü (*Aspergillus niger*) ve bir mayaya (*C. albicans*) karşı denemişlerdir. En güçlü etkiyi, *Lysiloma acapulcensis* ve *Annona cherimolia* metanol ekstraktlarının

yanı sıra, *Eupatorium aschenbornianum* ve *Sedum oxypetalum* hexane ekstraktlarının gösterdiği bildirilmiştir.

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

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

Yıldırım ve ark. (2003), eter ve etanol ekstraktlarının, Gr (+) bakteriler olan, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *B. subtilis* ATCC 6633'e karşı antimikrobiyel aktivite gösterdiğini buna karşın su ekstraktının göstermediğini bildirmişlerdir. Bazı fenolik bileşikler, özellikle polar olmayanlardan, daha iyi antimikrobiyel aktivite göstermiştir. Etanol ve su ekstraktları yüksek miktarda fenolik bileşikler içermesine rağmen, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *B. subtilis* ATCC 6633'e karşı yalnız etanol ekstraktı antimikrobiyel aktivite göstermiştir. Küçük miktarlarda fenolik bileşik içeren eter ekstraktı bu her iki mikroorganizmaya karşı antimikrobiyel etki göstermiştir.

Şahin ve ark. (2004), Türkiye'nin Doğu Anadolu Bölgesi'nde yetişen *Origanum vulgare* ssp. *vulgare*'den elde edilen esansiyel yağların biyolojik aktiviteleri ile ilgili yaptıkları bir çalışmada, bu yağın 10 bakteri, 15 küf ve maya cinsleri üzerinde güçlü antimikrobiyel etkisinin olduğunu bu etkisi yanında güçlü

antioksidan aktiviteye sahip olduğunu ve bu nedenle gıda ürünlerinde koruyucu olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

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

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

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

Scutellaria barbata bitkisi esansiyel yağının buhar distilasyonu ile elde edildiği bir araştırmada, esansiyel yağın temel bileşenleri olarak hexahydrofarnesylacetone (%11.0), 3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadecen-1-ol (%7.8), mentol (%7.7) ve 1-octen-3-ol (%7.1) bulunmuştur. Antimikrobiyel aktivite 17 mikroorganizmaya karşı disk difüzyon ve broth mikroseyreltme metodu kullanılarak değerlendirilmiştir. Gr (+) bakteri, metisillin dirençli *Staphylococcus aureus*, bu yağa Gr(-) bakteri ve mayalardan daha hassastır. En hassas mikroorganizma 29 mm zon çapı ile *Staphylococcus epidermididis* olmuştur. *Staphylococcus aureus* ve

Staphylococcus heamolyticus 21-26mm ile güçlü inhibisyon zonları verirken, *S. paratyphi-A*, *Enterococcus faecalis* ve *C. albicans* ise 7-9 mm arasında zayıf inhibisyon zonları vermiştir. MİK sonuçlarına göre, bu yağ *S. paratyphi-A* dışında, diğer tüm mikroorganizmaları inhibe etmiştir. Sonuç olarak, bu yağın güçlü bir bakterisidal etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir (Yu ve ark., 2004).

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

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

Bisht ve ark. (2006), *Hedychium spicatum* (Zingiberaceae) bitkisinin gövdesinden elde edilen ekstraktların antifungal ve antibakteriyel aktivitesini incelemişlerdir. Esansiyel yağ, petrol eteri ve kloroform ekstraktlarının, Gr(+) ve

Gr(-) bakteri kültürlerine karşı inhibitör etkisi olduğu ve geniş bir spektrum gösterdiği bulunmuştur.

Rasooli ve ark. (2006), *Listeria monocytogenes*'de kekik esansiyel yağının antimikrobiyel etkisini araştırmışlar ve bu etkiyi elektron mikroskopunda gözlemlemişlerdir. Elde edilen esansiyel yağın güçlü antimikrobiyel etkisi olduğu belirlenmiştir. Gaz kromatografisi ile yapılan analizde *Thymus eriocalyx* ve *Thymus x-porlock*'da sırasıyla 18 ve 19 bileşik olduğu bulunmuştur. Bu iki türden elde edilen esansiyel yağlarla muamele edilen *Listeria monocytogenes*'in sitoplazmasının zarar gördüğü elektron mikroskopunda gözlemlenmiştir. Ayrıca, inhibisyon zonu *Thymus eriocalyx* ve *Thymus x-porlock*'da sırasıyla 27 ve 33 mm ; MİK ise 250 ppm olarak belirlemişlerdir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. MATERYAL

3.1.1. Esansiyel Yağ ve Diğer Malzemeler

Çalışmada kullanılan DL-Limonen Sigma-Aldrich (Almanya)'dan, Fungizone 50 mg Bristol-Myers Squibb (Taiwan)'dan, Tween 80 Merck (Almanya)'den, Etanol Sigma-Aldrich (Almanya)'dan alınmıştır. Araştırmada 1cm çapında beyaz renkli Whatmann marka filtre kağıtları kullanılmıştır.

3.1.2. Mikroorganizmalar

Denemelerde ticari ve izole 14 farklı maya suşu kullanılmış ve kullanılan mayalar Çizelge 3.1'de verilmiştir. Maya suşları Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. Hüseyin ERTEN' den temin edilmiştir.

Çizelge 3.1. Araştırmada Kullanılan Mayalar

Ticari Aktif Kuru Mayalar	İzole Mayalar	
	İzole Edilen Mayalar	Mayaların İzole Edildiği Üzümler*
<i>S. cerevisiae</i> (Zymoflore), <i>S.cerevisiae</i> (Fermiblanç), <i>S.cerevisiae</i> (Fermirouge), <i>S.cerevisiae</i> (Maurivin), <i>S.cerevisiae</i> (Lalvin)	<i>Kluyveromyces</i> (<i>K.</i>) <i>thermotolerans</i> ,	Emir 98 7.gün
	<i>K. apiculata</i> ,	Emir 99 7.gün
	<i>Candida</i> (<i>C.</i>) <i>datilla</i> ,	Emir 99 1.gün
	<i>C.pulcherima</i> ,	Emir 99 2.gün
	<i>C. bolmii</i> ,	Kalecik Karası 98 1.gün
	<i>Rhodotorula</i> (<i>R.</i>) <i>glutinis</i> ,	Kalecik Karası 98 8.gün
	<i>Hanseniaspora</i> (<i>H.</i>) <i>uvarum</i> NCYC 25,	
	<i>S.bayanus</i> N387,	
	<i>Pichia</i> (<i>P.</i>) <i>subpelliculuse</i> NCYC 436.	

* Üzüm çeşitlerinin yanında bulunan günler ve yıllar, mayaların izole edildiği fermantasyon gününü ve üzümlerin elde edildiği yılları vermektedir.

3.1.3. Besiyerleri

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi için uygulanan disk difüzyon yönteminde Malt Extract Agar (Merck) ve MİK değerinin belirlenmesi için ise Malt Extract Broth (Merck) besiyerleri kullanılmıştır. DL-Limonenin *Saccharomyces cerevisiae*'nin etil alkol oluşumuna etkisinin belirlenmesi çalışmalarında ise Emir üzüm şırası kullanılmıştır.

3.2. METOT

3.2.1. Mikrobiyel Kùltürlerin Çoğaltılması ve Saklanması

Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakùltesi Gıda Mühendisliğı Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarında Malt Extract Agar üzerinde + 4 °C’de saklanan stok kùltürleri ve ticari mayalar, 10 mL’lik Malt Extract Broth besiyerinde 25 °C’de 24-36 saat’lik inkübasyonla çoğaltılmışlardır.

3.2.2. Tek Koloni Eldesi

Ticari aktif kuru mayalar dilüsyon sıvısında çözündürüldükten sonra 10^{-4} ’e kadar seyreltme yapılmış ve bu 10^{-4} ’lük seyreltmeden 0.1 mL alınarak yayma ekim yapılmıştır. İzole mayalar ise, bulundukları kùltürdeki kolonilerden öze yardımı ile alınarak yayma ekim yapılmıştır.

3.2.3. Esansiyel Yağın Antimikrobiyal Etkisinin Belirlenmesi

Antimikrobiyal etkinin belirlenmesinde “Disk difüzyon yöntemi” ve “Minimum inhibe edici konsantrasyon yöntemi” kullanılmıştır.

3.2.3.1. Disk Difüzyon Yöntemi

Bu yöntemin esası, esansiyel yağ içeren ve inokülasyon ortamına temas eden rezervuarın (filtre kağıdı) etrafında, inkübasyon sonrasında oluşan zon çapının ölçülmesine dayanmaktadır (Janseen ve ark., 1987). Çalışmada yayma ekim yöntemi ve Malt Extract Agar besiyeri kullanılmıştır.

Ekilecek mikroorganizmaların ön kùltürleri hazırlanmıştır. Bu amaçla, tek koloni düşürme yöntemi ile elde edilen mayalardan birer koloni alınarak, 5 mL Malt Extract Broth ‘a süspansiyon yapılmıştır. Mikroorganizma süspansiyonları 25 °C’de 48 saat süreyle inkübe edilmişlerdir. Inkübasyon sonrasında mikroorganizma

süspansiyonlarından 0.3 mL alınarak yayma ekim yapılmıştır. Daha sonra 1 cm çapındaki diskler petri kutularına her bir petri için 3 adet olacak şekilde yerleştirilmiş ve disklerle saf haldeki (yoğunluk: 0.842 g/mL) DL-Limonen çeşitli konsantrasyonlarda (10, 25, 50 µl) emdirilmiştir. Aynı petri kutusundaki zon çaplarının çakışmaları durumunda deneme bir petri kutusunda tek bir disk kullanılarak üç paralelli tekrar edilmiştir. Daha sonra, petriler 25°C’de 72 saat inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonrasında disklerin çevresinde oluşan ve gelişmenin olmadığı engelleme zonu ölçülerek cm cinsinden verilmiştir (Samy ve ark., 1998; Tabak ve ark., 1999, Yin ve Tsao, 1999, Dorantes ve ark., 2000, Novak ve ark., 2001, Haznedaroğlu ve ark., 2001, Yıldırım ve ark., 2003).

3.2.2.2. Minimum İnhibe Edici Konsantrasyon Yöntemi

MİK değerleri, seri seyreltme yöntemine göre 62.5-4000 µg/mL DL-Limonen aralığındaki konsantrasyonlarda belirlenmiştir. Bu amaçla, DL-Limonen saf etil alkolde çözündürüldükten sonra (4 mL etanol: 1 mL DL-Limonen), gereken miktarda alınıp % 0.5 (h/h) Tween 80 içeren sıvı besiyerine ilave edilmiştir. Bu karışımdan 27 mL alınarak üzerine 10⁶ hücre/mL oranında maya içeren 3 mL kültür sıvısı eklenmiştir. Daha sonra erlenler 25°C’de 48-72 saat inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonrasında üremenin görülmediği konsantrasyon değeri MİK değeri olarak saptanmıştır (Johnston ve ark., 2001; Yu ve ark., 2004).

3.2.4. DL-Limonenin Etil Alkol Üretimine Etkisi

DL-Limonenin *Saccharomyces cerevisiae*’da etil alkol üretimine etkisinin belirlenmesi için besiyeri olarak Emir üzüm şırası kullanılmıştır. *Saccharomyces cerevisiae* maya türünün bulunduğu kültürdeki kolonilerden öze yardımı ile örnekler alınmış ve tek koloni düşecek şekilde 2 defa malt ekstrakt agar besiyerlerine ekim yapılmış ve 25°C’de 48 saat inkübatörde bırakılmıştır. Daha sonra elde edilen tek koloniler malt ekstrakt broth sıvı besiyerine aşılanmış ve 140 rpm’de orbital karıştırıcıda 25°C’de 48 saat süreyle bırakılmıştır. Süre sonunda içerisinde 250’şer

mL üzüm şırası bulunan 500 mL'lik erlenlere malt ekstrakt broth besiyerinde çoğaltılan mayalardan 25'er mL aşılantıdır. Daha sonra erlenlere sırasıyla 500, 1000, 2000 µg/mL konsantrasyonlarda DL-Limonen ilave edilmiştir. DL-Limonen saf etil alkolde çözüldükten sonra (4 mL etanol: 1 mL esansiyel yağ) her erlene % 0.5 (h/h) Tween 80 ilave edilerek karıştırılmıştır. Aşılantı işlemleri tamamlanan örnekler, yine 140 rpm'de orbital karıştırıcıda 25°C'de 1 hafta süreyle bırakılmıştır. Fermentasyon boyunca örneklerde günlük olarak canlı maya sayımı ve brix ölçümleri yapılmıştır.

$$\text{Thoma lamında canlı maya sayımı: } \frac{4 \times 10^6 \times N \times A \times S}{160}$$

N: Canlı sayısı

A: Seyreltme (1:1)

S: Dilisyon seyreltme (2.5 g/L NaCl)

3.2.5. Fermantasyon Ürünlerinin Belirlenmesi

3.2.5.1. Etil Alkol Tayini

Etil alkol miktarı Shimadzu GC-14B (Kyoto, Japonya) marka alev iyonlaşma dedektörlü gaz kromatografisi (GC) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Örnekler % 1'in altında etil alkol içerecek şekilde saf suyla seyreltildikten sonra iç standart ilave edilerek gaz kromatografisine direkt enjekte edilmişlerdir. Standart olarak % 1'lik (h/h) mutlak etil alkol (% 99.9) ve iç standart olarak % 1'lik (h/h) n-butanol kullanılmıştır (Erten ve Campbell, 2001). Etil alkol analizlerinde elde edilen örnek kromatogram Şekil 3.1'de verilmiştir. GC koşulları aşağıdaki gibidir;

Enjeksiyon: Split (1:70)

Dedektör: Alev İyonlaşma Dedektörü

Kolon: CP-WAX 57-CB (Chrompack, Hollanda) 60 m uzunluk, 0.25 mm iç çap ve 0.4 µm film kalınlığında fused silika kapiler kolon

Enjeksiyon Sıcaklığı: 180 °C

Dedektör Sıcaklığı: 200 °C

Kolon Sıcaklığı: 70 °C izotermal

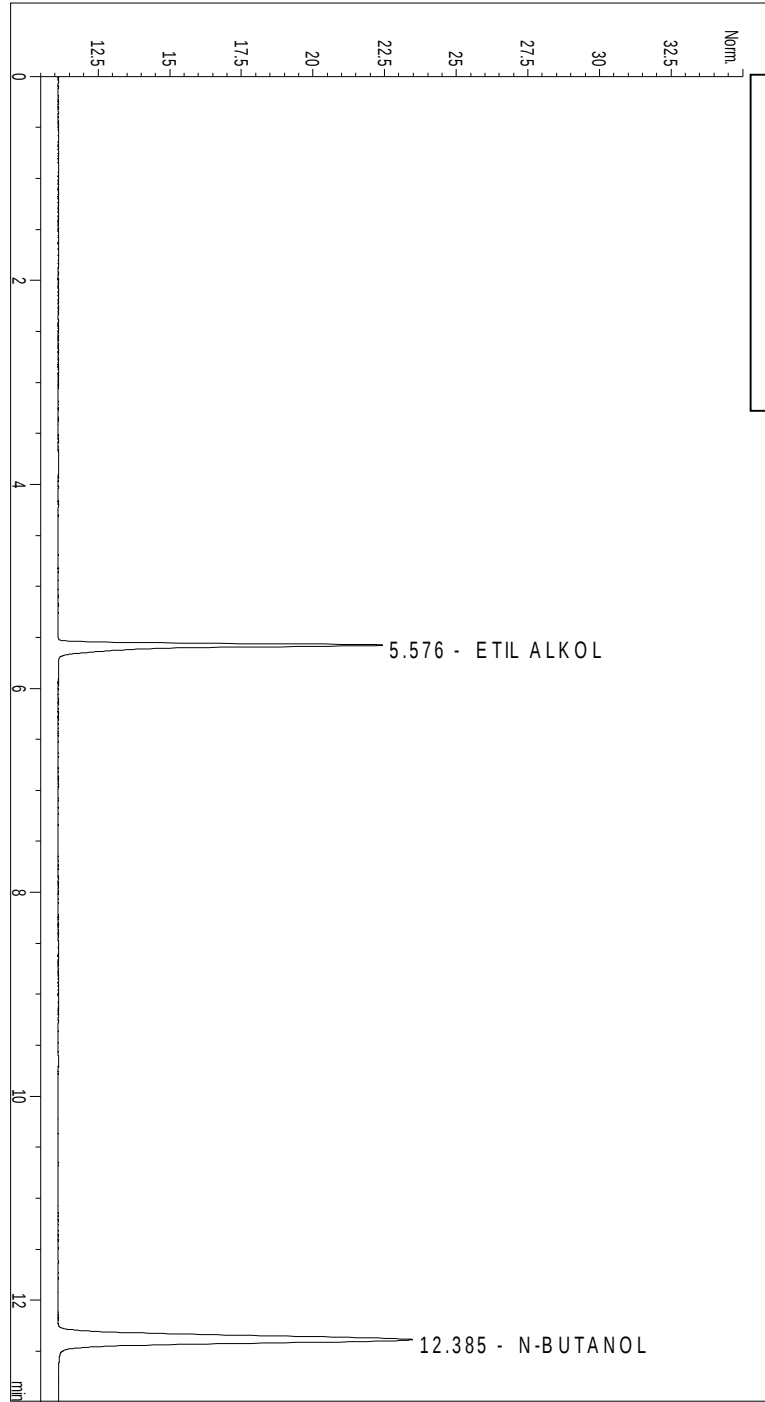
Taşıyıcı Gaz: Helyum (akış hızı 3 mL/dak.)

Diğer Gazlar: Kuru hava (akış hızı 350 mL/dak.) ve Hidrojen (akış hızı 35 mL/dak.)

Enjeksiyon Miktarı: 1 µL

Maddelerin Alıkonma Zamanları:

<u>Bileşen</u>	<u>Alıkonma Zamanı (dakika)</u>
Etil Alkol	5.576
n-butanol (iç standart)	12.385



Şekil 3.1. Etil alkol analizlerinde elde edilen örnek kromatogram

3.2.5.2. Aroma Maddelerinin Tayini

Örneklerdeki izoamil asetat, etil asetat, 2-metil-1-butanol ve 3-metil-1-butanol miktarları iç standart yöntemiyle belirlenmiştir (Erten ve Campbell, 2001). Analizlerde Shimadzu GC-14B (Kyoto, Japonya) marka alev iyonlaşma dedektörlü gaz kromatografisi (GC) kullanılmıştır. Alıkonma zamanları standart maddelerin tek tek GC'ye enjekte edilmesi ile belirlenmiştir. 5 farklı konsantrasyondaki kalibrasyon çözeltileri gaz kromatografisine 3 tekerrürlü enjekte edilmiş ve elde edilen piklerin alanları temel alınarak her bir bileşik için cevap faktörü hesaplanmıştır. Aroma maddelerinin miktarı cevap faktörleri kullanılarak hesaplanmıştır (Anon., 2002). Kalibrasyon grafiklerinin değerlendirilmesiyle elde edilen veriler Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Aroma Maddelerinin Kalibrasyon Verileri

Bileşikler	Korelasyon	Standart Sapma	Doğrusal Kalibrasyon Denklemi
Etil Asetat	0.9998	0.01239	$y = 0.54682x$
İzoamil Asetat	0.9997	0.02343	$y = 0.65432x$
2-metil-1-bütanol	0.9996	0.03227	$y = 1.04388x$
3-metil-1-bütanol	0.9996	0.03165	$y = 1.05023x$

3.2.5.2.1. Cevap Faktörünün Hesaplanması

Her bir aroma maddesi için cevap faktörü aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır (Anon., 2002).

$$RF = \frac{\text{Standartın Pik Alanı}}{\text{Bileşiğin Pik Alanı}} \times \frac{\text{Bileşiğin Konsantrasyonu}}{\text{İç Standartın Konsantrasyonu}}$$

3.2.5.2.2. Aroma Maddelerinin Miktarlarının Hesaplanması

Örneklerdeki aroma maddelerinin konsantrasyonları aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmış, sonuçlar mg/l cinsinden verilmiştir (Kelly ve ark., 1999).

$$C_i = (A_i / A_{st}) \times C_{st} \times RF$$

C_i : Bileşiğin konsantrasyonu (mg/L)

A_i : Bileşiğin pik alanı

A_{st} : İç standardın pik alanı

C_{st} : İç standardın konsantrasyonu (mg/L)

RF : Cevap faktörü.

İç standart olarak 58.4 mg/L konsantrasyonunda 3-pentanol kullanılmıştır. Aroma maddelerinin analizlerinde elde edilen örnek kromatogram Şekil 3.2’de verilmiştir. GC koşulları aşağıdaki gibidir;

Enjeksiyon: Split (1:50)

Dedektör: Alev İyonlaşma Dedektörü

Kolon: CP-WAX 57-CB (Chrompack, Hollanda) 60 m uzunluk, 0.25 mm iç çap ve 0.4 µm film kalınlığında fused silika kapiler kolon

Enjeksiyon Sıcaklığı: 160 °C

Dedektör Sıcaklığı: 180 °C

Kolon Sıcaklığı: 40 °C’de 4 dak. İzotermal

40 °C’den **à** 94 °C’ye 1.8 °C/dak. artış

94 °C’den **à** 180 °C’ye 30 °C/dak. artış

180 °C’de 4 dak. izotermal

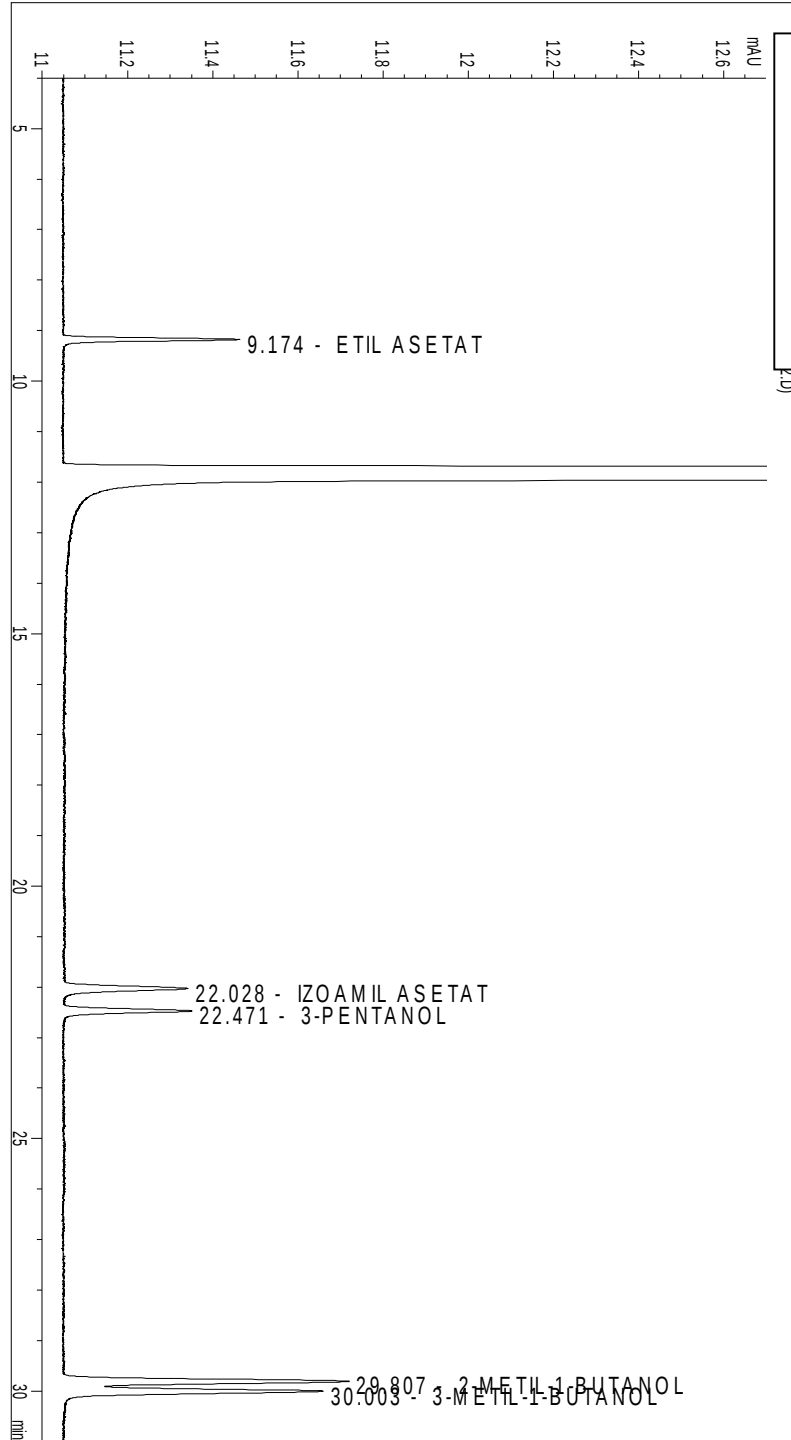
Taşıyıcı Gaz: Helyum (akış hızı 1.3 mL/dak.)

Diğer Gazlar: Kuru hava (akış hızı 350 mL/dak.) ve Hidrojen(akış hızı 35 mL/dak.)

Enjeksiyon Miktarı: 1 µL

Maddelerin Alıkonma Zamanları:

<u>Bileşen</u>	<u>Alıkonma Zamanı (dakika)</u>
Etil Asetat	9.174
İzoamil Asetat	22.028
3-pentanol (iç standart)	22.471
2-metil-1-butanol	29.807
3-metil-1-butanol	30.003



Şekil 3.2. Aroma maddelerinin analizlerinde elde edilen örnek kromatogram

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA**4.1. Disk Difüzyon Yöntemiyle DL-Limonenin Antifungal Etkisinin Belirlenmesi**

DL-Limonenin, bazı mayalara karşı antifungal etkisi disk difüzyon yöntemiyle üç paralelli olarak test edilmiştir. Denemelerde şarap üretiminde inokulum olarak kullanılan ticari ve Gıda Mühendisliği Bölümünde daha önceden şarap fermantasyonu sırasında izole edilen 14 farklı maya suşu kullanılmıştır. Sonuçlar ortalama zon çapları olarak (mm) Çizelge 4.1’de verilmiştir. Kontrol grubu olarak Fungizone 50 µl/disk kullanılmıştır.

Çizelge 4.1. DL-Limonenin mayalar üzerine antifungal etki zonları ve bunların Fungizone ile karşılaştırılması.

MAYALAR	Zon Çapları (mm)			
	10 µl	25 µl	50 µl	Kontrol (50 µl) Fungizone
<i>K.thermotolerans</i>	13.0	15.0	18.6	16.0
<i>K. apiculata</i>	26.0	31.3	41.0	21.0
<i>C.datilla</i>	32.0	37.6	43.3	15.0
<i>C.pulcherima</i>	17.6	21.0	25.5	20.0
<i>C.bolmii</i>	27.5	30.0	39.3	25.0
<i>R.glutinis</i>	25.0	32.0	40.0	22.0
<i>H.uvarum</i> NCYC 25	23.0	33.3	39.0	19.0
<i>S.bayanus</i> N387	25.0	31.0	40.0	20.0
<i>P. subpelliculose</i> NCYC 436	30.3	36.3	48.0	19.0
<i>Zymoflore</i>	25.0	33.0	43.3	23.0
<i>Maurivin</i>	30.0	35.6	46.3	17.0
<i>Lalvin</i>	29.3	34.6	42.3	20.0
<i>Fermiblanc</i>	23.0	31.0	35.6	18.0
<i>Fermirouge</i>	27.6	32.6	44.3	14.0

Çizelge 4.1’den de görülebileceği gibi, DL-Limonen’in disk difüzyon yöntemi uygulanmasıyla denenen bütün mikroorganizmalarda zon çapları oluşmuş ve bu yağın antifungal etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, kontrol grubu olarak kullanılan Fungizone antibiyotigine kıyasla daha büyük zonların oluştuğu gözlemlenmiştir. Bu esansiyel yağın kullanılan antibiyotikten daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır. DL-Limonen esansiyel yağ konsantrasyonu arttıkça antifungal etkinin arttığı gözlemlenmiştir.

Limonen esansiyel yağı 10 µl/disk olarak uygulandığında *C. datilla* suşunda inhibisyon zonu 32.0 mm olarak ölçülürken; 25 µl/disk bulunan petride inhibisyon zonu 37.6 mm; 50 µl/disk bulunan petride ise inhibisyon zonu 43.3 mm olarak ölçülmüştür. Kontrol olarak kullanılan Fungizone’un 50 µl/disk olarak bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 15.0 mm olarak ölçülmüştür. Limonenin

kullanılan antibiyotiğe kıyasla daha çok etkili olduğu gözlemlenmiş, tekrarlanan denemelerde de sonuçlar aynı çıkmıştır.

K. thermotolerans suşu, diğer suşlara göre daha az hassasiyet göstermiştir. DL-Limonen 'in 10 µl/disk olarak bulunduğu petri kutusunda inhibisyon zonu 13.0 mm olarak ölçülürken; 25 µl/disk olarak bulunduğu petri kutusunda inhibisyon zonu 15.0 mm ; 50 µl/disk bulunan petride 18.6 mm olarak ölçülmüştür. Kontrol olarak kullanılan Fungizone'un 50 µl/disk olarak bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 1.60 mm olarak ölçülmüştür. Sadece bu maya suşunda limonen- fungizone inhibisyon zonları birbirine yakın çıkmıştır.

C.bolmii suşunda limonenin 10 µl/disk olarak bulunduğu petride inhibisyon zonu 27.5 mm; 25 µl/disk bulunan petride inhibisyon zonu 30.0 mm ; 50 µl /disk bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 39.3 mm olarak ölçülmüştür. Kontrol olarak kullanılan Fungizone'un 50 µl/disk olarak bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 25.0 mm olarak ölçülmüştür.

C.pulcherima suşunda limonenin 10 µl/disk olarak bulunduğu petride inhibisyon zonu 17.6 mm ; 25 µl/disk bulunan petride inhibisyon zonu 21.0 mm; 50 µl/disk bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 25.5 mm olarak ölçülmüştür. Kontrol olarak kullanılan Fungizone'un 50 µl/disk olarak bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 20.0 mm olarak ölçülmüştür.

P. subpelliculuse NCYC 436 suşunda limonenin 10 µl/disk olarak bulunduğu petride inhibisyon zonu 30.3 mm; 25 µl/disk bulunan petride inhibisyon zonu 36.3 mm; 50 µl/disk bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 48.0 mm olarak ölçülmüştür. Kontrol olarak kullanılan Fungizone'un 50 µl/disk olarak bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 19.0 mm olarak ölçülmüştür.

H.uvarum NCYC 25 suşunda limonenin 10 µl/disk olarak bulunduğu petride inhibisyon zonu 23.0 mm; 25 µl/disk bulunan petride inhibisyon zonu 33.3 mm; 50 µl/disk bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 39.0 mm olarak ölçülmüştür. Kontrol olarak kullanılan Fungizone'un 50 µl/disk olarak bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 19.0 mm olarak ölçülmüştür.

R. glutinis suşunda limonenin 10 µl/disk olarak bulunduğu petride inhibisyon zonu 25.0 mm; 25 µl/disk bulunan petride inhibisyon zonu 32.0 mm; 50

μ l/disk bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 40.0 mm olarak ölçölmüştür. Kontrol olarak kullanılan Fungizone'un 50 μ l/disk olarak bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 22.0 mm olarak ölçölmüştür.

S.bayanus N387 suşunda limonenin 10 μ l/disk olarak bulunduğu petride inhibisyon zonu 25.0 mm; 25 μ l/disk bulunan petride inhibisyon zonu 31.0 mm; 50 μ l/disk bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 40.0 mm olarak ölçölmüştür. Kontrol olarak kullanılan Fungizone'un 50 μ l/disk olarak bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 20.0 mm olarak ölçölmüştür.

K. apiculata suşunda limonenin 10 μ l/disk olarak bulunduğu petride inhibisyon zonu 26.0 mm; 25 μ l/disk bulunan petride inhibisyon zonu 31.3 mm; 50 μ l/disk bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 41.0 mm olarak ölçölmüştür. Kontrol olarak kullanılan Fungizone'un 50 μ l/disk olarak bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 21.0 mm olarak ölçölmüştür.

Zymoflore suşunda limonenin 10 μ l/disk olarak bulunduğu petride inhibisyon zonu 25.0 mm; 25 μ l/disk bulunan petride inhibisyon zonu 33.0 mm; 50 μ l/disk bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 43.3 mm olarak ölçölmüştür. Kontrol olarak kullanılan Fungizone'un 50 μ l/disk olarak bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 23.0 mm olarak ölçölmüştür.

Maurivin suşunda limonenin 10 μ l/disk olarak bulunduğu petride inhibisyon zonu 30.0 mm; 25 μ l/disk bulunan petride inhibisyon zonu 35.6 mm; 50 μ l/disk bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 46.3 mm olarak ölçölmüştür. Kontrol olarak kullanılan Fungizone'un 50 μ l/disk olarak bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 17.0 mm olarak ölçölmüştür.

Lalvin suşunda limonenin 10 μ l/disk olarak bulunduğu petride inhibisyon zonu 29.3 mm; 25 μ l/disk bulunan petride inhibisyon zonu 34.6 mm; 50 μ l/disk bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 42.3 mm olarak ölçölmüştür. Kontrol olarak kullanılan Fungizone'un 50 μ l/disk olarak bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 20.0 mm olarak ölçölmüştür.

Fermiblanc suşunda limonenin 10 μ l/disk olarak bulunduğu petride inhibisyon zonu 23.0 mm; 25 μ l/disk bulunan petride inhibisyon zonu 31.0 mm; 50 μ l/disk bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 35.6 mm olarak ölçölmüştür.

Kontrol olarak kullanılan Fungizone'un 50 µl/disk olarak bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 18.0 mm olarak ölçülmüştür.

Fermirouge suşunda limonenin 10 µl/disk olarak bulunduğu petride inhibisyon zonu 27.6 mm; 25 µl/disk bulunan petride inhibisyon zonu 32.6 mm; 50 µl/disk bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 44.3 mm olarak ölçülmüştür. Kontrol olarak kullanılan Fungizone'un 50 µl/disk olarak bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 14.0 mm olarak ölçülmüştür.

Mazzanti ve ark. (1997), *Hyssopus officinalis L. var decumbens (Lamiaceae)* bitkisinde tespit ettikleri linalol (%51.7), 1,8-cineole (%12.3) ve limonen (%5.1) esansiyel yağlarının antimikrobiyel etkisini incelemişlerdir. Disk difüzyon testleri Gram-pozitif (*Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus spp.*) ve Gram-negatif (*Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas spp.* ve *Salmonella spp.*'nin iki cinsi) bakteriler kullanılarak yapılmıştır. 1,8 Cineole *Pseudomonas aeruginosa* 514'e karşı inaktif olduğu, buna karşılık diğer mikroorganizmaların gelişimini inhibe ettiğini gözlemlemişlerdir. Maksimum inhibisyon *Staphylococcus aureus* 484'e karşı belirlenmiştir (inhibisyon >25mm). Saf limonenin bütün Gram(-) bakteriler ve *Enterococcus faecalis* 413'e karşı inaktif olduğu fakat *Staphylococcus aureus* 484'e ve *Candida albicans* 308'e karşı aktif olduğu belirlenmiştir (inhibisyon >25mm). *Candida albicans* 615 ise en fazla direnci göstermiştir (inhibisyon zonu 2 mm). Linalol'ün en aktif bileşik olduğu kanıtlanmıştır. *Staphylococcus aureus* 484 ve *E.coli* 910 gelişimini tamamen inhibe etmiştir (inhibisyon >25mm). Diğer organizmaları daha düşük derecelerde inhibe etmiştir (inhibisyon zonu 4-11 arasında).

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

Prashar ve ark. (2003), *Saccharomyces cerevisiae* üzerine palmarosa esansiyel yağının (*Cymbopogon martini*) etkisini incelemişler ve % 0.1 gibi düşük konsantrasyonların *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerinin gelişimini tamamen

inhibe ettiğini bulmuşlardır. Şahin ve ark. (2004) Türkiye'nin Doğu Anadolu Bölgesi'nde yetişen *Origanum vulgare* ssp. *vulgare*'den elde edilen esansiyel yağların biyolojik aktiviteleri ile ilgili yaptıkları bir çalışmada, bu yağın 10 bakteri, 15 küf ve maya cinsleri üzerinde güçlü antimikrobiyel etkisinin olduğunu bu etkisi yanında güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğunu ve bu nedenle gıda ürünlerinde koruyucu olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Limonen miktarı arttıkça zon çapının da buna bağlı olarak arttığı ve bu sonucun denenen tüm mikroorganizmalarda aynı olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. DL-Limonen miktarına bağlı olarak oluşan zon çapları (10-25-50 µl).

Navarro-Garcia ve ark. (2003), Meksika'ya özgü geleneksel 9 bitkiden elde edilen 18 bitki ekstraktının antifungal aktivitesini iki dermatophyte mantar türü (*Trichophyton mentagrophytes* ve *Trichophyton rubrum*), bir dermoyophte olmayan mantar türü (*Aspergillus niger*) ve bir mayaya (*Candida albicans*) karşı denemişlerdir. En güçlü etkiyi, *Lysiloma acapulcensis* ve *Annona cherimolia* metanol ekstraktlarının yanı sıra, *Eupatorium aschenbornianum* ve *Sedum oxypetalum* hexane ekstraktlarının gösterdiği bildirilmiştir.

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

Limonen esansiyel yağı antifungal etkisini en az *K.thermotolerans* maya suşuna karşı göstermiştir.Bu mayada oluşan zon çapı limonen 10 µl/disk olarak uygulandığında 13.0 mm; 25 µl/disk’de 15.0 mm ; 50 µl/disk’ de ise 18.6 mm olarak ölçülmüştür (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. *K. thermotolerans* 10, 25 ve 50 µl DL-Limonen konsantrasyonlarında meydana gelen inhibisyon zonları.

En hassas maya suşu *P. subpelliculuse* NCYC 436 olmuş ve bunu *Maurivin* suşu izlemiştir. DL-limonenin *Maurivin* üzerine engelleyici etkisi Şekil 4.3’de gösterilmiştir (4.63 mm inhibisyon zonu).



Şekil 4.3. *Maurivin* (50 µl) inhibisyon zonu.

En etkili zonlar *C.datilla* (32.0 ; 37.6; 43.3 mm inhibisyon zonu) , *P. subpelliculuse* NCYC 436 (30.3; 36.3; 48.0 mm inhibisyon zonu), *S.bayanus* N387, (25.0; 31.0; 40.0 mm inhibisyon zonu), *R.glutinis* (25.0; 36.0; 40.0 mm inhibisyon zonu) , *K. apiculata* (26.0 ;31.3; 41.0 mm inhibisyon zonu), *Zymoflore* (25.0 ;33.0 ;43.3 mm inhibisyon zonu) , *Maurivin* (30.0; 35.6 ;46.3 mm inhibisyon zonu) , *Lalvin* (29.3 ;34.6 ;42.3 mm inhibisyon zonu), *Fermirouge* (27.6 ; 32.7, 44.4 mm inhibisyon zonu) maya suşlarına karşı gözlemlenmiş ve antifungal aktivitenin en

yüksek olduğu mikroorganizmaların bunlar olduğu belirlenmiştir. Bu mayalarda özellikle 50 µl esansiyel yağ konsantrasyonunda geniş çaplı zonlar elde edilmiştir.

Çizelge 4.2.'den de anlaşılacağı gibi, DL-Limonen esansiyel yağı antifungal etkisini en az *K.thermotolerans* maya suşuna karşı göstermiştir. Daha sonra bu maya suşunu, *C.pulcherima* ve *H.uvarum* NCYC 25 izlemiştir.

Çizelge 4.2. Zon çapları değerlendirilmesi.

Mayalar	Duyarlılık Dereceleri
<i>C.datilla</i>	++++
<i>K.thermotolerans</i>	+
<i>C.bolmii</i>	+++
<i>C.pulcherima</i>	++
<i>P. subpelliculose</i> NCYC 436	++++
<i>H.uvarum</i> NCYC 25	++
<i>R.glutinis</i>	++++
<i>S.bayanus</i> N387	++++
<i>K. apiculata</i>	++++
<i>Zymoflore</i>	++++
<i>Maurivin</i>	++++
<i>Lalvin</i>	++++
<i>Fermiblanç</i>	+++
<i>Fermirouge</i>	++++

(10.0-20.0mm : +;20.0-30.0mm:++;30.0-40.0mm: +++;40.0-50.0mm: +++)

Literatürde DL-Limonenin mayalar üzerine antifungal etkisi üzerinde bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ayrıca, farklı esansiyel yağların kullanıldığı araştırmalarda kullanılan mikroorganizmalar da değişkenlik gösterdiğinden sonuçları kıyaslamak zordur.

Stange ve ark.(2002)'nın, *Penicillium* spp. üzerinde farklı sitrus kabuk ekstraktlarının etkisini araştırdıkları çalışmada, 7 farklı sitrus kabuğundan %80'lik etanolle elde edilen ekstraktların *Penicillium* spp. üzerindeki etkisi incelemişlerdir. Sonuç olarak, bu ekstraktların; *Penicillium* spp. bazılarını (*Penicillium expansum*, *Penicillium italicum*, *Penicillium digitatum*) teşvik edici etkisinin olduğu, ancak

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

Caccioni ve ark. (1998) portakal, mandarin, greyfurt ve limon esansiyel yağlarının *Penicillium (P.) digitatum* ve *P. italicum* üzerine etkilerini incelemişlerdir. Chaibi ve ark. (1997) portakal ve greyfurt esansiyel yağlarının bazı bakteri sporları üzerindeki spor oluşumu ve vejetatif büyüme üzerine etkilerini araştırmışlardır. Belletti ve ark. (2004)'nın yaptığı çalışmada, turuncgil esanslarının *S. cerevisiae* üzerine antimikrobiyel etkisi incelenmiştir.

Şahin ve ark. (2004) Türkiye'nin Doğu Anadolu Bölgesi'nde yetişen *Origanum vulgare* ssp. *vulgare*'den elde edilen esansiyel yağların biyolojik aktiviteleri ile ilgili yaptıkları bir çalışmada, bu yağın 10 bakteri, 15 küf ve maya cinsleri üzerinde güçlü antimikrobiyel etkisinin olduğunu bu etkisi yanında güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğunu ve bu nedenle gıda ürünlerinde koruyucu olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

4.2. En Düşük İnhibe Edici Konsantrasyon (MİK) Yöntemiyle DL-Limonenin Antifungal Etkisinin Belirlenmesi

Minimum inhibe edici konsantrasyon değerleri, değişik konsantrasyonlarda DL-Limonen (4000-62.5 µg/ml) ilave edilmiş sıvı besiyerinde maya çoğalmasının göstergesi olan bulanıklığa bakılarak belirlenmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.3. MİK sonuçları.

Mayalar	MİK Değerleri(µg/mL)
<i>C.datilla</i>	2000
<i>K.thermotolerans</i>	2000
<i>C.bolmii</i>	500
<i>C.pulcherima</i>	2000
<i>P. subpelliculuse</i> NCYC 436	500
<i>H.uvarum</i> NCYC 25	2000
<i>R.glutinis</i>	4000
<i>S.bayanus</i> N387	1000
<i>K. apiculata</i>	500
<i>Zymoflore</i>	1000
<i>Maurivin</i>	500
<i>Lalvin</i>	500
<i>Fermiblanc</i>	1000
<i>Fermirouge</i>	500

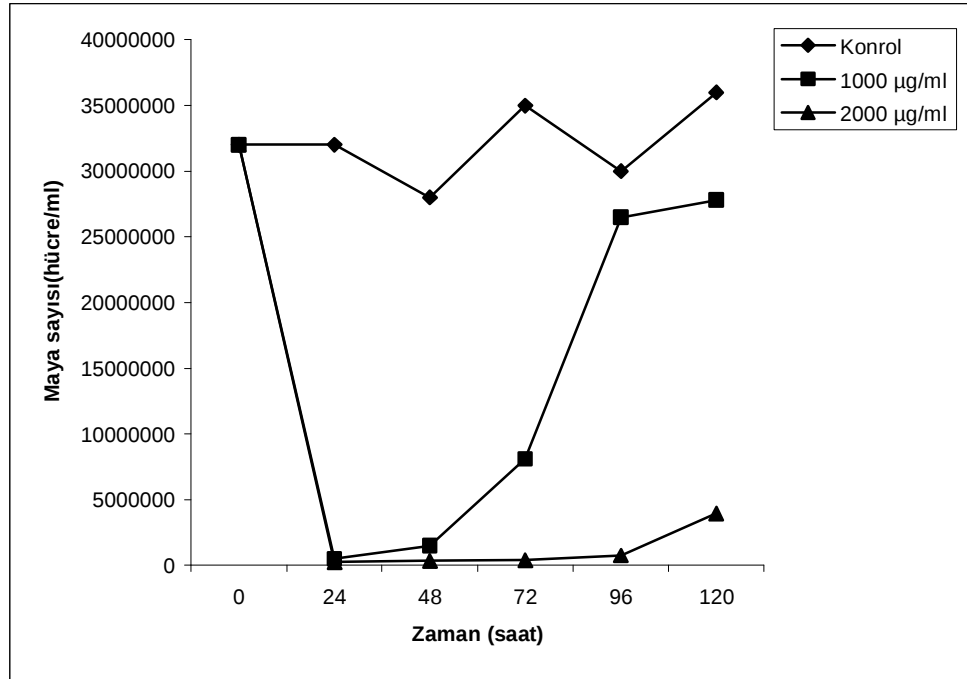
Çizelge 4.3'den de görüleceği gibi DL-limonen esansiyel yağı denenilen tüm maya suşlarında etkili olmuş, 500-4000 (µg/mL) arasında değişmiştir . En dirençli maya suşu DL-limonenin 4000 µg/mL konsantrasyonunda *R.glutinis*; en hassas maya suşları ise DL-limonenin 500 µg/mL konsantrasyonunda *C.bolmii*, *P. subpelliculuse* NCYC 436, *K. apiculata*, *Maurivin*, *Lalvin*, *Fermirouge* olmuştur. Disk difüzyon yöntemindeki en dirençli (*K.thermotolerans*, *C.pulcherima* ve *H.uvarum* NCYC 25) ve en hassas (*C.datilla*, *P. subpelliculuse* NCYC 436, *S. bayanus* N387) suşlar MİK denemesindekilerden bazı farklılıklar göstermektedir.

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

4.3. DL-Limonenin Fermantasyon Ürünleri Oluşumuna Etkisi

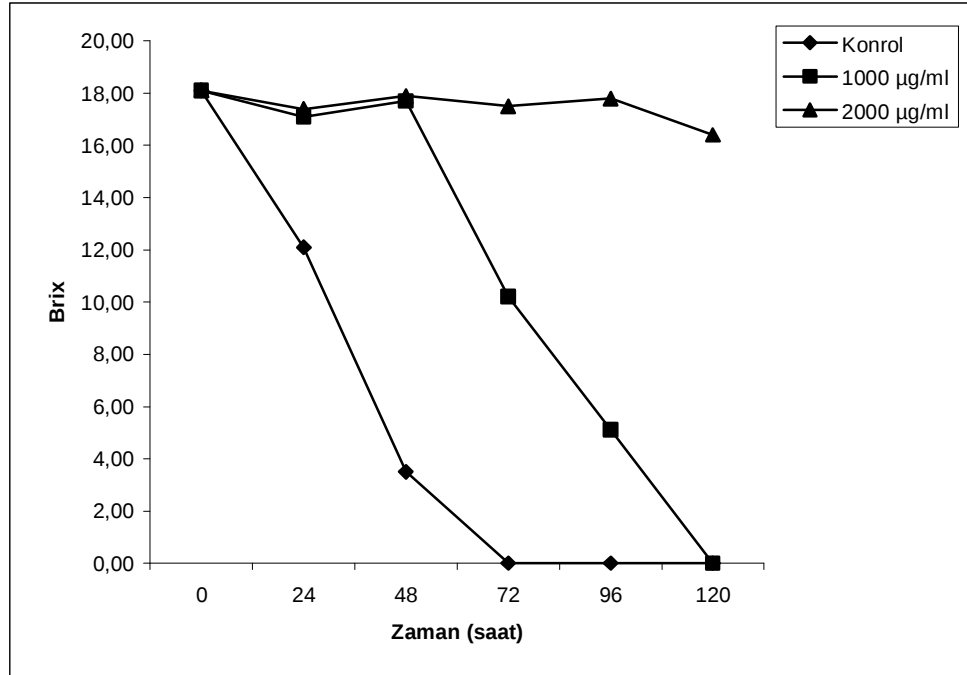
DL-Limonenin *S. cerevisiae*'de etil alkol fermantasyonuna olan inhibe edici etkisi ve fermantasyon ürünlerine etkisini belirlemek amacıyla değişik oranlarda DL-

Limonen ilave edilmiş pastörize üzüm şıralarında fermantasyonlar gerçekleştirilmiştir. Fermantasyon boyunca, canlı maya sayısı, brix, etil alkol ve aroma maddeleri tayini yapılmıştır ve sonuçlar Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4 ve Şekil 4.5’de görülmektedir.



Şekil 4.4. DL-Limonenin etil alkol fermantasyonu sırasında *S. cerevisiae*’nin büyümesine etkisi.

Yukarıdaki şekilden de görüleceği gibi, DL-Limonen ilave edilmiş örneklerde fermantasyonun başlangıcında canlı maya sayısında ani düşme görülmüş, 1000 µg/ml DL-Limonen ilave edilmiş örnekte maya sayısı artarak kontrol örneğine yaklaşmıştır. 2000 µg/ml DL-Limonen ilave edilmiş örnekte ise başlangıçtaki ani düşüşün ardından çok az bir artış görülmüştür. Bu sonuçlardan DL-Limonenin *S. cerevisiae*’yı inhibe ettiği, 1000 µg/ml DL-Limonen derişiminde mayanın daha sonra DL-Limonene alıştığı söylenebilir.



Şekil 4.5. DL-Limonenin Fermentasyon Hızına Etkisi

DL-Limonenin fermentasyon hızına etkisi Şekil 4.5'te görülmektedir. Kontrol örneğinde maya şekerleri hemen kullanmaya başlamış ve 4. günde şekerleri tamamen fermente etmiştir. 1000 µg/ml DL-Limonen ilave edilmiş örnekte fermentasyon daha geç başlamış ve daha uzun sürmüştür; 2000 µg/ml DL-Limonen ilave edilmiş örnekte ise çok az şeker kullanımı olmuştur.

DL-Limonenin fermentasyon ürünlerine etkisi Çizelge 4.4'de verilmiştir. DL-Limonen ilavesi oluşan etanol miktarını azaltmıştır. Benzer şekilde, DL-Limonen ilavesi aroma maddeleri miktarını değiştirmiştir.

Çizelge 4.4. DL-Limonenin fermantasyon ürünleri oluşumuna etkisi.

Bileşen	Kontrol	1000 µg/mL	2000 µg/mL
Etil alkol (%)	7.58±0.014	5.89±2.41	4.42±2.17
Asetaldehit(mg/100mL)	29.22±8,91	48.95±6,44	6.1±0.35
Etil asetat(mg/100mL)	4.48±0,98	3.67± 0.58	0.79±1.11
Asetal(mg/100mL)	5.68±5.30	5.76±4.39	2.47±3.50
Metanol(mg/100mL)	3.61±0.14	4.69±0.95	3.93±0.72
n-propanol(mg/100mL)	7.03±0.87	6.52±1.08	4.04±2.84
İzobutanol(mg/100mL)	11.14±2.39	12.32±1.47	6.60±5.18
2-metil-1-butanol(mg/100mL)	6.67±0.04	5.74±1.03	3.54±1.61
3-metil-1-butanol(mg/100mL)	30.34±2.12	23.30±4.78	6.36±5.60

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

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmanın sonuçlarına göre, turunçgil esansiyel yağlarının önemli bir kısmını teşkil eden limonen, denenen 14 maya suşu üzerinde antifungal bir etkiye sahiptir.

Disk difüzyon yöntemi denemelerinde, uygulanan limonen miktarı arttıkça zon çapı da artmıştır. Limonen esansiyel yağı antifungal etkisini en az *K. thermotolerans* suşuna karşı göstermiştir. Bu suşu, *C. pulcherima* ve *H. uvarum* NCYC25 izlemiştir. En hassas maya suşu *P. subpelliculose* NCYC 436 olmuş ve bu suşu *Maurivin* izlemiştir. MİK denemelerinde de DL-Limonenin antifungal etkisi görülmüş, MİK değerleri 500-4000 µg/ml arasında değişmiştir. DL-Limonene direnç ve hassasiyet bakımından disk difüzyon ve MİK sonuçları arasında farklılıklar gözlenmiştir.

2000 µg/ml DL-Limonen ilavesinin *S. cerevisiae*'de etil alkol fermantasyonuna inhibe edici etkisinin olduğu bulunmuştur. DL-Limonen ilavesi maya çoğalmasını, şeker kullanımını, etil alkol ve aroma maddeleri miktarını etkilemiştir.

Bitki ekstraktlarının ve uçucu yağların antimikrobiyal özelliklerinin araştırılması ile ilgili çok sayıda makale olduğu bilinmektedir. Bu çalışmalarda çeşitli uçucu yağlar test mikroorganizmalarına karşı denenmiş ve antimikrobiyal etkileri belirlenmeye çalışılmıştır.

Yaptığım çalışmanın sonucunda antifungal etkisi belirlenen DL-Limonen' in gıdalarda koruyucu olarak kullanılan kimyasallara karşı bir alternatif olabileceği ve daha ileriki çalışmalarda bu maddenin gıda patojeni olarak bilinen mikroorganizmalar üzerine antibakteriyal etkilerinin araştırılması ve gıda modellerinde denenmesi önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- AKGÜL, A., 1993. Baharat Bilimi ve Teknolojisi, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, No:15. Ankara.
- AKIN , M., 1996. Konya’da Doğal Olarak Yetişen Bazı Bitkilerde Esansiyel yağ Miktarları ve Esansiyel yağların Antimikrobiyal Etkileri, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi, 1996.
- ALIPPI, M.A., RINGUELET, J.A., CERIMETE, E.L., RE, M.S., HENNING, C.P., 2002. Antimicrobial Activity of Some Essential oils Against *Paenibacillus* larvae, the Causal Agent of American Foulbrood Disease, Journal of Herbs, Spices&Medicinal Plants, Vol:4, Issue:2,
- ANONYMOUS, 2002. Reference Methods for the Analysis of Spirit Drinks, Official Journal of the European Communities, Council regulation (EEC) No: 2870/2000, 47s.
- ANONYMOUS, 2004 . www.fao.org.
- ANONYMOUS, 2007 a. <http://www.food-info.net/tr>
- ANONYMOUS, 2007 b . <http://www.lokman-hekim.com/limon.htm>.
- AURELI, P., COSTANTINI, A., ZOLEA, S., 1992. Antimicrobial Activity of Some Essential Oils Against *Paeni B. Larvae* the Casual Agent of American Foulbrood Disease. Journal of Food Protection., Vol, 55, 344-348.
- ASEKUN, O.T., EKUNDAYO, O., ADENIYI, B. A., 1999. Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Hyptis suaveolens* leaves, Filoterapia 70, 440-442.
- BAGCI, E., DIGRAK, M., 1998. Antimicrobial Activity of Essential Oils of *Abies* (Fir) Spices From Turkey. Flavor and Fragrance Journal., Vol, 11, 251-256.
- BAĞCI, E., ve DIĞRAK, M., 1996. Bazı Orman Ağaçlarının Esansiyel Yağlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri. Tr. J. Of Biology,20, 191-198.
- BAKSHU L.M., VENKATA RAJU, R.R., 2002. Essential Oil Composition and Antimicrobial Activity of Tuberous roots of *Pimpinella tirupatiensis* Bal.&Subr. , an Endemic Taxon from Eastern Ghats, India, 2002, Flavour and Fragrance Journal 17, 413-415.

- BARATA, M. T., DORMAN, H. J. D., DEANS, S. G., FIGUEIREDO, A. C., BARROSO, J. G., RUBERTO, G., 1998. Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. *Flavour and Fragrance Journal.*, Vol, 13, 235-244.
- BASIM, H., YEGEN, O., ZELLER, W., 2000. Antibacterial Effect of Essential oil of *Thymbra spicata* L. var. *spicata* on Soma Plant Pathogenic Bacteria , *J. Plant Dis. Prot.* 3, 279-284.
- BAYDAR, H., SAGDIC, O., OZKAN, G., KARADOĞAN, T., 2003. Antibacterial Activity and Composition of Essential Oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* Species with Commercial Importance in Turkey. *Food Control.*, Vol, xxx, xxx-xxx.
- BELLETTI, N. , NDAGIJIMANA, M., SISTO, C., GUERZONI, M.E., LANCIOTTI, R., GARDINI, F., 2004. Evaluation of the Antimicrobial Activity of Citrus Essences on *Saccharomyces cerevisiae*, *Journal Agric. Food Chem.* 52, 6932-6938.
- BISHT, G.S., AWASTHI, A.K., DHOLE, T.N. , 2006. Antimicrobial Activity of *Hedycium spicatum*, *Fitoterapia* 77 , 240-242.
- BRUL, S., COOTE, P., 1999. Preservative Agents in Foods Mode of Action and Microbial Resistance Mechanisms. *International Journal of Food Microbiology.*, Vol, 50, 1-17.
- CACCIONI, D. R. L., GUIZZARDI, M., BIONDI, D. M., RENDA, G. R., 1998. Relationship Between Volatile Components of Citrus Fruit Essential Oils and Antimicrobial Action on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*. *Internatioanal Jorنال of Food Microbiology.*, Vol. 43, 73-79.
- CANILLAC N., MOUREY, A., 2001. Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Picea excelsa* on *Listeria*, *Staphylococcus aureus* and *Coliform* Bacteria. *Food Microbiology.*, Vol, 18, 261-268.
- CHAIBI, A., ABABOUC, L. H., BELASRI, K., BOUCETTA, S., BUSTA, F. F., 1997. Inhibition of Germination and Vegetative Growth of *Bacillus cereus* T and *Clostridium botulinum* 62A spores by Essential Oils. *Food Microbiology.*, Vol. 14, 161-174.

- CHANG, S-T., CHEN, P-F., CHANG, S-C., 2001. Antibacterial Activity of Leaf Essential Oils and Their Constituents from *Cinnamomum osmophloeum*. Journal of Ethnopharmacology., Vol, 77, 123-127.
- CONNER, D. E., BEUCHAT, L. R., WORTHINGTON R. E., HITCHCOCK, H. L., 1984. Effects of Essential Oils and Oleoresins of Plants on Ethanol Production, Respiration and Sporulation of Yeasts. International Journal of Food Microbiology., Vol.1, No.2, 63-74.
- CONNER, D. E., 1993. Naturally Occurring Compounds. In: Davidson, P. M. (Ed.), Antimicrobials in Foods. Marcel Dekker, New York, pp. 441-468.
- CONNER, D.E., BEUCHAT, L.R., WORTHINGTON, R.E., HITCHCOCK, H.L., 1984. Effects of Essential Oils and Oleoresins of Plants on Ethanol Production, Respiration and Sporulation of Yeasts, Internatiol Journal of Food Microbiology 1, 63-74.
- COSTA, T. R., FERNANDES, O. F. L., SANTOS, S. C., OLIVERIA, C. M. A., LIAO, L. M., FERRI, P. H., PAULA, J.R., FERREIRA, H. D., SALES, B. H. N., SILVA, M. R. R., 2000. Antifungal Activity of Volatile Constituents of *Eugenia dysenterica* Leaf Oil. Journal of Ethnopharmacology., Vol. 72, 111-117.
- COX, S.D., MANN, C.M., MARKHAM, J.L., BELL, H.C., GUSTAFSON, J.E., WARMINGTON, J.R., and WYLLIE, S.G., 2000. The mode of antimicrobial action of essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). Journal of Applied Microbiology, Vol.88,170-175.
- DEANS, S.G., DORMAN.H.J.D., 2000. Antimicrobial Agents from Plants: Antibacterial Activity of Plant Volatile Oils, J. Appl. Microbiol., 88, 308-316.
- DEENA, M.J., THOPPIL, J.E., 2000. Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Lantana Camara*, Fitoterapia 71, 453-455.

- DELAQUIS, P. J., STANICH, K., GIRARD, B., MAZZA, G. 2001. Antimicrobial Activity of Individual and Mixed Fractions of Dill, Cilantro, Coriander and Eucalyptus Essential Oils., International Journal of Food Microbiology 2377, xxx-xxx.
- DEMIRCI, F., BASER, K. H. C., CALIS, I., GOKHAN, E., 2001. Essential Oil and Antimicrobial Evaluation of the *Pistacia eurycarpa*. Chemistry of Natural Compounds., Vol, 37, No. 4, 332-335.
- DIAZ, S., ESPINOSA, S., BRIGNOLA, E. A., 2005. Citrus Peel Oil Determination with Supercritical Fluids Optimal Process and Solvent Cycle Design. Journal of Supercritical Fluids., Vol 35, 49-61.
- DORANTES, L., COLMENERO, R., HERNANDEZ, H., MOTA, L., JARAMILLO, M. E., FERNANDEZ, E., SOLANO, C., 2000. Inhibition of Growth Some Foodborne Pathogenic Bacteria by *Capsium annum* Extracts. International Journal of Food Microbiology., Vol, 57, 125-128.
- ELOFF, J. N., 1998. A Sensitive Quick Microplate Method to Determine the Minimal Inhibitory Concentration of Plant Extracts for Bacteria, Planta Med., 64, 711-713.
- EL-SAKHAWY, F. S., EL-TANTAWY, M. E., ROSS, S. A., EL-SOHLI, M. A., 1998. Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Murraya exotica* L., Flavour and Fragrance Journal, Vol. 13, 59-62.
- ERTEN, H., CAMPBELL, 2001. I. The production of low-alcohol wines by aerobic yeasts, Journal of Institute of Brewing, 107 (4), 207-215.
- FARAG, R. S., DAW, Z. Y., HEWEDI, F. M., EL-BOROTY, G. S. A., 1989. Antimicrobial Activity of Some Egyptian Spice Essential Oils. Journal of Food Protection., Vol, 52, 665-667.
- HABSAH, M., AMRAN, M., MACKEEN, M. M., LAJIS, N. H., KIKUZAKI, H., NAKATANI, N., RAHMAN, A. A., GHAFAR, A. I., A. M., 2000. Screening of Zingiberaceae Extracts for Antimicrobial and Antioxidant Activities, Journal of Ethnopharmacology 72, 403-410.

- HADACEK. F., GREGER.H., 2000. Testing of Antifungal Natural Products Methodologies, Comparability of Results and Assay Choice, *Phytochem. Anal.*, 11, 137-147.
- HAMMER. K.A., CARSON. C.F., RILEY.T.V., 1999. Antimicrobial Activity of Essential Oils and Other Plants Extracts, *J.Appl.Microbiol.*, 85, 985-990.
- HAZNEDEROGLU, M. Z., KARABAY, N. U., ZEYBEK U., 2001. Antibacterial Activity of *Salvia tomentosa* Essential Oil. *Fitoterapia.*, Vol, 72, 829-831.
- HENDRICKSON, R. and KESTERSON, J. W., 1951. Citrus By Products of Florida. *Fla. Agr. Expt. Sta. Bull.* 487.
- HULIN, V., MATHOT, A. G., MAFART, P., DUFOSSE, L., 1998. Antimicrobial Properties of Essential Oils and Flavour Compounds. *Sciences Des Aliments.*, Vol, 18 (6), 563-582.
- İŞCAN. G., DEMİRCİ. F., KRIMER..N., KÜRKÇÜOĞLU. M., BAŞER. K.H.C., 2001. Antibacterial and Antifungal Effects of Various Plant Extracts, *Pharm. Biol.* 37, 216- 220.
- JANSEEN, A.M., SCHEEFER, J.J, BAERHEIM SVENDSEN, A., 1987. Antimicrobial Activity of Essential Oils: a 1976-1986 Literature Review, Aspects of the Test Methods. *Planta Medica* 53, 395-398.
- JANTOVA, S., NAGY, M., RUZEKOVA, L., GRANCAI, D., 2000. Antibacterial Activity of Plant Extracts from the Families *Fabaceae*, *Oleaceae*, *Philadelphaceae*, *Rosaceae* and *Staphyleaceae*, *Pytotherapy Research* 14, 601-603.
- JOHNSTON, W. H., KARCHESY, J. J., CONSTANTINE, G. H., CRAIG, A. M., 2001. Antimicrobial Activity of Some Pacific Northwest Woods against Anaerobic Bacteria and Yeast. *Phytotherapy Research.*, Vol. 15, 586-588.
- JUVEN, B. J., KANNER, J., SCHVED, F., WEISSLOWICZ, H., 1994. Factors that Interact with the Antibacterial Action of Thyme Essential Oil and Its Active Constituents. *J. Appl. Bacteriol.*, Vol, 76, 626-631.

- JUTEAU, F., MASOTTI, M., BESSIERE, J.M., DHERBOMEZ, M., VIANO, J., 2002. Antibacterial and Antioxidant Activities of *Artemisia annua* Essential Oil, *Fitoterapia* 73, 532-535.
- KALEMBA, D., KUSEWICZ D., SWIADER, K., 2002. Antimicrobial Properties of the Essential Oil of *Artemisia asiatica* Nakai, *Phytotherapy Research* 16, 288-291.
- KARAMAN, S., DIĞRAK, M., RAVİD, U., ILCİM, A., 2001. Antibacterial and Antifungal Activity of the Essential Oils of *Thymus revolutus* Celak from Turkey, *Journal of Ethnopharmacology* 76, 183-186.
- KARANIKA, M. S., KOMAITIS, M., AGGELIS, G., 2001. Effect of Aqueous Extracts of Some Plants of *Lamiaceae* Family on the Growth of *Yarrowia Lipolytica*. *Int. Journal of Food Mic.*, Vol, 64, 175-181.
- KELLY, J., CHAPMAN, S., BRERETON, P., 1999. Gas Chromatographic Determination of Volatile Congeners in Spirit Drinks: Interlaboratory Study, *Journal of AOAC International*, Vol. 82, No: 6, 1375-1388.
- KNOBLOH, K., WEIS, N., WEIGAND, H., 1986. Mechanizm of Antimicrobial Activity of Essential Oils. *Planta Medica.*, Vol, 52, 556.
- KOUTSOUMANIS, K., LAMBROPOULOU, K., NYCHAS, G-J. *Escherichia*, 1999. A Predictive Model For The Non-Thermal Inactivation of *Salmonella enteritidis* in a Food Model System Supplemented with Natural Antimicrobial. *International Jornal of Food Microbiology.*, Vol, 49, 63-74.
- KUJUMGIEV, A., TSVETKOVA, I., SERKEDJIEVA, Y., BANKOVA, V., CHRISTOV, R., POPOV, S., 1999. Antibacterial, Antifungal and Antiviral Activity of Propolis of Different Geographic Origin. *Journal of Ethnopharmacology.*, Vol, 64, 235-240.
- LAMBERT, R. J., SKANDAMIS, Proteus N., COOTE, Proteus J., NYCHAS, G. J., 2001. A Study of the Minimum Inhibitory Concentration and Mode of Action of Oregano Essential Oil, Thymol and Carvacrol. *Journal of Applied Microbiology.*, Vol, 91, 453-462.

- LARHSINI, M., OUMOULID, L., LAZREK, H.B., WATALEB, S., BOUSAID, M., BEKKOUCHE, K., JANA, M., 2001. Antibacterial Activity of Some Moroccan Medicinal Plants, *Phytotherapy* 15, 250-252.
- LAWRANCE, R. N., 1999. Rediscovering Natural Product Biodiversity. *Drug Discovery Today*, Vol, 4, 449-451.
- LIS-BALCHIN, M., BUCHBAUER, G., RIBISCH, K., WENGER, M.T., 1998. Comparative Antibacterial Effects of Novel Pelargonium Essential Oils and Solvent Extracts, *Letters in Applied Microbiology* 27, 135-141.
- LIS-BALCHIN, M., ROTH, G., 2000. Composition of the Essential Oils of Pelargonium odoratissimum, P.exstipulatum, and P.x fragrans (Geraniaceae) and their Bioactivity, *Flavour and Fragrance Journal* 15, 391-394.
- MAKSIMOVIC, Z. A., DORDEVIC, S., MIRAOVIC, M., 2005. Antimicrobial Activity *Chenopodium botrys* Essential Oil, *Fitoterapia* 76, 112-114.
- MANGENA, T., MUYIMA, N.Y.O., 1999. Comparative Evaluation of the Antimicrobial Activities of Essential Oils of Artemisia afra, Pteronia incana and Rosmarinus officinalis on Selected Bacteria and Yeast strains, *Letters in Applied Microbiology* 28, 291-296.
- MANOU, I., BOUILLARD, L., DEVLESESCHOUWER, M.J., BAREL, A.O., 1998. Evaluation of The Preservative Properties of *Thymus vulgaris* Essential Oil in Topically Applied Formulations Under a Challenge Test, *Journal of Applied Microbiology* 84, 368- 376.
- MARINO, M., BERSANI, C., COMI, G., 2001. Impedance Measurements to Study the Antimicrobial Activity of Essential Oils From *Lamiaceae* and *Copositae*. *International Journal of Food Microbiology*, Vol, 67, 187-195.
- MARTINI. N., ELOFF.J.N.,1998. The Preliminary Isolation of Several Antibacterial Compounds from Combortum erythrophyllum (Combortaceae), *J.Ethnopharm.*, 62, 255-263.
- MAZZANTI, G., BARTTINELLI, L., SALVATORE, G., 1998. Antimicrobial Properties of the Linalol-Rich Essential Oil of *Hyssopus officinalis* L. Var *decumbens* (Lamiaceae). *Flavour and Fragrance Journal*, Vol. 13, 289-294.

- MEHRABIAN.S., MAJD., I.,2000. Antimicrobial Effects of Three Plants on Some Airborne Microorganisms, *Aerobiologia*, 16, 455-458.
- NAKATANI, N., 1994. Antioxidative and Antimicrobial Constituents of Herbs and Spices, *Dev. Food Sci.* 34, 251-271
- NAVARRO-GARCIA, V.M., GONZALEZ, A., FUENTES, M., AVILES, M., RIOS, M.Y., ZEPEDA ,G., ROJAS, M.G., 2003. Antifungal Activities of Nine Traditional Mexican Plants, *Journal of Ethnopharmacology* 87, 85-88.
- NGASSOUMA, M.B., ESSIA-NGANG, J.J., TATSADJIEU, L.N., JIROVETZ, L., BUCHBAUER, G., ADJOUDJIA, O., 2003. Antimicrobial Study of Oils of *Ocimum gratissimum* Leaves and *Zantoxylum xanthoxyloides* Fruits from Cameroon, *Fitoterapia* 74, 284-287.
- NGONO NGANE, A., BIYITI, L., BOUCHET, PH., NKENGFACK, A., AMVAM ZOLLO, P.H., 2003. Antifungal activity of *Piper guineense* of Cameroon, *Fitoterapia* 74, 464-468.
- NIELSON, P. V., RIOS, R., 2000. Inhibition of Fungal Growth on Bread by Volatile Components from Spices and Herbs, and the Possible Application in Active Packaging with Special Emphass on Mustard Essential Oil. *International Journal of Food Microbiology*., Vol, 60, 219-229.
- NOSTRO, A., BISIGNANO, G., CANNATELLI, M.A., CRISAFI, G., GERMANO, M.P., ALONZO, V., 2001. Effects of *Helichrysum italicum* Extract on Growth and Enzymatic Activity of *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Antimicrobial Agents* 17, 517-520.
- NOSTRO. A., GERMANO. M.P., D'ANGELO. V., MARINO.A., CANNATELLI. M.A. 2000. Extraction Methods and Bioautography for Evaluation of medicinal Plant Antimicrobial Activity, *Lett. appl. Microbiol.*, 30 ,379-384.
- NOVAK, J., ZITTERL-EGLESEER, K., DEANS, S. G., FRANZ, C. M., 2001. Essential Oils of Different Cultivars of *cannabis sativa* 1. and Their Antimicrobial Activity. *Flavour and Fragrance Journal*., Vol, 16, 259-262.

- NYCHAS, G. J. E., 1995, Natural Antimicrobials from Plants, In G. W. Gould, New Methods of Food Preservation (58-89) London: Blackie Academic Professional.
- OJALA, T., REMES, S., HAANSUU, P., VUORELA, H., HILTUNEN, R., HAAHTELA, K., VUORELA, P., 2000. Antimicrobial Activity of Some Coumarin Containing Herbal Plants Growing in Finland. Journal of Ethnopharmacology., Vol, 73, 299-305.
- OUMZIL, H., GHOULAMI, S., RHAJAOU, M., IDRISSE, A., TETOUANI, F., FAID, M., BENJOUAD, A., 2002. Antibacterial and Antifungal Activity of Essential Oils of *Mentha suaveolens*, Phytotherapy 16, 727-731.
- ÖZCAN, M., ERKMEN, O., 2001. Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Turkish Plant Spices. Eur. Food Research Technology., Vol, 212, 658-660.
- PANDIT, V. A., SHELEF, L. A., 1994. Sensitivity of *Listeria monocytogenes* to Rosemary (*Rosmarinus Officinalis*). Food Microbiology., Vol, 37, 155-162.
- PEREZ, C., AGNESE, A. M., CABRERA, J. L., 1998. The Essential Oil of *Senecio graveolens* (Compositae): chemical composition and antimicrobial activity tests. Journal of Ethnopharmacology., Vol.66, 91-96.
- PERIAGO, P. M., MOEZELAAR, R., 2001. Combined Effect of Nisin and Karvakrol at Different pH and Temperature Levels on the Viability of Different strains of *B. Cereus*. Internatioanal Journal of Food Microbiology., Vol, 68, 141-148.
- PRASHAR, A., HILI, P., VENESS, R. G., EVANS, C. S., 2003. Antimicrobial Action of Palmarosa Oil (*Cymbopogon martini*) on *Saccharomyces cerevisiae*. Phytochemistry., Vol. 63, 569-575.
- PRESS, J. B., 1996. Biodiversity: Exciting Prospects for Drug Discovery and Development. Meeting Report of the Monroe Wall Symposium. Chemtracts-Organic Chemistry., Vol, 9, 286-298.
- QUIROGA, E.M., SAMPIETRO, A.R., VATTUONE, M.A., 2001. Screening Antifungal Activities of Selected Medicinal Plants, Journal of Ethnopharmacology 74, 89-96.

- RAEISSI, S., PETERS, C.J., 2005. Liquid-Vapor and Liquid-Liquid-Vapor Equilibria in the Ternary System Ethane+Limonene+Linalool. *Journal of Supercritical Fluids.*, Vol, 33, 201-208.
- RAHALISON. L., HAMBURGER.M., HOSTETTMANN. K., MONOD. M., FRENK. E., 1994. Antifungal Tests in Phytochemical Investigation : Comparson of Bioautographic Methods Using Phytopatogenic and Human Pathogenic Fungi, *Planta Med.* 60, 41-44.
- RAHMAN, A., CHOUDHARY, M. I., FAROOQ, A., AHMED, A., IQBAL,M.Z., DEMİRCİ, B., DEMİRCİ, F., BASER, K.H.C., 1999. Antifungal Activities and Essential Oil Constituents of Some Spices from Pakistan, Third International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry (ECSOC-3), 1-7.
- RAMANOELINA, A. R., TERROM, G. P., BIANCHINI, J. P., COULANGES, P., 1987. Antibacterial Action of Essential Oils Extracted from Madagascar Plants. *Archives de l'Institut Pasteur de Madagascar.*, Vol, 53, 217-226.
- RASOOLI, I., REZAEI, M.B., ALLAMEH, A., 2006. Ultrastructural Studies on Antimicrobial Efficacy of Thyme Essential Oils on *Listeria monocytogenes*, *International Journal of Infectious Diseases* 10, 236-241.
- RASOOLI, I., REZAEI, M.B., ALLAMEH, A., 2004. Growth İnhibition and Morphological Alterations of *Aspergillus niger* by Essential Oils from *Thymus eriocalyx* and *Thymus x-porlock*, *Food control* 17, 359-364.
- ŞAHİN, F., GÜLLÜCE, M., DAFERERA, D., SÖKMEN, A., SÖKMEN, M., POLISSIOU, M., AĞAR, G., ÖZER, H., 2004. Biological Activities of the Essential Oils and Methanol Extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control.*, Vol. 15, 549-557.
- SAMY, R. P., IGNACIMUTHU, S., SEN, A., 1998. Screening of 34 Indian Medicinal Plants for Antibacterial Properties. *Journal of Ethnopharmacology.*, Vol, 62, 173-182.
- SAXENA, V. K., SHARMA, R. N. 1999a. Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Lantana aculeata*. *Fitoterapia.*, Vol, 70, 67-70.

- SAXENA, V. K., SHARMA, R. N. 1999b. Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Toddalia asiatica*. Fitoterapia., Vol, 70, 64-66.
- SCHWOB, I., BESSIERE, J.M., DHERMOBEZ, M., VIANO, J., 2002. Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Hypericum coris*, Fitoterapia 73, 511-513.
- SKANDAMIS, P. N., NYCHAS, G. J. E., 2000. Development and Evaluation of a Model Predicting the Survival of E. coli O157: H7 NCTC 12900 in Homemade Eggplant Salad at Various Temperatures, pH and Oregano Essential Oil Concentrations. Appl. Environ. Microbio., Vol, 66, 1646-1653.
- SMITH-PALMER, A., STEWART, J., FYFE, L., 1998. Antimicrobial Properties of Plant Essential Oils and Essences Against Five Important Food-Borne Pathogens. Letters in Applied Microbiology., Vol, 26, 118-122.
- SINGH, G., KAPOOR, I.P.S., PANDEY, S.K., SINGH, U.K., SINGH, R.K., 2002. Studies on Essential oils: Part 10; Antibacterial Activity of Volatile Oils of Some Spices, Phytoterapy 16, 680-682.
- SOUSA, A. R. S., RAEISSI, S., AGUIAR-RICARDO, A., DUARTE, C. M. M., PETERS, C. J., 2004. High Pressure Phase Behavior of the System Ethane+Orange Peel Oil. Journal of Supercritical Fluid., Vol, 29, 59-67.
- SÖKMEN, A., JONES, B. M., ERTURK, M., 1999. The In Vitro Antibacterial Activity of Turkish Medicinal Plants. Journal of Ethnopharmacology., Vol, 67, 79-86.
- STANGE, R., MIDLAND, S.L., SIMS, J.J., MCCOLLUM, T.G., 2002. Differential effects of citrus peel extracts on Growth of *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum* and *Penicillium expansum*, Physiological and Molecular Plant Pathology, 61, 303- 311.
- TABAK, M., ARMON, R., NEEMAN, I., 1999. Cinnamon Extracts Inhibitory Effect on *Helicobacter Pylori*. Journal of Ethnopharmacology., Vol, 67, 269-277.
- TASSOU, C., KAUTSOUMANIS, K., NYCHAS, G. J. E., 2000. Inhibition of *Salmonella enteritidis* and *Staphylococcus aureus* in Nutrient Broth by Mint Essential Oil. Food Research International., Vol, 33, 273-280.

- TASSOU, C.C., NYCHAS, G.J.E., 1995. Antimicrobial Activity of the Essential Oil of Mustic Gum (*Pistacia Lentiscus* var. *chia*) on Gram(+) and Gram(-) Bacteria in Broth and in Model Food System, International Biodeteriaration and Biodegradation,
- TOROĞLU, S., DIĞRAK, M., KOCABAŞ, Y.Z., 2005. Çay ve Baharat Olarak Tüketilen *Teucrium polium* L.var. *Thymbra spicata*, *Ocimum basilicum* L., *Foeniculum vulgare* Miller'in Esansiyel Yağlarının İn-vitro Antimikrobiyal ve Bazı Antibiyotiklerle Etkileşimleri, Journal of Science and Engineering , Vol,(8)2, 36-42.
- ULTEE, A., GORRIS, L. M. G., SMID, E. J., 1998. Bactericidal Activity of Carvacrol Towards the Food-borne Pathogen *B. cereus*. Journal of Applied Microbiology., Vol, 85, 211-218.
- ULTEE, A., SMID, E. J., 2001. Influence of Karvakrol on Growth and Toxin Production by *B. cereus*. International Journal of Food Microbiology., Vol, 64, 373-378.
- ULTEE, A., SLUMP, R. A., STEGING, G., SMID, E. J., 2000. Antimicrobial Activity of Karvakrol Toward *B. cereus* on Rice. Journal of Food Protection., Vol, 63, 620-624.
- UZEL, A., GÜVENSEN, A., ÇETİN,E., 2004. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of *Anthemis xylopoda* O.Schwarz from Turkey, Journal of Ethnopharmacology 95, 151-154.
- VIJANYANTHIMALA, J., ANANDI, C., UDHAYA, V., PUGALENDI, V., 2000. Anticandidal Activity of Certain South Indian Medicinal Plants, Phytotherapy Research 14, 207-209.
- YILDIRIM, A., MAVI, A., KARA, A. A., 2003. Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Polygonum cognatum* Meissn Extracts. Journal of the Science of Food and Agriculture., Vol, 83, 64-69.
- YIN, M., TSAO, S., 1999. Inhibitory Effect of Seve *Allium Plants* Upon Three *Aspergillus*. International Journal of Food Microbiology., Vol, 49, 49-56.

YU, J., LEI, J., YU, H., CAI, X., ZOU, G., 2004. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Scutellaria barbata*. Phytochemistry., Vol. 65, 881-884.

ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında Elazığ'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. 2000 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde lisans öğrenimime başladım. 2004 yılında Biyolog ünvanı ile mezun oldum. 2005 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimime başladım halen öğrenimime devam etmekteyim.