

**UZUNDERE ve İSPİR (ERZURUM) İLÇELERİNDE  
ÜRETİLEN DUTSİRKESİNİN ANTIMİKROBİYAL  
ve ANTIOKSİDAN ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE  
BİR ARAŞTIRMA**

**Ruşen AYDIN**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Biyoloji Anabilim Dalı**

**Yrd. Doc. Dr. Meryem ŞENGÜL KÖSEOĞLU**

**Yrd. Doç. Dr. Mehmet Nuri AYDOĞAN**

**2013**

**Her Hakkı Saklıdır**

**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**UZUNDERE ve İSPİR (ERZURUM) İLÇELERİNDE ÜRETİLEN  
DUT SİRKESİNİN ANTIMİKROBİYAL ve ANTİOKSİDAN  
ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA**

**Ruşen AYDIN**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ERZURUM  
2013**

**Her Hakkı Saklıdır**



T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

UZUNDERE ve İSPİR (ERZURUM) İLÇELERİNDE ÜRETİLEN  
DUT SİRKESİNİN ANTİMİKROBİYAL ve ANTİOKSİDAN  
ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

Yrd. Doç. Dr. Meryem ŞENGÜL KÖSEOĞLU ve Yrd. Doç. Dr. Mehmet Nuri AYDOĞAN danışmanlığında, Ruhşen AYDIN tarafından hazırlanan bu çalışma 22/01/2013 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından. Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oybirliği/oy çokluğu (.../...)** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Yrd.Doç.Dr. Meryem ŞENGÜL KÖSEOĞLU

İmza :

Üye : Yrd.Doç.Dr.Mehmet Nuri AYDOĞAN

İmza :

Üye : Yrd.Doç.Dr.A.Aydan KARA

İmza :

Üye : Yrd.Doç.Dr.Serkan ÖRTÜCÜ

İmza :

Üye : Yrd.Doç.Dr. Mesut TAŞKIN

İmza :

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum

Prof. Dr. İhsan EFEOĞLU  
Enstitü Müdürü

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

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

UZUNDERE ve İSPİR (ERZURUM) İLÇELERİNDE ÜRETİLEN DUT  
SİRKESİNİN ANTIMİKROBİYAL ve ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİ  
ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

Ruhşen AYDIN

Atatürk Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Meryem ŞENGÜL KÖSEOĞLU  
Ortak Danışman: Yrd. Doç. Dr. Mehmet Nuri AYDOĞAN

Bu çalışmada Uzundere ve İspir (Erzurum çevresi) de üretilen dut (*Morus alba*) sirkesinin antimikrobiyal etkisi ve antioksidan özellikleri araştırılmıştır. Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi için 8 bakteri ve 1 fungus türünden oluşan test mikroorganizmaları kullanılmıştır. Dut sirkesinin test mikroorganizmaları üzerindeki etkileri, agar difüzyon yöntemi ve sıvı besi yerindeki dilasyonları kullanılarak incelenmiştir. Test edilen mikroorganizmaların tümünün dut sirkesine karşı duyarlı olduğu gözlenmiştir.

Dut sirkesinin total antioksidan aktivitesi,  $Cu^{2+}$ - $Cu^{+}$  indirgeme kapasitesi ve 1,1-Difenil 2-pikril hidrazil (DPPH) serbest radikalleri giderme aktivitesi belirlenmiştir. Sonuç olarak Dut sirkesinin güçlü antioksidan özelliklere ve antimikrobiyal etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

**2013, 65 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Dut Sirkesi, Antimikrobiyal Aktivite, Antioksidan Aktivite

## **ABSTRACT**

MS. Thesis  
AN INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL PROPERTIES AND ANTIOXIDANT  
ACTIVITIES OF MULBERRY VINEGAR WHICH IS NATURALLY PRODUCE IN  
UZUNDERE AND ISPIR (ERZURUM)

Ruhşen AYDIN  
Ataturk University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Meryem ŞENGÜL KÖSEOĞLU  
Co-Supervisor: Assist. Prof. Dr. Mehmet Nuri AYDOĞAN

In this study, antimicrobial activity and antioxidant properties of mulberry (*Morus alba*) vinegar produced in Uzundere and Ispir (around Erzurum) were investigated. For the determination of antimicrobial activity, test microorganisms including eight species of bacteria and one fungus were used. The effects of mulberry vinegar on test microorganisms were determined by using agar diffusion method and liquid nutrient medium dilutions. All of the test microorganisms were observed to be sensitive to the mulberry vinegar.

The total antioxidant activity,  $\text{Cu}^{2+}$ - $\text{Cu}^{+}$  reduction capacity and 1,1-Difenil 2-pikril hidrazil (DPPH) free radicals eliminate activity of mulberry vinegar were studied. As a result, mulberry vinegar was determined to have powerful antioxidant properties and antimicrobial effects.

**2013, 65 pages**

**Keywords:** Mulberry Vinegar, Antimicrobial Activity, Antioxidant Activity

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde yapılmıştır.

Çalışmalarım süresince görüş ve bilgi birikiminden yararlandığım ortak danışmanım, Sayın Yrd. Doç. Dr. Mehmet Nuri AYDOĞAN'a ve danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Meryem ŞENGÜL KÖSEOĞLU'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Test mikroorganizmaların bulunmasında yardımcı olan Sayın Yrd. Doç. Dr. A. Aydan KARA'ya ve Sayın Biyolog Elif Ünal BÜLBÜL'e tüm biyoloji bölüm elemanlarına, çalışmalarım sırasında her konuda desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Arş. Gör. Yağmur ÜNVER'e teşekkür ederim.

Ayrıca antioksidan çalışmalarında yardımcı olan Sayın Prof. Dr. İlhami GÜLÇİN'e ve kimya bölüm elemanlarına teşekkür ederim.

Çalışmalarım esnasında maddi, manevi desteklerini ve ilgilerini esirgemeyen çok kıymetli anneme, babama ve kardeşlerime teşekkür ederim.

Ruhşen AYDIN

Ocak, 2013

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	viii
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
1.1. Antioksidanlar .....	3
1.1.1. Serbest radikal ve antioksidanın tanımı.....	3
1.1.2. Antioksidanların önemi ve etki mekanizması .....	4
1.2. Antimikrobiyal Maddeler .....	8
1.2.1. Antibakteriyel maddeler .....	8
1.2.2. Antiviral maddeler.....	11
1.2.3. Antifungal maddeler.....	12
1.2.4. Kemoterapötiklerin etki mekanizması.....	13
1.2.5. Antimikrobiyal ilaç direnci .....	14
1.3. Dut'un ( <i>Morus L.</i> ) Özellikleri .....	15
1.3.1. Botanik özellikleri .....	15
1.3.2. Ülkemizde dut ve kullanım alanları .....	17
1.4. Sirke Yapımı ve Tarihçesi.....	19
1.5. Test Mikroorganizmaları .....	22
1.6. Araştırmanın Amacı .....	24
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ .....</b>	<b>25</b>
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM.....</b>	<b>32</b>
3.1. Materyal.....	32
3.1.1. Kullanılan besiyerleri ve kimyasal maddeler .....	32
3.1.2. Kullanılan alet ve cihazlar .....	32
3.1.3. Bitkisel materyal.....	33

3.1.4. Test mikroorganizmaları .....	33
3.2. Yöntem .....	34
3.2.1. Dut meyvelerinin toplanması ve sirke yapımı.....	34
3.2.2. Antimikrobiyal aktivite testleri .....	34
3.2.3. Antioksidan özelliklerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltiler.....	36
3.2.4. Total antioksidan aktivitesi .....	37
3.2.5. $\text{Cu}^{2+}$ - $\text{Cu}^{+}$ indirgeme kapasitesi (Kuprak metodu).....	38
3.2.6. 1,1-Difenil 2-pikril hidrazil (DPPH) serbest radikalleri giderme aktivitesi.....	38
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....</b>	<b>39</b>
4.1. Dut Sirkesinin Antimikrobiyal Aktivitesi .....	39
4.2. Dut Sirkesinin Total Antioksidan Aktivite Bulguları.....	47
4.3. $\text{Cu}^{2+}$ - $\text{Cu}^{+}$ İndirgeme Kuvveti (Kuprak Metodu) Bulguları .....	48
4.4. DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi Bulguları.....	49
<b>5. TARTIŞMA ve SONUÇLAR .....</b>	<b>52</b>
5.1. Dut Sirkesinin Antimikrobiyal Özellikleri .....	52
5.2. Dut Sirkesinin Antioksidan Özellikleri .....	55
KAYNAKLAR .....	59
ÖZGEÇMİŞ .....	66



## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

°	Derece
DDDT	Disk Diffüzyon Duyarlılık Testi
DPPH	1,1-difenil-2-pikril-hidrazil, Sigma D-9132
WHO	Dünya Sağlık Teşkilatı
gr	Gram
m	Metre
ml	Mililitre
mm	Milimetre
NA	Nutrient Agar
NB	Nutrient Broth
nm	Nanometre
OFX	Ofloxacin
PABA	Para Amino Benzoik Asit
PDA	Potato Dextrose Agar
PDB	Potato Dextrose Broth
ROS	Reactive Oxygen Species
TSA	Tryptic Soy Agar
TSB	Tryptic Soy Broth
UV	Ultraviyole
µg	Mikrogram
µm	Mikrometre

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Willcox <i>et al.</i> (2004) tarafından bildirildiğine göre Antioksidan grupları ve etkileri (Temür 2008) (kesikli çizgiler baskılanmayı göstermektedir).....	7
Şekil 1.2. Kemoterapötiklerin etki şekilleri .....	14
Şekil 1.3. Türkiyede yaygın olan <i>Morus</i> türleri.....	16
Şekil 1.4. Türkiye’de dut meyvesi üretiminin bölgelere göre dağılımı .....	17
Şekil 1.5. Fermente olabilen şekerlerin iki aşamalı oksidasyonu .....	21
Şekil 4.1. Dut sirkesinin test mikroorganizmalar üzerinde oluşturdukları inhibisyon zonları.....	42
Şekil 4.2. Sirkenin (30 µg/ml) total antioksidan aktivitesinin aynı konsantrasyondaki standart antioksidan olan BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması .....	48
Şekil 4.3. Sirkenin farklı konsantrasyonlardaki (10-30 µg/ml) kuprik iyonlarını (Cu <sup>2+</sup> ) indirgeme aktivitesinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması .....	49
Şekil 4.4. DPPH serbest radikal giderme aktivitesi tayini için hazırlanan standart grafik .....	50
Şekil 4.5. Sirkenin (10-30 µg/ml) DPPH serbest radikali giderme aktivitelerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması .....	51
Şekil 5.1. Antioksidan bir molekül tarafından gerçekleştirilen kuprak reaksiyonu.....	56
Şekil 5.2. Bir antioksidan tarafından DPPH serbest radikalinin giderilmesi .....	57

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b>Çizelge 1.1.</b> Reaktif oksijen türleri .....	4
<b>Çizelge 1.2.</b> Ülkemizde dut üretiminin en fazla yapıldığı iller.....	18
<b>Çizelge 3.1.</b> Kullanılan mikroorganizmalar ve kodları.....	34
<b>Çizelge 3.2.</b> Sıvı besiyerinde kullanılan oranlar .....	36
<b>Çizelge 4.1.</b> Dut sirkesinin test mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi .....	40
<b>Çizelge 4.2.</b> <i>S. aureus</i> 'un spektrofotometrede ölçülen optik yoğunluğa denk gelen koloni sayısı ve kontrol grubu ile karşılaştırılması .....	43
<b>Çizelge 4.3.</b> <i>S. pyogene</i> ' in spektrofotometrede ölçülen optik yoğunluğa denk gelen koloni sayısı ve kontrol grubu ile karşılaştırılması .....	43
<b>Çizelge 4.4.</b> <i>K. oxytoca</i> 'nın spektrofotometrede ölçülen optik yoğunluğa denk gelen koloni sayısı ve kontrol grubu ile karşılaştırılması .....	44
<b>Çizelge 4.5.</b> <i>E. faecalis</i> 'in spektrofotometrede ölçülen optik yoğunluğa denk gelen koloni sayısı ve kontrol grubu ile karşılaştırılması .....	44
<b>Çizelge 4.6.</b> <i>B. subtilis</i> 'in spektrofotometrede ölçülen optik yoğunluğa denk gelen koloni sayısı ve kontrol grubu ile karşılaştırılması .....	45
<b>Çizelge 4.7.</b> <i>B. cereus</i> 'un spektrofotometrede ölçülen optik yoğunluğa denk gelen koloni sayısı ve kontrol grubu ile karşılaştırılması .....	45
<b>Çizelge 4.8.</b> <i>E. carotovora</i> 'nın spektrofotometrede ölçülen optik yoğunluğa denk gelen koloni sayısı ve kontrol grubu ile karşılaştırılması .....	46
<b>Çizelge 4.9.</b> <i>C. albicans</i> 'in spektrofotometrede ölçülen optik yoğunluğa denk gelen koloni sayısı ve kontrol grubu ile karşılaştırılması .....	46
<b>Çizelge 4.10.</b> <i>E. coli</i> 'nin spektrofotometrede ölçülen optik yoğunluğa denk gelen koloni sayısı ve kontrol grubu ile karşılaştırılması .....	46

## 1. GİRİŞ

Bitkilerin tedavide kullanılmaları çok eski tarihlere dayanmaktadır. Dünya ülkelerinde olduğu gibi ülkemizde de tıbbi açıdan önemli olan bitkiler tarihin en eski çağlarından beri halk arasında kullanılmaktadır. Bitkilerin mikroorganizmaları öldürücü etkisi ve insan sağlığı için önemi 1926'dan beri laboratuvar ortamında araştırılmaktadır (Vonderbank 1949; Dığrak vd 1999).

Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO)'nın 91 ülkede farmakopeniler ve tıbbi bitkiler üzerinde yapılmış olan yayınlara dayanarak hazırladığı bir araştırmaya göre tedavi amaçlı kullanılan tıbbi bitkilerin toplam miktarı 20,000 civarında olup bunlardan sadece 500 kadarının üretimi yapılmaktadır (Baytop 1999).

Eski uygarlıkların hastalıkları iyileştirmede bitkileri kullandıklarına dair ipuçlarını ilk yazılı eserlerden öğrenmekteyiz. Mezopotamya uygarlığı döneminde hastalıkların bitkisel ilaçlarla tedavi edildiği Ninova tabletlerinden öğrenilmiştir. Tabletlerdeki reçetelerde hardal, defne, kekik, haşhaş, nane ve rezene gibi bitkilere rastlanmaktadır. Çin ve Hindistan'da da Mezopotamya uygarlığına paralel olarak bitkisel tedavide gelişmeler kaydedilmiştir. Hint yazar Rig Veda M.Ö. 2500'lü yıllarda 1000 şifalı bitki içeren bir eseri kaleme almıştır. Eski Mısır uygarlığı tıbbına ait bilgilerimizin temeli ise M.Ö. 1550 yıllarında yazıldığı tahmin edilen ve bir mumyanın bacakları arasında bulunan Ebers papirusunda yaklaşık 800 adet bitkiden bahsedilir. Reçetelerde en sık adasoğanı, ardıç, incir, tarçın, keten, safran, soğan, sarımsak ve üzüm gibi bitkilere rastlanmaktadır (Baytop 1999).

Yunan uygarlığı sırasında tedavi ve bitkisel ilaçlar hakkında çok önemli kitaplar yazılmış ve bu eserler senelerce Avrupave özellikle İslâm tıbbına temel teşkil etmiştir. Bu dönemde yaşayan Hipokrat 400 civarında bitkisel ilaçtan bahsetmektedir (Baytop 1999). Botaniğin babası olarak kabul edilen ve yaklaşık 240 eseri olan Theophratus'un "Historia Plantarum" adlı kitabında çeşitli bitkilere ait ilaçlar yer almıştır (Kara 2002).

Roma ve Bizans imparatorlukları döneminde yaşayan Dioscorides tıbbi bitkilerle ilgilenmiş ve elde ettiği bilgileri “İlaçlar Bilgisi” isimli eserinde yayınlamıştır. Yine bu dönemde yaşayan Galen yaklaşık 500 kadar hayvansal, bitkisel ve mineral ilaç tarifi yapmıştır (Baytop 1999). İslam uygarlığı döneminde de bitkisel tedaviye büyük önem verilmiştir. Bu dönemde Biruni, İbni Sina, İbni Baytar, El Gafiki, Davut Al - Antaki gibi büyük hekimler vardır. Biruni “Kitab al Saydada fi al- Tıb” (Tıp müfredatı hakkında kitap) adlı kitabında yaklaşık 200 ilaç kayıtlıdır (Baytop 1999). Batılıların Avicenna ismiyle andıkları ünlü Türk bilgini İbn-i Sina “Kanun-i Fit Tıb” (Tıp Kanunu) adlı kitabında 700 den fazla bitkisel ve hayvansal ilaçtan bahsetmiştir (Öztürk 1990; Baytop 1999; Kara 2002).

Osmanlı İmparatorluğu döneminde insan sağlığı için kullanılan drog, alet ve kitaplara ait örnekler 1962 yılında İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi bünyesinde kurulmuş olan “Türk Eczacılık Müzesi”nde bulunmaktadır. 19. yüzyılda tıbbi bitkiler üzerine incelemeler yoğunlaşmış ve farmakognozi ilminin temelleri atılmıştır (Ivanov *et al.* 1999; Kara 2002).

WHO’nun araştırmasına göre, gelişmekte olan ülkelerdeki insanların %80’i tedavi için sadece geleneksel ilaçları kullanmaktadır. Günümüzde bitkiler ve bitkisel ilaç hammaddeleri, reçete ile satılan ilaçların en az %25’ini oluşturmaktadır (Farnsworth *et al.* 1985). Günümüzde antibiyotiklerin gelişigüzel kullanılması insan patojeni bakterilerin ilaçlara karşı direnç kazanmasına neden olmuştur. Bu durum infeksiyon hastalıklarının tedavisini zorlaştırmıştır (Facey *et al.* 1999; Ahmad and Beg 2001).

Tıbbi bitkiler ile tedavide, bitkilerin yumuşak etkileri sebebiyle bilhassa uzun süren hastalıklarda başarılı sonuçlar alınmaktadır (Baytop 1999). Bitkisel ilaçların vücutta oluşturduğu etkilerden içerdikleri kimyasal bileşikler sorumludur (Başer 1997). Droglarda selüloz, nişasta, pektin, protein ve şeker gibi tedavi yönünden etkisiz maddeler yanında çok az miktarda farmakolojik etkilere sahip bileşikler de (etkili madde) bulunmaktadır. Droglara tedavi özelliği veren bu maddeler kimyasal yapılarına

göre; glikozitler, organik asitler, tanenler, alkaloidler, sabit yağlar, uçucu yağlar, reçineli bileşikler, vitaminler ve antibiyotiklerdir (Baytop1999).

Bilinen tüm antibiyotiklere direnç geliştiren bakterilerde ilaç dirençliliği, artmakta ve yayılmaktadır. Bu sebeple ilaçlara alternatif olarak tıbbi bitkilerin kullanılması önerilmekte hatta bazı geleneksel bitkiler antimikrobiyaller olarak kullanılmaktadır (Abascal ve Yarnell 2002).

Son yıllarda artan hastalıklara karşı sentetik yapılı ilaçların yetersiz kalması ve yan etkilerinin saptanması doğal ürünlerin kullanma zorunluluğunu artırmıştır. Bu durum bilim insanlarını farklı kaynaklardan yeni antimikrobiyal bileşiklerin araştırılması için teşvik etmiştir. Bu amaçla Dünya ülkelerinde tıbbi bitkiler ve bunlardan elde edilen aktif maddeler üzerindeki çalışmalar artmıştır (Kara 2002).

## **1.1. Antioksidanlar**

### **1.1.1. Serbest radikal ve antioksidanın tanımı**

Serbest radikaller, bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron ihtiva eden atom veya moleküller olup, bu tip maddeler ortaklanmamış elektronları sebebiyle oldukça reaktiftirler. Serbest radikaller bir dizi reaksiyon sonucunda aktif radikallere dönüşerek; doku hasarı, organ fonksiyonlarının bozulması ve hasara bağlı hücre ölümlerine neden olabilmektedir (Eryılmaz 2001). Serbest radikallerin oluşumunu ve meydana getirdikleri hasarları sınırlandırmak için, biyolojik sistemlerde çeşitli antioksidan savunma sistemleri gelişmiştir (Yıldırım 2003). Canlı hücrelerde bulunan protein, lipit, karbonhidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar, bu olaya da antioksidan savunma denir (Çavdar vd 1997; Scheibmer *et al.* 2005).

### 1.1.2. Antioksidanların önemi ve etki mekanizması

Aerobik organizmalarda bulunan serbest radikaller daha çok oksijen radikalleri şeklindedir. Çünkü oksijen ortamda sürekli bulunan ve elektrofilik saldırılara en uygun olan moleküldür. Normalde reaktif olmayan oksijen hücre içi koşullarda oksidan maddelerle karşılaşması sonucu metabolize olarak reaktif forma dönüşür ve reaktif oksijen türlerini (ROS, Reactive Oxygen Species) oluşturur (Eryılmaz 2001). Çizelge 1.1'de bazı reaktif oksijen türleri verilmiştir (Halliwell 1996).

**Çizelge 1.1.** Reaktif oksijen türleri

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

Serbest radikallerin oluşumunun ve bunların organizmadaki zararlı etkilerinin önlenmesi amacıyla organizma antioksidan savunma mekanizmaları geliştirmiştir. Bu mekanizmalar; serbest radikal oluşumunu engelleyerek, oksidan maddeleri daha az toksik ürünlere çevirerek, reaktif ürünleri yaşamsal önemi olan dokulardan uzaklaştırarak veya radikallerin oluşturduğu hasarı tamir ederek etkili olmaktadır (Akkuş 1995; Çavdar vd 1997; Yıldırım 2003; Beşkaya 2004). Son zamanlarda ROS'ların kanser ve arteroskleroz (damar sertliği) gibi hastalıkları tetiklediği de kabul edilmiştir (Cuendet *et al.* 1997). ROS'un hücrede artarak oluşturduğu zararlar, esas olarak, yaşlı hücrelerde telomer erozyonu, genom kararsızlığı, DNA mutasyonları ve gen profillerinde ki değişimleri kapsar. Vücutta serbest radikallerin oluşumu, katabolik reaksiyonların yanı sıra yağlı diyetler, sağlıksız beslenme, sigara, ilaç tedavileri, alkol tüketimi, radyasyon, böcek ilaçları (pestisit), çevre kirliliği gibi nedenlerle başlamakta

ve artmaktadır. Serbest radikaller bağışıklık sistemini zayıflatarak çeşitli hastalıklara ve erken yaşlanmaya sebep olurlar. Bu sebeple antioksidanlar, hücre koruyucu olarak, tedavi ve dejeneratif hastalıklardan korunmada önemlidir. Yapılan çalışmalar, antioksidanların serbest radikalleri nötralize edip hücrelerin zarar görmesine engel olduklarını ortaya koymuştur (Gökımar vd2006).

Reaktif oksijen türlerinin ana kaynağının süperoksit radikali olduğu, onun da ana kaynağının mitokondri olduğu düşünülmektedir (Stadtman 2002; Nohl *et al.* 2003). Mitokondride oksijene her seferinde sadece bir elektron transfer edilir ve süperoksit radikali oluşur.  $O_2^{\cdot-}$  (süperoksit) dismutasyon reaksiyonu ile  $H_2O_2$ 'i (hidrojen peroksit) oluşturur.  $H_2O_2$  toksik özelliğinden ziyade reaktivitesi yüksek olan  $OH^{\cdot}$  (hidroksil) radikalini oluşturma potansiyeline sahip olması ile dikkat çeker (Sohal 2002).

Reaktif oksijen türlerine en hassas molekülün, hücre membranının ana bileşeni olan lipidler olduğu düşünülmektedir. Oksijen ya da başka bir radikal, yağ asidinin karbonuna bağlı hidrojenlerden birini elektronuyla birlikte kopararak radikal oluşumuna sebep olabilir. Oluşan bu radikal, komşu yağ asidinden bir hidrojen koparır ve yeni bir radikalın oluşumuna sebep olur. Bu arada oluşan radikal, oksijenle reaksiyona girerek peroksil radikalini oluşturabilir. Zamanla bu zincirleme reaksiyonlar sonucu radikal konsantrasyon artar ve sonuçta lipid peroksidasyonu gerçekleşir. Lipid peroksidasyonun en önemli ürünü malondialdehid (MDA)'dir. Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda MDA meydana gelir. Oluşan MDA, hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur (Placer *et al.*1990; Mercan 2004).

Serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmak için hücreler bunları nötralize eden antioksidanlar üretmektedir. Serbest radikallerin oluşum hızı ve bunların antioksidanlar tarafından nötralize edilme hızı arasında bir denge bulunması gerekir. Bu sayede hücre serbest radikallerin olumsuz etkisinden korunur. Eğer bu denge serbest radikaller lehine



bozulursa hücrede serbest radikaller artar. Serbest radikallerin artışı ile hücrede meydana gelen olumsuz etkiye ‘oksidatif stres’ denir (Çavdar vd 1997).

Olumsuz etkilenen sistemler ilişkili oldukları diğer sistemleri de etkiler ve bu durum zincirleme olarak devam eder. Bu zincirleme reaksiyonlar antioksidan savunma sistemi tarafından sonlandırılır. Antioksidan savunmanın yetersiz olması durumunda bu reaktif türler hücrenin doğrudan ya da dolaylı olarak ölümüne sebep olurlar (Moldovan and Moldovan 2004).

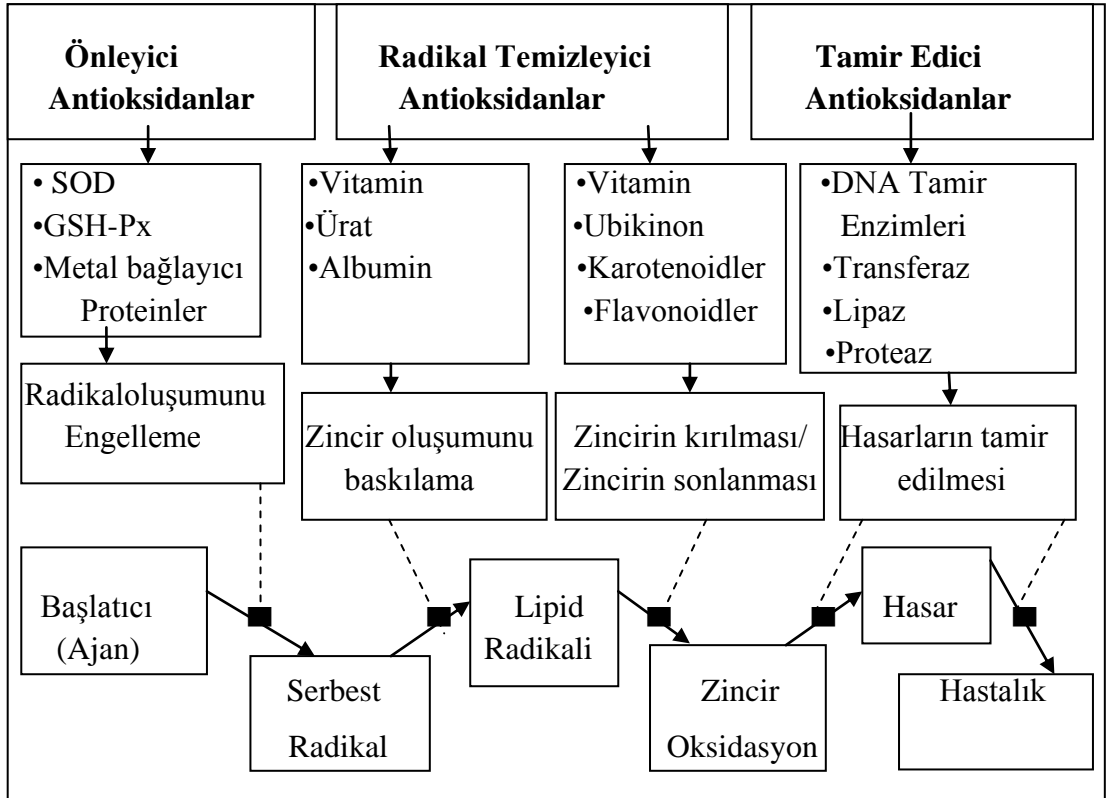
Sentetik antioksidanlar besin endüstrisinde sıklıkla kullanılır. Fakat bu bileşikler parçalanarak toksik ve kanserojen maddelere dönüşür. Bu problemlerden ötürü doğal antioksidanlar sentetik olanlara göre daha çok tercih edilir. Doğal antioksidanlar çok pahalıdır fakat daha güvenlidir. Bundan dolayı düşük maliyetli doğal antioksidanlar daha çok tercih edilir. Bu bakımdan mikrobiyal kaynakların, doğal antioksidanların üretimi için potansiyel bir kaynak olduğu görülmüştür (Yen and Chang 2003).

Bitkilerden izole edilen fenoller (flavonoid, tokoferol), azotlu bileşikler (alkaloid, aminoasit ve aminler), karotenoidler ve askorbik asit, doğal kökenli antioksidanlar olarak kullanılmaktadır. Sentetik antioksidanların kanser gibi çeşitli hastalıkları tetikleyebileceği şüphesinden ötürü bitkiler alternatif antioksidan madde araştırmaları için önemli birer kaynak oluşturmuştur (Velioğlu vd 1998).

Antioksidanlar serbest radikallere karşı değişik şekillerde etki ederler (Şekil 1.1). Oluşmuş serbest radikalleri tutma ya da daha zayıf olan yeni bir moleküle çevirme işlemine ‘toplayıcı etki’, serbest radikallerle etkileşip onlara bir  $H^+$  aktararak etkilerini azaltma veya inaktif forma dönüştürme işlemine ‘baskılayıcı etki’, serbest radikalleri kendilerine bağlayarak reaksiyon zincirini kıran etkiye ‘zincir kırıcı etki’ ve bir diğer antioksidan savunma sistemi olan tamir işlemine de ‘onarıcı etki’ denir (Akkuş 1995; Yıldırım 2003).

Antioksidanlar endojen kaynaklı (melatonin, SOD, GSH-Px) ve eksojen kaynaklı (karoten, A, C ve E vitamini) olanlar şeklinde gruplandırılabilirler (Yılmaz 2010). Vücut içi antioksidan sistemlerine ek olarak dış kaynaklı olarak alınan antioksidanlarda mevcuttur [C vitamini, E vitamini ( tokoferoller), meyve ve sebzelerde bolca bulunan fenolik maddeler, A vitamini,  $\beta$ -karoten]. Aynı zamanda enzim ve enzim olmayan antioksidanlar şeklinde sınıflandırmalar da mevcuttur (Seven ve Candan 1996).

Vücudumuzdaki antioksidan savunma sisteminde yer alan başlıca elemanlar ise; enzimler, metal iyonlarını bağlayan proteinler, suda ve yağda çözünen radikal tutucularıdır (Halliwell 1994; Percival 1998).



**Şekil 1.1.** Willcox *et al.* (2004) tarafından bildirildiğine göre Antioksidan grupları ve etkileri (Temür 2008)

\*Kesikli çizgiler baskılanmayı göstermektedir

## 1.2. Antimikrobiyal Maddeler

### 1.2.1. Antibakteriyel maddeler

Kemoterapötik madde, çok küçük miktarlarda mikroorganizma üzerinde zarar verici etkisi fazla, buna karşın organizma üzerindeki etkisi çok az olan ya da hiç bulunmayan, infeksiyon hastalıkların tedavisinde kullanılan kimyasal maddelerdir. Antimikrobiyal maddeler, antibiyotikler ve sentetik maddeler olmak üzere iki kategoride incelenirler (Hasenekoğlu ve Yeşilyurt 2002).

**Antibiyotikler**, bazı mikroorganizmaların metabolizmalarının bir ürünü olarak oluşan ve diğer mikroorganizmalara karşı etkili olan kimyasal maddelerdir. 1881’de John Tyndall, içlerinde bakteri gelişen kültür ortamlarının bulandığını ancak bu ortamların yüzeyinde küf geliştiğinde bulanıklığın kaybolduğunu gözlemiştir. 1920’lerde Gratia ve Dath aktinomisetin antibiyotiğini bulmuşlardır. Modern antibiyotik çağının 1929’da Alexander Fleming’in penisilini keşfetmesi ile başladığı kabul edilir (Hasenekoğlu ve Yeşilyurt 2002).

Antibiyotikler, kimyasal olarak modifiye edilebilirler. Böylece hem etkileri artırılır hem de doğal olanların bazı sakıncalı tarafları giderilmiş olur. Bu antibiyotikler semisentetik antibiyotiklerdir (Modigan and Martinko 2010).

**$\beta$ -Laktam grubu antibiyotikler**’in ortak özelliği hepsinde 3 karbon ve 1 azot atomundan oluşan karakteristik dört elemanlı  $\beta$ -laktam halkasının olmasıdır.  $\beta$ -laktam antibiyotikleri güçlü bir hücre duvarı sentezi inhibitörüdür. Penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar ve karbapenemler de bu gruptadır (Modigan and Martinko 2010).

**Penisillinler:**  $\beta$ -laktam grubu antibiyotiklerdendir. İlk antibiyotik olarak kabul edilen Penisillin G *Penicillium chrysogenum* tarafından üretilir. Penisillin G mide asitinden etkilendiği için oral alınımı etkisizdir. Penisillinin çekirdek yapısına farklı kimyasal gruplar eklenerek dirençli semisentetik penisillinler üretilir.

Genel olarak penisilinler, geniş bir terapötik indekse sahiptir ve neredeyse hiç doz kısıtlaması yoktur. En çok göze çarpan ters etkiler penisilin-aşırı duyarlılığı ile ilgilidir. Çoğunlukla cilt kızarıklığı şeklindedir ama kendini yaşamı tehdit eden anafilaktik şok şeklinde de gösterebilir (Modigan and Martinko 2010).

**Sefalosporinler:** *Cephalosporium* spptarafından üretilen geniş spektrumlu antibiyotiklerdir. Yapısal olarak penisiline benzemesine rağmen sefalosporinler penisillinaz enzimlerine karşı dirençlidir. Üç kuşak halinde sınıflandırılırlar. 1.kuşaktan 3.kuşağa, Gram (+) etkinlik azalır, Gram (-) etkinlik artar.

Birçok sefalosporin damar içi olarak verilir ve sadece birkaçı oral olarak uygulanabilir (Modigan and Martinko 2010).

**Monobaktamlar:** *Chromobacterium violaceum* tarafından üretilir. Kas içi uygulanır ve ürün içinde hızla atılır. Tamamıyla sentetik olup nispeten dar spektrumludur. Gram (-) bakteri enfeksiyonlarında aminoglikozidler yerine kullanılabilir. Monobaktamların yan etkileri geçici cilt kızarıklıkları ve serum transaminazlarının yükselmesidir. Major toksisite rapor edilmemiş olup, penisiline alerjisi olan hastalar bu ilacı tolere edebilir (Boxtel 2007).

**Karbapenemler:** *Streptomyces cattleya* tarafından üretilir. Penisilin ve sefalosporinlere dirençli bakteri türlerinin çoğuna karşı etkilidir. Antibakteriyel spektrumu daha geniş olup 3. kuşak sefalosporinlere üstünlük gösterir. İmipenem ilk temsilcisidir. Hastalarda aşırı seviyede gastrointestinal rahatsızlıklar, cilt kızarıklıkları ve penisiline duyarlı kişilerde alerjik çapraz reaktivite olarak yan etkiler gösterebilir (Boxtel 2007).

**Aminoglikozidler,** Aminoglikozidler protein sentezine ribozomun 30S alt ünitesine bağlanarak engel olurlar. Haberci RNA'nın ribozoma bağlanmasını bloke ederek, haberci RNA'nın yanlış okunmasına neden olur. Uzun süre kullanımı sağırılık ve böbrek bozukluklarına neden olur.

Streptomisin, tobramisin, kanamisin, neomisin ve gentamisin bu gruptadır. Aralarında en toksik olan neomisinidir (Modigan and Martinko 2010).

**Tetrasiklinler**, *Streptomyces rimosus* tarafından üretilir. Ribozomun küçük alt birimine bağlanarak protein sentezini inhibe ederler. Asitlere karşı dayanıklı olup, barsaktan kolayca emilir. Gastrointestinal alanda tahriş ile mide bulantısı, kusma ve ishale neden olur. Kalsiyumu kısıtlanması sonucu kemiklerin normal gelişimini geciktirir ve dişlerde birikerek renk değişimine sebep olur. Tetrasiklinler plasentayı geçerek fetüse ulaşır, ayrıca anne sütüne geçtiği için hamilelerde, emziren kadınlarda ve çocuklarda kullanımı uygun değildir (Boxtel 2007).

**Eritromisin**, *Saccaropolyspora erythraea* tarafından üretilir. Makrolid denen ve kimyasal yapısında makrosiklik lakton halkası bulduran bir antibiyotiktir. Ribozomun yapısını bozmaz. Protein sentezi sırasında aminoasitler arasında peptid bağı oluşumunu engelleyerek etkili olurlar. Penisilin alerjisi olan kişilerde alternatif ilaç olarak kullanılır (Modigan and Martinko 2010).

**Kloramfenikol**, *Streptomyces venezuelae* tarafından üretilir. Protein sentezini inhibe eden geniş spektrumlu bir antibiyotiktir (Hasenekoğlu ve Yeşilyurt 2002).

**Sentetik kemoterapötikler**, kimyasal olarak laboratuvar şartlarında üretilen maddelerdir. 1912'de Alman bilim adamı Paul Ehrlich, sadece patojenleri öldürmeye yönelik olan "sihirli mermi" arayışında seçici toksisite için çok sayıda kimyasal boya test edip bunlar arasında en başarılı olan salvarsan'ı keşfetmiştir. İlk antimikrobiyal ilaç olarak kabul edilen salvarsan sifiliz (frengi) tedavisinde kullanılmıştır (Modigan and Martinko 2010).

Ehrlich'den sonra çok sayıda kemoterapötik madde üretilmiştir. 1935'de Gerhard Domagk, prontosil denen sentetik bir maddenin streptokok infeksiyonlarına karşı kullanılabileceğini bulmuştur. Bu maddenin hasta hayvan vücudunda etkili olmasına rağmen laboratuvar kültürleri üzerinde etkili olmadığı gözlenmiştir. Fransız kimyacı

Jacques ve arkadaşları hayvan vücuduna prontosil verildiğinde sülfanilamid denen renksiz bir madde salgılandığını ve mikroorganizmalar üzerinde asıl bu maddenin etkili olduğunu göstermiştir (Hasenekoğlu ve Yeşilyurt 2002).

**Sulfonamidler (sülfa ilaçlar)**, bakterilerin metabolizmalarını bozmak suretiyle etkili olan kemoterapötiklerdir. Kimyasal yapı olarak PABA'ya benzerler. PABA'nın folik asit yapısına girmesini engelleyerek etkili olmaktadır. İnsan ve diğer memeliler gıdalarıyla folik asiti aldıkları için eksikliği çok önemli olmaz. Ancak bakteriler PABA'yı kullanarak kendi folik asitlerini üretmek zorundadırlar. Bu sebeple sulfonamid bakteriler için kemoterapötik ajandır (Bilgehan 2005).

**Trimetoprim**, kimyasal olarak dihidrofolik asite (DHFA) benzer. Bakteri enzimleri DHFA yerine trimetoprimi tanır. Bu enzimin inhibisyonu dolaylı olarak DNA sentezi inhibisyonuna yol açar (Boxtel 2007).

**İzoniazid**, pridoksin ve nikotinamid analogu olup bu maddelerin biyokimyasal reaksiyonlarını bloke ederek etki eder. Tüberküloz tedavisinde kullanılır (Hasenekoğlu ve Yeşilyurt 2002).

**Nalidiksik asit**, quinolon prototipi olup bakterilerin DNA sentezini inhibe ederek etkili olur. DNA giraz enzimini inhibe eder. İdrar yolu infeksiyonlarında yaygın olarak kullanılır (Modigan and Martinko 2010).

### 1.2.2. Antiviral maddeler

Virüsler hücre içi obligant organizmalardır. Çünkü virüsler üremek ve metabolik fonksiyonlarını gerçekleştirmek için kendi konukçularını kullanırlar. Bu nedenle antiviral terapi, antibakteriyel tedaviler kadar seçici olmaz. Antiviral maddeler konak hücre fonksiyonlarını engellemeye eğilimli olup, major toksisiteye sebep olabilir (Boxtel 2007).

**Amantadin:** Bazı virüslerin duyarlı konak hücre içine girmesini ve Influenza-A gibi virüslerin kapsitlerinin ayrılmasını baskılayarak etkili olur. Ters etkileri öncelikle merkezi sinir sistemi üzerine olup, huzursuzluk, sinirlilik ve depresyon olarak ortaya çıkar (Modigan and Martinko 2010).

**Asiklovir:** Herpesvirüsleri ile enfekte hücrelerde DNA sentezini inhibe ederek etkili olur. Guanozin analogudur. Oral kullanımı iyi tolere edilir. Baş ağrısı, bulantı, kusma, ishal ve geçici karaciğer enzim artışına sebep olabilir. Damar içi uygulanım nefrotoksik olabilir (Boxtel 2007).

**İdoksuridin:** DNA virüslerinde, DNA'da timidin yerine geçerek replikasyonu baskılar. Aşırı toksik olduğundan genel kullanımı yoktur (Bilgehan 2005).

**Ribavirin:** Guanin analogu olup DNA ve RNA sentezini engeller. Hepatit virüsünde kullanılır (Bilgehan 2005).

**Zidovudin(Azidotimidin):** AIDS'e karşı kullanılan timidin analogudur. DNA oluşumunu durdurur. HIV proteaz enziminin aktif bölgesine bağlanıp viral polipeptidlerin işlemini ve virüs olgunlaşmasını engellemek suretiyle viral replikasyonu önlemektedir (Modigan and Martinko 2010).

### 1.2.3. Antifungal maddeler

Funguslar ökaryotik organizmalar olmaları sebebiyle, hücresel mekanizmalarının çoğu hayvanlar ve insanlardaki ile aynıdır. Bu nedenle funguslarda metabolik yolları etkileyen kemoterapötik ajanlar konukçu hücrelerde de benzer yolları etkileyerek ilaç toksisitesine sebep olmaktadır. Pek çok antifungal ilaç sadece topikal uygulamalarda kullanılır (Modigan and Martinko 2010).

**Polyenler:** Fungus hücre zarında bulunan ergosterole bağlanarak etkili olurlar. Seçici toksik etki yapar (Bilgehan 2005).

**Azoller:** Ergosterol sentezini inhibe ederek etkili olurlar. **İmidazol** azollerin bir grubu olup, yan etkisi çok az, geniş spektrumlu antifungal bir ilaçtır. Çeşitli dermatofitlere, *Candida* ve ağır enfeksiyonlara sebep olan diğer funguslara karşı etkilidir (Boxtel 2007).

#### 1.2.4. Kemoterapötiklerin etki mekanizması

Antimikrobiyal ajanlar mikroorganizmalar üzerinde değişik şekillerde etki gösterirler (Şekil 1.2.)

1-) Peptidoglikan oluşumunda rol oynayan enzimlerin işlevlerinin bloke edilerek hücre çeperinin sentezini engellemek. Penisillin ve sefalosporin etkisi bu yolla olur.

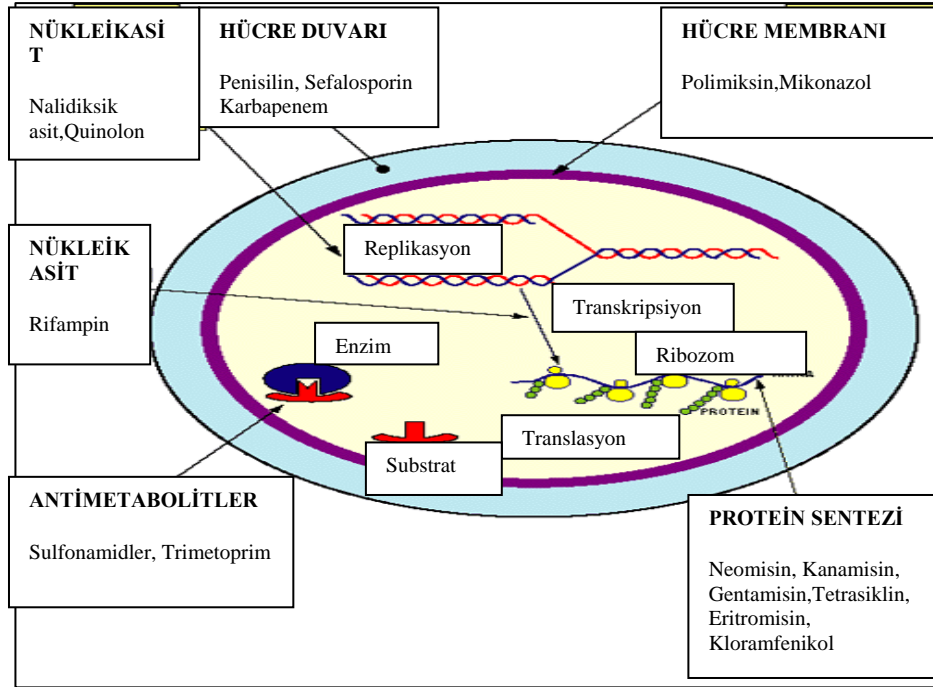
2-) Hücre zarının fonksiyonunu bozmak. Kemoterapötikler sitoplazmik zar üzerine eritici ya da seçici geçirgenliği bozucu etki yapar. Polymyxin ve polyen'in etkisi bu yolla olur. İmidazol ise membran lipidlerinin biyosentezini inhibe ederek etkili olur.

3-) Protein sentezini bozmak. 30S alt üniteye tetrasiklinler ve aminoglikozidler, 50S alt üniteye eritromisin ve kloramfenikol etki eder.

4-) Nükleik asit sentezini bozmak. Rifampin DNA'ya bağlı olan RNA polimeraz'a bağlanarak RNA sentezini inhibe eder. Nalidiksik asit DNA giraz enzimini bloke ederek süper sarmal oluşumunu durdurur.

5-) Metabolizmayı bozmak. Kimyasal benzerlik nedeniyle enzimin aktif bölgelerine bağlanarak etkili olurlar. Sülfü ilaçlar ve izoniazid örnek verilebilir.





Şekil 1.2. Kemoterapötiklerin etki şekilleri (Modigan and Martinko 2010)

### 1.2.5. Antimikrobiyal ilaç direnci

Mikroorganizmaların normalde duyarlı olduğu kemoterapötik ajanların etkilerine karşı kazanmış olduğu direnç yeteneğidir. Antimikrobiyal direnç; R-faktör plazmitlerinin antibiyotiğe dirençli bir ırktan duyarlı bir ırka transferi ile veya bir bakteri popülasyonunda oluşan rastgele mutasyonlar sonucu meydana gelebilir. Bazı mikroorganizmalar ise belirli antibiyotiklere doğal dirençlidir.

Direnç mekanizmaları çeşitli şekillerde olabilir (Hasenekoğlu ve Yeşilyurt 2002).

1. Kendisine karşı kullanılan antibiyotiği parçalamak.
2. Hücreye antibiyotik alınmasını engellemek.
3. Antibiyotiğin hedefini yok etmek veya değiştirmek.
4. Biyosentez yollarını değiştirmek veya basamaklarını atlamak.
5. Çapraz direnç geliştirmek.

### 1.3. Dut'un (*Morus L.*) Özellikleri

#### 1.3.1. Botanik özellikleri

Dut, Urticales takımının Moreceae familyasının *Morus* cinsine dahil olup, hem ılıman hem de subtropik iklim bölgelerinde yetişebilen bir bitki türüdür. Dutların yaklaşık 10 veya 12 türü olduğu kabul edilir. Başlıca türleri *Morus alba*, *M. nigra*, *M. rubra*, *M. latifolia*, *M. multicaulis*, *M. thaus*, *M. australis* ve *M. bombycis*'tir (De Candolle 1967).

Dutlar kışın yaprağını döken ağaç veya çalı formunda odunsu bitkiler olup, yaşlı gövdelerinin kabukları levhalar halinde çatlaklıdır. Yapraklar geniş yumurtamsı şekildedir. Sürgünleri terminal tomurcuklu olup, yan tomurcuklar ise iki sıralı sarmal dizilimlidir. Tomurcuklar 3-6 pulla örtülüdür. Çiçekleri bir veya iki evciklidir. Ovaryum iki gözlü, tek tohumludur. Dutlarda esas meyve, küçük bir mus olup yenen tatlı kısmı etleşen çanak yapraklardır. Dut meyvesi ise, çok çiçek ve çok pistilden oluşan bir meyvedir. Odunları "Morin" maddesinden ötürü sarı bir renk almıştır. Öz odunu ise koyu renkte olup, floem tabakası sarı renktedir. Sağlam ve dayanıklı oldukları için özellikle müzik aleti yapımında kullanılmaktadır (Harlow 1958).

Dut ağacı farklı iklim ve toprak şartlarına adaptasyon kabiliyetinin yüksek olması sebebiyle, ılıman ve subtropik iklim bölgelerinde yetişebilen bir bitki türüdür. Dut ağaçlarının çoğu anavatanlarından götürülüp adaptasyonu yapılmış ve yetiştirilmeye başlandığı bölgelerin tabii bitkisi halini almışlardır. Bu sebeple bunların sınıflandırılması oldukça güçtür (Machii *et al.* 2001).

Türkiye'de yaygın olarak *M. alba*, *M. nigra* ve *M. rubra* yetişmektedir (Şekil 1.3). Bu türler içinde en yaygın olanı ise *M. alba*'dır (Lale ve Özçağırın 1996).

**Morus alba L. (ak dut)** anavatanı Çin olup yaygın olarak Asya'nın birçok yerinde ve bu arada Japonya, Kore, Mançurya, Hindistan, Pakistan, İran ve Anadolu'da genellikle

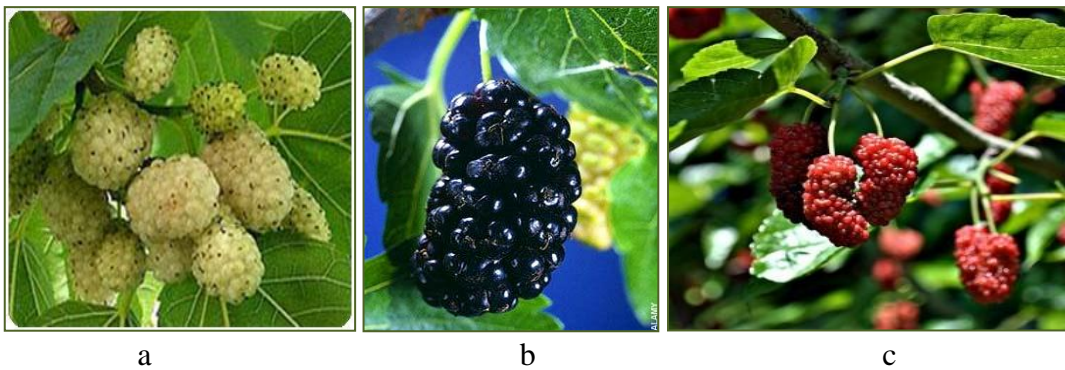
sıcak ve ılıman bölgelerde; Avrupa'da Akdeniz çevresi ülkelerde, Orta Avrupa'da ve kısmen de kuzey bölgelerinde yetişmektedir (Gökmen 1973).

Ak dut yaşlandıkça taç dağınık bir hal alarak kuvvetli bir gelişme gösterir. Gövde dik, geniş ve yüksek bir yapıya sahiptir. Ak dut'un tüm dalları gri ve kahverengidir (Lale 1992). Bu türün yaprakları oval, tam veya loblu, kenarları dişli ve genellikle tüysüzdür. Yapraklar aynı bitkide farklı şekillerde görülebilir (Lale 1992).

Ak dut her çeşit toprakta yetişebilir. Kayalık, kuru topraklarda dahi yaşayabilmektedir. Tuzlu suya karşı çok dayanıklıdır (Yaltırık vd 1995).

***Morus nigra* L.** (kara dut) asıl vatanının İran ve Kafkaslar olduğu bilinmektedir (Gökmen 1973). Taç genişliği yukarıdan aşağı doğru artmakta olup, gövdesi kısa ve kuvvetlidir. Bu türün yaprakları sert, kalın, pürüzlü ve mat bir görünüme sahip olup kenarları küçük, girintileri derin yaprak dişleri ile çevrili olmakla beraber tam ve loplu bir yapıya sahiptir (Lale 1992).

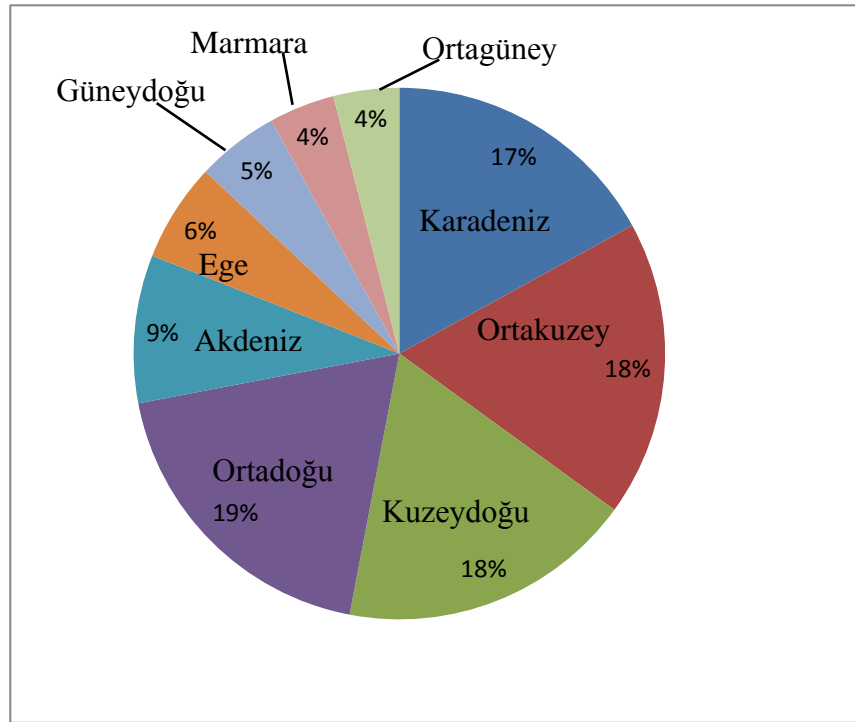
***Morus rubra* L.** (kırmızı dut) Kuzey Amerika'nın doğu ve iç kesimlerinde yaygın olup, ülkemizde de Tekirdağ, Bilecik, Sakarya, Amasya, İzmir, Malatya ve Erzurum gibi illerimizde kültürü yapılmaktadır. Meyve koyu kırmızı renkte olup, yaprakları dip kısımda kesiktir (Lale 1992).



**Şekil 1.3.** Türkiyede yaygın olan *Morus* türleri  
\*a. *Morus alba*, b. *Morus nigra*, c. *Morus rubra*

### 1.3.2. Ülkemizde dut ve kullanım alanları

Dut ülkemizin hemen her tarafında çeşitli amaçlarla yetiştirilen bir bitkidir. Ülkemizde, 2.210.000 adet meyve verme çağında olan dut ağacından yaklaşık 55.000 ton ürün elde edilmektedir (Anonim 2003a). Meyvecilik kültürü çok eskilere dayanan ülkemiz, dutun anavatanlarından ve doğal yayılış alanlarından olmasına rağmen, bu genetik potansiyel yeterince değerlendirilememektedir. Meyve kalitesi bakımından oldukça üstün özelliklere sahip olan birçok tür sadece kerestesinden yararlanmak amacıyla kesilerek yok edilmiştir (Erdoğan vd 2005).



**Şekil 1.4.** Türkiye’de dut meyvesi üretiminin bölgelere göre dağılımı

Ortadoğu (10.263 ton), Kuzeydoğu (10.134 ton), Orta kuzey (10.043 ton) ve Karadeniz (9.196 ton) dut üretiminin en fazla olduğu bölgelerimizdir (Anonim 2003b).

**Çizelge 1.2.** Ülkemizde dut üretiminin en fazla yapıldığı iller (Anonim 2003)

İller	Üretim(ton)	Üretimdeki payı (%)	Ağaç sayısı (adet)	Verim (kg/ağaç)
Erzincan	5,793	10,53	169,114	34,25
Malatya	5,501	10,00	133,800	41,11
Ankara	4,770	8,67	74,324	64,18
Erzurum	2,457	4,47	35,668	67,06
Artvin	1,823	3,31	52,520	34,71
Kütahya	1,714	3,12	48,670	35,22
Samsun	1,712	3,11	47,200	36,27
Kahramanmaraş	1,673	3,04	60,700	27,56
Elazığ	1,663	3,02	141,100	11,79
Kastamonu	1,487	2,70	42,909	34,65
<b>Türkiye</b>	<b>55,000</b>	<b>100,000</b>	<b>2,210.000</b>	<b>24,89</b>

Ülkemizde hem ağaç sayısı, hemde üretim miktarında giderek bir azalma gözlenen dut, 1980 yılı temel alındığında Türkiye'deki 1980 yılını takip eden 20 yıllık dönemde toplam ağaç sayısında %36,75'lik, üretimde %42,11'lik bir düşüş gerçekleşmiştir (Anonim 2001; 2003a).

Günümüzde taze tüketiminin yanı sıra işlenmiş ürünlerinin de besleyici özelliği sayesinde dut önemli bir potansiyele sahiptir. Dut meyvesi taze ve kurutulmuş olarak kullanıldığı gibi, meyvesinden ülkemizde pekmez, sirke, reçel, pestil, cevizli sucuk ve meyve suyu konsantresi gibi ürünler de elde edilmektedir (Güven ve Başaran 1979).

Dut yaprağı ipek böceği beslenmesinde kullanılmasından ötürü ekonomik değeri yüksektir (Ryu 1977). Dut yaprağı ayrıca, yüksek sindirilebilirlik ve protein içerikleri nedeniyle hem geniş getiren hem de tek mideli hayvanların ve balıkların beslenmesinde kullanıma uygundur (Trujillo 2002; Huo 2002). Dut yapraklarıyla yapılan çay sakinleştirici, kan basıncını ve kan şekerini düşürücü etkiye sahiptir. Taze yapraklar kanamayı durdurmak amacıyla derideki yara üzerine tampon yapılabilir. Çin'de kurutulmuş dut yaprakları çörek, pasta, ekmek vb. yapımında kullanılmaktadır (Machii *et al.* 2001; Huo 2002).

Dut ağaçları düşük su ihtiyacı ve budamaya dayanıklı olmaları sayesinde şehir, ev ve bahçelerde gölgeleme, sınır ağacı, çit bitkisi ve süsleme çalışmaları amacıyla kullanılmaktadır (Sanchez 2000). Amerika’da dut ağacının kabuğunun iç kısımları kızartılıp una katılarak, çorbalara kıvam verici olarak veya ekmek yapımında tahıllar ile karıştırılarak kullanılmaktadır (Moore 2002). Bundan başka kağıt üretimi ve çuval yapımında da duttan faydalanılır. Budamaya dayanıklı olması sebebiyle birçok ailenin yakacak ihtiyacını karşılayabilir. Odunu cila kabul etmesi, dayanıklı ve sert olmasından dolayı oldukça kıymetlidir. Mobilya, sandık, araba tekerlekleri ve bazı müzik aletleri yapımında ve tornacılıkta kullanılır (Yaltırık vd 1994).

Meyveleri baş dönmesi, kulak çınlaması, uykusuzluk, böbrek iltihabı, hipertansiyon, sinir zayıflığı ve saçların erken beyazlaması tedavilerinde; gövdesi romatizma ağrıları ve spazm tedavisinde; kök kabukları ise astım, akciğer iltihabı, öksürük, bronşit, ödem ve hipertansiyon tedavisinde kullanılabilir (Huo 2002; Moore 2002; Anonim 2002a). Bunun yanı sıra kök kabukları tansiyon düşürücü olarak da kullanılır (Behferooz 1993).

Yaprakların içerdiği antioksidatif maddeler lipid peroksidasyonunu önlediği için kardiyovasküler sistemin korunmasında çok önemlidir. Dut yaprakları içinde bulunan DNJ (deoxynojirimycin) adlı bileşiğin, glikozidaz, sükröz ve maltaz gibi enzimlerin aktivitelerini düzenlediği anlaşılmıştır. Bu sebeple dut ağacının kök kabukları, yaprak ve meyveleri şeker hastalığı tedavisinde kullanılmaktadır (Bremness 1999).

#### **1.4. Sirke Yapımı ve Tarihçesi**

Anonymous (1952) tarafından bildirildiğine göre; eski gıda maddeleri tüzüğünde sirke, üzüm, elmave incir gibi şekerli meyvelerin önce alkol fermantasyonuna sonra asetik asit fermantasyonuna tabi tutulmasıyla elde edilen madde şeklinde tanımlanmıştır (Akbaş 2008).

TSE 1880 EN 13188 sirke standardına göre sirke: "Tarım kökenli sıvılar veya diğer maddelerden, iki aşamalı alkol ve asetik asit fermantasyonu ile biyolojik yolla üretilen kendine özgü ürün" olarak tanımlanmaktadır.

Sirke, FAO/WHO gıda standartlarına göre: "İki fermantasyon prosesi yani etil alkol ve asetik asit fermantasyonu ile nişasta veya şeker içeren tarımsal kökenli hammaddelerden üretilen, insan tüketimi için uygun olan bir sıvıdır" şeklinde tanımlanır (Anonymous2000).

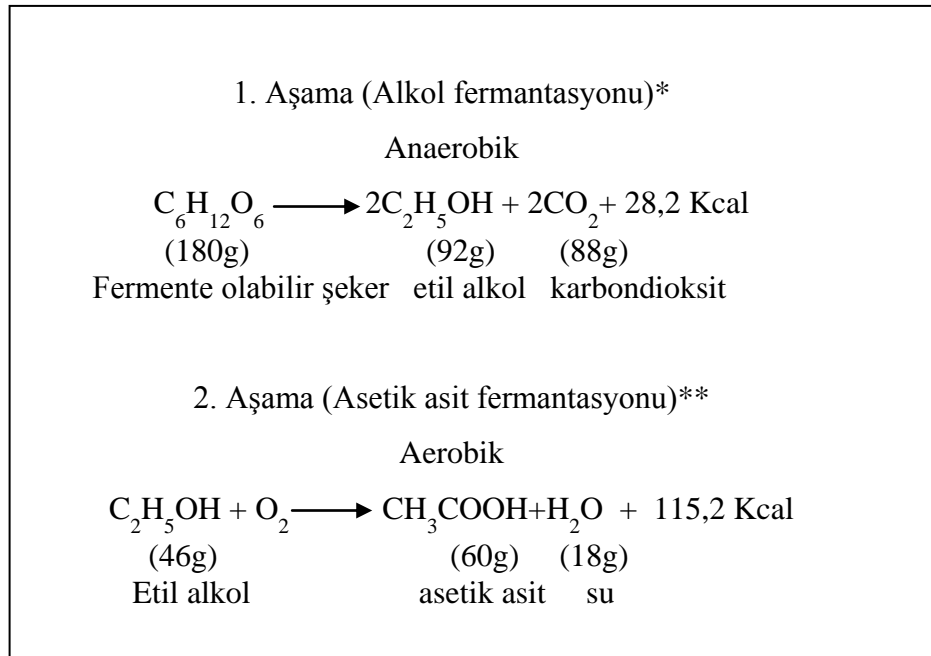
Eski eserlerden; Sümerler, Asurlular, İranlılar, eski Mısırlılar ve eski Yunanlıların sirke yaptıkları bilinmektedir. Doğada sadece sirkede rastlanan sirke solucanı M.Ö. 3000 yıllarına ait eski Mısır küpündeki tortuda bulunmuştur (Aktan ve Kalkan 1998).

Aktan ve Kalkan (1998)'ın bildirdiğine göre, Kutzing 1837'de sirke zarını mikroskopta inceleyip, asetik asidi tek hücreli bir organizmanın yaptığını bulmuştur. Pastör "Etud sur le vinaigre" adlı eserinde şarap sirkesi zarında bulduğu asetik asit bakterilerinin kısa çubuklu bakteriler olduğunu saptayarak, bu bakterilere *Mycoderma aceti* adını vermiştir.

Buchner, sirkeleşmeyi sirke bakterilerinde bulunan oksidaz (dehidrogenaz) enziminin yaptığını kanıtlamış ve bundan sonrada Hansen, 1878 yılında *M. aceti*'nin, *Acetobacter aceti* ve *A. pasteurionum* olmak üzere iki türü olduğunu bulmuştur. Bu sayede asetik asit fermantasyonuna açıklık getirilmiştir (Özkaya vd1991).

Eskiden sirke, sadece sofralarda tüketilmekle kalmamış; tarla işlerinde, kara ve deniz seferlerinde serinletici bir içki olarak da kullanılmıştır. Günümüzde ise sirke, sadece yemeklerde, salatalarda değil turşu yapımında da kullanılır. Mayonez, salça, salamura, hardal gibi gıda maddelerinin hazırlanmasında ve konserve edilmesinde ayrıca az miktarda antiseptik olarak da kullanılmaktadır (Plessi 2003; Tan 2005).

Ülkemizdeki sirke işletmelerinin bir kısmının sirke içine sentetik asetik asit katkıları sanılmaktadır. Bu sebeple doğal fermantasyon sirkelerinin bileşimlerinin tespiti ile bunlara katılan sentetik asetik asidin ayırt edilebilmesi büyük önem arz etmektedir. Şeker içerikli ürünlerden sirke oluşumu etil alkol fermantasyonu ve asetik asit fermantasyonu olmak üzere 2 aşamalı bir süreç olup sirke fermantasyonu oksidatif bir fermantasyondur. Etil alkolün oksijen varlığında *Acetobacter* spp. tarafından sirke asidine ve suya okside olmasıdır (Özkaya vd 1991; Plessi 2003).



**Şekil 1.5.** Fermente olabilen şekerlerin iki aşamalı oksidasyonu

\*1. aşama şekerin etil alkole fermantasyonu (anaerobik koşullar). \*\*2.aşama Etil alkolün asetik aside fermantasyonu (aerobik koşullar) (Aktan ve Kalkan 1998; Plessi 2003).

Sirkenin kalitesinde hammadde çok önemlidir. Hammadde bileşimi, çeşitli iklim ve toprak koşullarına göre değişiklik gösterir Şahin (1982) ve Morales *et al.* (2004) tarafından bildirildiğine göre, doğal sirkeler fermantasyon yoluyla elde edilir ve bu sirkeler yapay sirkelerden bileşimlerinin analiz edilmesi yoluyla kolaylıkla ayırt edilebilir (Akbaş 2008).



Yapay sirkeler asetik asit fermantasyonu sırasında oluşan bazı fermantasyon yan ürünlerini (kül, tiamin, riboflavin, pantotenik asit, nikotinik asit vb.) içermediği için doğal sirke ile yapay sirke kolayca ayırt edilebilir (Kirk and Sawyer 1991).

### 1.5. Test Mikroorganizmaları

Antimikrobiyal etkinin belirlenmesi için yapılan deneylerde insan, hayvan ve gıdalarda patojen olan 8 bakteri ve 1 fungus seçilmiştir.

***Staphylococcus aureus***: Staphylococcaceae familyasından bakteri türü olup gram pozitiflerdendir. İnsan ve diğer sıcakkanlı hayvanlarda enfeksiyonlara neden olurlar. Deride apseler, fronkül (sivilce), sikozis (sakal-kıl kökleri yangısı), kan çıbanı, hidroadenit (ter bezi yangısı), arpacık, deri döküntüleri gibi hastalıklar meydana getirirler. Pasta, süt, krema, et gibi karbonhidrat ve proteinli besin maddeleri içerisinde üreyerek yaptıkları enterotoksinlerin ağız yolu ile alınması sonucunda da besin zehirlenmeleri ve enteritlere yol açarlar (Bilgehan 2000).

***Streptococcus pyogenes***: Streptococcaceae familyasına ait bir bakteritürü olup gram pozitifdir. Grup A ( $\beta$ -hemolitik) streptokoklar içindedir. M proteini içerir ve bu proteinin antifagositik özelliği vardır. Ayrıca kapsüllü bir bakteri olduğu için fagositozu zordur. M proteinleri çok çeşitlilik gösterir. Bu proteinlerin birine karşı vücutta yapılan antikor diğer bir M proteinini etkileyemediği için vücuda hep farklı şekillerde girer ve bu nedenle çok patojendir. Akut boğaz ağrısı, farenjit, kızıl, impetigo, puerperal ateş, nekrotizan fasit, toksik şok sendromu, sepsis, akut romatizmal ateş, post-streptokokal glomerulonefrit, gazlı gangren, septisemi, otitis media, selülit, miyozit ve osteomyelit gibi hastalıklar meydana getirirler (Cunningham 2008).

***Klebsiella oxytoca***: Gram negatif bakterilerdir. En çok idrar yolu enfeksiyonuna neden olması ile tanınır. Bu tür enfeksiyonlar böbreğe yayılıp, böbrek yetmezliğine de yol açabilir. Hastane ortamındaki pek çok gram negatif mikroorganizma gibi *Klebsiella*

*oxytoca* için de giderek artan oranda antibiyotik direnci bildirilmektedir. Tedavide bu özelliklerinin dikkate alınması önerilir (Palanduz vd 1996).

***Enterococcus faecalis***: Gram pozitif bakteri olup özellikle insanlarda yaşamı tehdit eden enfeksiyonlara neden olur. Endokardit, bakteriyemi ve idrar yolu enfeksiyonlarına sebep olur. *E. Faecalis*'de görülen biyofilm oluşumu bu mikroorganizmaların boşaltım sistemine ve kalp kapaklarına kolonize olmasını kolaylaştırmaktadır. Son yıllarda Enterokok türlerinde amfisilin ve bununla birlikte penisiline karşı artan direnç, tedavilerde bu antibiyotiklerin kullanımını sınırlamıştır (Ersoy vd 2005).

***Bacillus cereus***: insanlarda besin zehirlenmelerine yol açmasının dışında insanlarda oluşturduğu enfeksiyonlar nadirdir. Toprak, su, süt ve süt tozunda bulunur. Daha çok vücut direnci kırılmış olan kimselerde fırsatçı patojen olarak; apseler, göz içi enfeksiyonları, menenjit, akciğer ve böbrek enfeksiyonları, osteomyelit, idrar yolları enfeksiyonları gibi hastalıklara yol açtığı bildirilmiştir (Bilgehan 2000).

***Bacillus subtilis***: Gram pozitifdir. Doğada çok yaygın olarak bulunur. Vejetatif şekilleri dayanıksız olup, sporları bazen kaynama derecelerinde birkaç saat dayanabilirler. Toz, toprak, su gibi temel alanlarda yerleştiklerinden besin maddelerine kolaylıkla bulaşır. Panoftalmi ve iridosiklit gibi göz enfeksiyonlarına neden olur. Bazen patojen hale geçerek besin zehirlenmelerine neden olur (Altuner 2004).

***Erwinia carotovora***: Bakteriyel bitki hastalık etmeni olup, birçok tek yıllık bitkiyi hastalandırmaktadır. Hastalık etmeni toprakta serbest halde ya da bitki kalıntılarında canlı bulunabilir. Enfeksiyon genellikle bitkilerde oluşan yaralardan olmaktadır. Bakteri bitkilerin iç dokularında çoğaldıktan sonra, sellülotik enzimler üreterek dokuların parçalanmasına ve çürümesine neden olmaktadır. Özellikle patatesten “dip kara çürüklüğü” ve “yumuşak çürüklüğü” hastalığına sebep olur (Altuner 2004).

***Escherichia coli***: Gram (-) bakteridir. Bağırsak florasının normal bir üyesi olan *E. coli* ile konak organizma arasında uyumlu bir ilişki olduğundan bakteri normalde hastalık

yapmaz. Bazı *E. coli* tipleri içinde buldukları hayvan için zararsız olmalarına rağmen insana geçtiklerinde hastalık yapabilirler. Bu hastalıklar arasında başlıca ishali hastalıklar olmakla beraber idrar yolu enfeksiyonları, menenjit, peritonit, mastit, sepsis ve gram (-) pnömoni de sayılabilir. *E. coli* 'nin, tavuk, dana ve başka hayvanlarda da hastalık yapabildiği gösterilmiştir (Bilgehan 2000).

***Candida albicans*:** Diploit, maya tipi bir mantar türü olup insanlarda oral ve vajinal fırsatçı enfeksiyonların etmenidir. İnsanlarda tükürükte, vajinada, dışkıda bulunan *C. albicans*'in çoğalarak yaptığı moniliasis hastalığı kalp, beyin ve kemikte çok tehlikelidir. Normalde vajinada semptom oluşturmazken aşırı antibiyotik kullanımı ile *Laktobacillus* tahrip olduğunda vajina asitliği azalır ve bu patojen çoğalarak vaginitis inflammasiyona sebep olur (Hasenekoğlu ve Yeşilyurt 2002).

### 1.6. Araştırmanın Amacı

Son yıllarda, enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılan antimikrobiyal ticari ilaçların düzensiz kullanımı sebebiyle patojenik mikroorganizmaların bu ilaçlara karşı direnç geliştirdikleri rapor edilmiştir (Service 1995). Ayrıca antibiyotikler aşırı hassasiyet, bağışıklık sisteminin zayıflaması ve alerjik reaksiyonlar gibi yan etkilere de sahiptir. Bu yüzden değişik kaynaklardan enfeksiyon hastalıklarının tedavisi için yeni alternatif antimikrobiyal ilaçların geliştirilmesine ihtiyaç vardır (Ahmad *et al.* 2001).

Bu çalışmanın amacı, Erzurum ilinin Uzundere ve İspir ilçe merkezleri ve çevrelerinde yetişen Moreceae familyasına ait *M. alba* (ak dut) meyvelerinden elde edilen doğal sirkenin antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerinin araştırılarak, çeşitli enfeksiyonlarda kullanılan antimikrobiyal ilaçlara karşı tamamen doğal olan ve ev ortamında da hazırlanabilen dut sirkesi ile aynı etkinin oluşturulması amaçlanmaktadır. Çalışmanın diğer amacı ise, antioksidan özelliklerini belirleyerek çeşitli yan etkilere sahip sentetik antioksidanlara karşı yeni ve doğal olan antioksidan geliştirmektir.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Yapılan araştırmalarda, Dünya'nın farklı bölgelerinde doğal olarak yetişen birçok bitki türüne ait ekstrelerin antimikrobiyal aktiviteleri tespit edilerek özet halinde aşağıda belirtilmiştir.

Akgül (1993) ve Baytop (1999) yapmış oldukları çalışmalarda nane yağındaki mentolün antiseptik özelliğine ilaveten bulantı kesici, gaz ve safra söktürücü, mide ağrılarını giderici, terletici, ağrı kesici, yatıştırıcı, nefes açıcı, hazmettirici, spazm çözücü, solunum antiseptiğı ve kaşıntı giderici etkilerini de bildirmektedirler.

Rabe and Staden (1997), Güney Afrika'da halk arasında, geleneksel tıpta kullanılan 21 bitki türünün metanol ve su ekstrelerinin antimikrobiyal aktivitelerini inceleyerek, bitki ekstrelerinin büyük çoğunluğunun Gram (+) bakterilere karşı daha etkili olduğunu, Gram(-) bakterilerde ise *K.pneumoniae*'ye karşı ekstrelerden hiçbirinin aktivite göstermediğini, sadece bitkilerin metanol ekstrelerinin *Escherichia coli*'nin büyümesini inhibe ettiğini bildirmişlerdir.

Tassou *et al.* (2000), *M. piperita*'dan elde edilen uçucu yağın *Salmonellaenteritidis* ve *Staphylococcus aureus* bakterileri üzerinde ki antimikrobiyal etkisini incelemiştir. Uçucu yağın belli oranlarda eklendikten sonra bakterilerde azalmalar görüldüğünü ve bu azalmaların sadece konsantrasyona değil sıcaklıkta bağlı olduğunu belirlemiştir.

Mukherjee *et al.* (2001), *Hypericum hookerianum* bitkisinin kloroform, aseton ve metanol ekstrelerinin antimikrobiyal aktivitelerini değerlendirdikleri çalışmada, bütün ekstrelerin gram (+) (*B. subtilis*, *B.megaterium*, *B. coagulans*, *S. aureus*) ve gram (-) bakterilere (*E. coli*, *Pseudomonas cepacia*) karşı antibakteriyel aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir.

Abascal and Yarnell (2002), bilinen tüm antibiyotiklere direnç geliştirmekte olan bakterilerde, ilaç dirençliliğinin arttığını ve bu sebeple ilaçlara alternatif olarak tıbbi bitkilerin kullanılmasını önermektedir. Ayrıca bazı geleneksel bitkilerin antimikrobiyaller olarak da kullanıldıklarını bildirmişlerdir.

Erdoğrul (2002), yaptığı çalışmada, *Artemisia absinthium*, *Fumeria officinalis*, *Urticadioica*, *Rosmarinus officinalis* bitkilerinin etil asetat, metanol, kloroform ve aseton ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitelerini incelemiş, *R. officinalis* bitkisinin aseton ekstresinin özellikle *Yersinia enterocolitica* bakterisi üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiğini fakat *F. officinalis*, *U. dioica* bitkilerinin ise test mikroorganizmalarını etkilemediğini bildirmiştir.

Kokoska *et al.* (2002) yaptıkları çalışmada, 16 Sibiryalı tıbbi bitkisinin etanol ekstraktlarının *B. cereus*, *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *C. albicans* mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal aktivitelerini inceleyerek 12 bitki ekstresinin aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Masika and Afolayan (2002), Güney Afrika'daki bazı bitkilerin su, metanol ve aseton ekstraktlarının *B. cereus*, *B. pumilus*, *B. subtilis*, *M. kristinae*, *S. aureus*, *E. cloacae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Serrata marcescens* bakterileri ve *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Mucar hiemalis*, *Penicillium notatum*, *Schizophyllum commune* fungusları üzerindeki antimikrobiyal aktivitelerini araştırdıkları bir çalışmada, ekstraktlarının büyük çoğunluğunun gram (-) bakterileri etkilemezken, gram (+) bakterilere karşı etkili olduğunu ve bütün ekstraktların funguslara karşı antifungal aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Pandit *et al.* (2002), *Listeria monocytogenes* bakterisine etki edebilecek baharat bitkilerini belirlemek için yaptıkları deneylerin sonucunda, en çok *R. officinalis* bitkisinden elde edilen uçucu yağın, özellikle içerdiği  $\alpha$ -pinen'in mikroorganizmanın gelişimini engellediğini bildirmişlerdir.

Prado *et al.* (2002), Kanarya Adalarındaki *Hypericum canariense*, *H. glandulosum* ve *H. grandifolium* türlerinin 12 mikroorganizma üzerindeki antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlar ve bitkilerin metanol ekstraktlarının gram (+) bakteriler (*B. cereus* var. *mycoides*, *M. luteus*, *S. aureus*, *S. epidermidis* ve *B. branchiseptica*) üzerinde inhibe edici etkisinin olduğunu fakat gram (-) (*E. coli*, *K. pneumonia*, *P. aeruginosa*) bakteriler ve funguslar (*A. flavus*, *A. fumigatus*, *C. cruzei*, *C. parasitosis*) üzerinde etkili olmadıklarını belirlemişlerdir.

Baydar vd (2003), 4 farklı bitkiden elde edilen uçucu yağların özellikle Türkiye’de ticari öneme sahip olan hazır yiyecek endüstrisindeki antibakteriyel etkilerini *Aeromonas hydrophila*, *B. amyloliquefaciens*, *B. brevis*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *Corynebacterium xerosis*, *Enterococcus faecalis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *L. monocytogenes*, *Micrococcus luteus*, *Mycobacterium smegmatis*, *Proteus vulgaris*, *S. aureus* ve *Yersinia enterocolitica* bakterileri üzerinde deneyerek, tüm bitkilerin 1/50, 1/100, 1/200 ve 1/300’lük konsantrasyonları ile yapılmış olan çalışmada en kuvvetli etkiyi *Origanum minutiflorum* bitkisi göstermiştir.

Nostro *et al.* (2003), *O. vulgare* bitkisinden hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağın GC/MS ile analiz etmiştir. Uçucu yağın başlıca bileşenleri olan karvakrol ve timol ile yapılan deney sonuçlarına göre *Staphylococcus* bakterilerine karşı en iyi minimum inhibisyon konsantrasyonunu (MIC/K) sırasıyla karvakrol (%0.015-0.03 v/v), timol (%0.03-0.06 v/v) ve uçucu yağın (%0.125-0.06 v/v) verdiğini bildirmişlerdir.

Şahin vd (2003), Doğu Anadolu Bölgesin’de geleneksel olarak halk arasında çeşitli hastalıkların tedavisi için kullanılan bir yıllık bitki olan *Satureja hortensis L.*’in metanol ve hekzan ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesini çalışmışlardır. Çalışmada 55 bakteri ve 5 fungus türü kullanılmıştır. Hekzan ekstraktı antifungal özellik göstermemiş olup sadece 3 *Bacillus* türü için antibakteriyel etki göstermiştir. Metanol ekstraktı hem antifungal hem de antibakteriyel etki göstermiştir.

Abutbul *et al.* (2004), *R. officinalis* bitkisinden elde edilen ekstraktların *Streptococcus iniae* bakterisine olan etkisini araştırmış ve tüm ekstraktların bakteri gelişimini engelleyici etki gösterdiğini belirleyerek, etil asetat içeren ekstraktın daha etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Chun *et al.* (2004), *O. vulgare* bitkisinin ekstraktlarının HPLC ile yapılan analizinde fenolik bileşenleri bakımından zengin olduğunu görmüş ve ülserle sebep olan *Helicobacter pylori* bakterisine karşı fenolik bileşen içeren ekstraktlar deneyerek bu bakteriye karşı antimikrobiyal etkisinin olduğunu bildirmiştir.

Menaker *et al.* (2004), 4 farklı bitkiden elde edilen ekstraktların *Bacillus mesentericus*, *Staphylococcus albus* ve *E. coli* bakterilerine olan etkilerini görmek için çeşitli deneyler yapmışlar özellikle adaçayı bitkisinden elde edilen ekstraktların içerdiği thujon ve linalolden dolayı en güçlü etkiyi özellikle Gram (+) olan *B. mesentericus* ve *S. albus* üzerinde gösterdiğini, ancak Gram (-) olan *E.coli* üzerinde etki göstermediğini bildirmiştir.

Benli ve Yiğit (2005), ülkemizde şifalı bitki olarak yaygın kullanımı olan *Thymus vulgaris* (Kekik) bitkisinin sekiz farklı çözücü ile hazırlanan ekstraktları kullanarak on dört mikroorganizma üzerinde antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır. Denenen sekiz farklı ekstraktın, mikroorganizmalardan sadece *B. subtilis* üzerinde antimikrobiyal aktivitesi gözlenmiştir. En iyi sonuç damlatma metodu ile alınmış ve en iyi çözücünde Metanol ile Su+%5'lik Tween 20 karışımının olduğu kanısına varılmıştır.

Çelikleş vd (2005), *R. officinalis* bitkisinden elde edilen uçucu yağın ve metanollü ekstraktların antimikrobiyal etkilerini *S. aureus*, *P. vulgaris*, *P.aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. feacalis*, *E. coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *B. subtilis* ve *Candida albicans* üzerinde araştırarak sonuçta bakterilerin uçucu yağa daha hassas tepki verdiklerini; metanollü ekstrakta ise kısmen hassasiyet gösterdiklerini bildirmiştir.

Kabouche *et al.* (2005) yaptıkları çalışmada, *Salvia jaminiana* bitkisinin aseton ekstrelerinden elde ettikleri bileşikleri antimikrobiyal yönden incelemişler ve *E. coli*,

*K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *S. hemolitica* üzerinde dikkate değer ölçüde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduklarını tespit etmişlerdir.

Kamatou *et al.* (2005) Güney Afrika'daki *S. stenophylla*, *S. repens* ve *S. runcinata* üzerinde yaptıkları bir araştırmada, bitkilerin metanol ekstrelerinin *S. aureus*, *S. epidermidis*, *B. cereus*, *B. subtilis* bakterilerin tümünde antibakteriyel aktiviteye sahip olduklarını bulmuşlardır.

Salehi *et al.* (2005), *Ziziphora clinopodioides subsp. rigida* türünün değişik ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi üzerine yaptıkları araştırmada, gram (+) (*B. subtilis*, *S. epidermidis*, *S. aureus*) ve gram (-) (*E. fecalis*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* ve *E. coli*) test mikroorganizmalardan en fazla *B. subtilis* ve *S. epidermidis* bakterileri üzerinde etkili olduklarını belirlemişlerdir.

Stojanović *et al.* (2005), *Achillea clavennae*, *A. holosericea*, *A. lingulata* ve *A. millefolium* ekstrelerinin (hekzan: eter: metanol: 1:1:1) *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. enteritidis*, *A. niger* ve *C. albicans* üzerinde olan antimikrobiyal aktivitelerini test ettiği bir çalışmada, 4 türün ekstrelerinin, bütün test mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir.

Sudhakar *et al.* (2006), *Euphorbia hirta*, *Caesalpinia pulcherrima* ve *Asystasiagangeticum* bitkilerinin antimikrobiyal aktivitesini değerlendirdiği çalışmada, bu bitkilerin etanol ekstrelerinin tümünün *E. coli*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *B. pumilus*, *S. aureus*, *S. fecalis*, *C. albicans*, *A. niger*, *R. oligosporus* üzerinde etkili olduğunu belirlemişlerdir.

Ünal (2006), Erzurum ve çevresinde yetişen 25 bitki türünün; kloroform, aseton, etanol ve saf su olmak üzere 4 farklı çözücü kullanılıp ekstrelerinin 10 bakteri (*Bacillus*



*megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Enterobacter cloacae*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *P. mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Salmonella enteritidis*) ve 1 fungus (*Candida albicans*) türü üzerinde antimikrobiyal aktivitelerini belirleme amacıyla yaptığı çalışmada; su ekstralarının 275 örnekten 10'unda (%13,3), etanol ekstralarının 275 örnekten 48'inde (%17,45), kloroform ekstralarının 275 örnekten 45'inde (%16,36), aseton ekstralarının 275 örnekten 53'ünde (%19,27) antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu belirlemiştir. Bitki ekstraları içerisinde etki spektrumu en geniş olan bitkinin *Ziziphora clinopodioides* olduğu tespit edilmiştir.

Özmen ve Alkın (2006), laboratuvar araştırmalarında balın *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Salmonella enterica*, *S. typhimurium* gibi yaralarda bulunan bakterilere karşı etkili olduğunu, doğal olarak bazı balların; patojen ve gıdaları bozucu mikroorganizmaların gelişimini yavaşlatıcı ve/veya durdurucu etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

Pişkin (2007), *Salvia officinalis*, *Rosmarinus officinalis*, *Origanum vulgare* ve *Mentha piperita* bitkilerinden elde edilen uçucu yağın antimikrobiyal etkilerini *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* üzerinde deneyerek hepsinde olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Tüm bakteriler arasında, uçucu yağlara karşı en hassas olan ve en çok etkilenen bakteri *E. coli*, uçucu yağlara karşı daha dirençli olan bakteri ise *Salmonella typhimurium* olmuştur.

Yiğit vd (2009), Erzincan (Kemah) bölgesinden toplanan Ceviz meyvesinin (*Juglans regia L.*) yeşil kabuğu ve yaprak aksamalarının su ve metanol ekstralarının *Candida* türleri (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. kefyr*, *C. guilliermondii*, *Geotrichum candidum*); gram (-) bakteriler (*Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*) ve gram (+) bakteriler (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*) üzerindeki antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlardır. Deneyler sonucunda ceviz yeşil kabuk ve yapraklarına ait su ve metanol ekstralarının *S.aureus*, *S.epidermidis*, *P.aeruginosa*, *C.albicans*, *C.*

*glabrata*, *C.tropicalis* ve *C. kefir* suşlarına karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir.

Lacombe *et al.* (2011), *Vaccinium angustifolium*'un *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, ve *Lactobacillus rhamnosus* üzerinde hangi oranlarda antimikrobiyal aktivite gösterdiği ve hangi mikroorganizmaların daha çok etkilendiğini araştırmışlardır. Sonuçta en fazla etkilenen *Listeria monocytogenes*, sonrasında *E. coli* ve *S. typhimurium* olmuştur. En az etkilenen mikroorganizma ise *Lactobacillus rhamnosus* olmuştur.

Ünlüer (2011), yaptığı araştırmada *M. alba* ve *M. nigra* yapraklarının, farklı çözücülerden elde edilen özütlerinin çoğunun antimikrobiyal aktiviteye sahip olmadığı metanol özütlerinin ise zayıf aktivite gösterdiğini saptamıştır. En yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip özüt, metanol özütleri olarak belirlenmiştir.

### **3. MATERYAL ve YÖNTEM**

#### **3.1. Materyal**

##### **3.1.1. Kullanılan besiyerleri ve kimyasal maddeler**

Çalışmada kullanılan besiyerleri, kimyasal maddeler ve diğer bazı malzemeler Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünden temin edilmiştir. Mikroorganizmaların üretilmesi için Nutrient Agar (NA, Oxoid), Nutrient Broth (NB, Oxoid), Potato Dextrose Agar (PDA, Oxoid), Potato Dextrose Broth (PDB, Oxoid), Tryptic Soy Agar (TSA, Oxoid), Tryptic Soy Broth (TSB, Oxoid) kullanılmıştır. Fizyolojik su hazırlanması için NaCl (Fluka) ve stok kültür hazırlamak için gliserol kullanılmıştır. Antioksidan çalışma için DPPH, etanol, Neokuprin, linoleik asit, HCl Kimya Bölümünden elde edilmiştir.

##### **3.1.2. Kullanılan alet ve cihazlar**

Çalışmada Atatürk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü ve Kimya Bölümünde bulunan aşağıdaki alet ve cihazlar kullanılmıştır.

Distile su üretme cihazı: Nüve NS 112

Etüv: Memmert INBE 4101583P20199

Hassas Terazisi: Denver Instrument

Magnetik Karıştırıcı: Chiltern hotplate magnetic stirrer HS31

Otoklav: Hiclave HV-50 L

UV-Vis Spektrofotometre: Shimadzu UV mini-1240, Jasco V-530

UV-Spektrofotometre kuveti: 1 cm'lik Quartz Kuvet

Vorteks : Fisons, Whirlimixer

Santrifüj: Universal Hettich 320R

Çalkalayıcı: Zhcheng ZHVY-200B incubator shaker

pH metre: Orion 3 star pH portable thermo scientific

### **3.1.3. Bitkisel materyal**

Bu araştırmada Erzurum Uzundere ve İspir ilçelerinde yetişen *Morus alba* (ak dut) meyvelerinden ev ortamında hazırlanan dut sirkesi kullanılmıştır. Ak dut meyveleri geleneksel olarak baş dönmesi, kulak çınlaması, uykusuzluk, böbrek iltihabı, hipertansiyon, sinir zayıflığı ve saçların erken beyazlaması tedavilerinde, gövdesi romatizma ağrıları ve spazm tedavisinde kullanılır. Yaprakların içerdiği antioksidatif maddeler lipid peroksidasyonunu önlediği için kardiyovasküler sistemin korunmasında çok önemlidir. Dut yaprakları içinde bulunan DNJ (deoxynojirimycin) adlı bileşiğin, glikozidaz, skraz ve maltaz gibi enzimlerin aktivitelerini düzenlediği anlaşılmıştır. Bu sebeple dut ağacının kök kabukları, yaprak ve meyveleri şeker hastalığı tedavisinde kullanılmaktadır (Bremness 1999).

Dut sirkesi ise bazı diş hekimlerince antiseptik olarak kullanılmaktadır. Halk arasında gargara yapılarak boğaz ağrılarında da kullanılmaktadır.

### **3.1.4. Test mikroorganizmaları**

Bu araştırmada 8 bakteri [Gram (+) ve Gram (-)] ve 1 fungus türü olmak üzere toplam 8 mikroorganizma kullanılmıştır. Kullanılan mikroorganizmalar Atatürk niversitesi ve Erzurum Halk Sağlığı Lab.'dan temin edilmiştir. Kullanılan mikroorganizmalar ve kodları izelge 3.1'de verilmiştir. Temin edilen mikroorganizmalar stok kültüre alınarak muhafaza edilmiştir.

**Çizelge 3.1.** Kullanılan mikroorganizmalar ve kodları

Mikroorganizma	Mikroorganizma kodu
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATTC 25923-12
<i>Streptococcus pyogenes</i> ;	ATCC 19615
<i>Klebsiella oxytoca</i>	ATCC 43086
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 14579
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633
<i>Erwinia carotovora</i>	GSBP1405
<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231

### 3.2. Yöntem

#### 3.2.1. Dut meyvelerinin toplanması ve sirke yapımı

Erzurum Uzundere ve İspir ilçelerinden toplanan dut meyveleri temizlendikten sonra belli bir süre kaynatılır ve süzülür. Bir kaba boşaltılır ve ağzı hava alacak şekilde kapatılır. Karışım sirkeleşinceye kadar bekletilir (yavaşı yöntem). Asetik asit bakterilerinin sıvının yüzeyinde oluşturdukları zarın dibe çökmesi ve pH'sının 3,83 civarında olması da sirkeleşmenin bittiğine dair fikir verebilir. Bu yöntemle sirke üretimi 6-8 hafta içinde tamamlanmaktadır (Özkaya vd 1991; Aktan ve Kalkan 1998; Plessi 2003).

#### 3.2.2. Antimikrobiyal aktivite testleri

Sirke ve dilusyonlarının antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek için Kirby ve Bauer'in disk diffüzyon duyarlılık testi (DDDT) kullanılmıştır (Boonkaew *et al.* 2003). Önceden hazırlanan dut sirkesi membran filtreden (0,2 µm) geçirilip steril edilerek 400 µl'lik miktarlar 6 mm çaplı boş steril disklere (OXOID susceptibility Blank disk) (1mg/disk) emdirilmiştir. Diskler 37°C'de kurutulmuş ve kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak OFX=Ofloxacin (10Tg/disk) ve SCF=sulbactam (30Tg) + cefoperazona (75Tg) (105

Tg/disk) standart antibiyotik diskleri kullanılmıştır. Sadece *Candida albicans* için izokonazol nitrat kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak da saf su kullanılmıştır. Mikroorganizmaların katı besiyerlerinde (plak kültür) üretilmiş, 18-24 saatlik taze kültürlerinden öze ile alınan koloniler fizyolojik su içerisinde süspansiyon edilerek bakteriler için NA ve TSA, funguslar için PDA içeren petrilere drigalski özesi kullanılarak ekim yapılmıştır. Daha sonra diskler petrilere uygun şekilde yerleştirilmiştir. Mikroorganizmalar 37°C'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda oluşan inhibisyon zonlarının çapları milimetrik cetvelle ölçülmüştür.

İkinci bir yöntem olarak da sirkenin sıvı kültür ortamında ki antimikrobiyal aktivitesini belirlemek için; mikroorganizmaların 18-24 saatlik taze kültürlerinden özeye alınan koloniler, içerisinde 10 ml NB, TSB ve PDB bulunan erlenlerin üzerine belirli oranlarda sirke konulup süspansiyon edilmiştir (Oranlar Çizelge 3.2'de verilmiştir). Ayrıca besiyerlerinin pH'ları 6N HCl ve 6N NaOH solüsyonları kullanılarak 7,2'ye ayarlanmıştır. Mikroorganizmalar 37°C'de 24 saat süreyle çalkalayıcı inkübatöre bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda optik yoğunluk, 600 nm'de spektrofotometrede ölçülerek bulunmuştur. Koloni sayımı için mikroorganizmaların inkübasyonu yapılan erlenlerden 1'er ml alınarak fizyolojik su bulunan tüplerde  $10^{-7}$ 'e kadar dilüe edilmiştir. Uygun besiyerlerine drigalski özesi kullanılarak ekim yapılmıştır. Mikroorganizmalar 37°C'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon sonunda oluşan koloniler seyreltme faktöründe dikkate alınarak sayılmış ve spektrofotometrede ölçülen optik yoğunluğa denk gelen koloni sayısı hesaplanmıştır (cfu/ml olarak). Çalışma üç paralel yürütülmüş ve sonuçların aritmetik ortalamaları alınmıştır.

**Çizelge 3.2.** Sıvı besiyerinde kullanılan oranlar

	Uygun besiyeri (NB,TSB,PDB)	sirke	Saf su
1.ortam	10ml	-	10ml
2.ortam	10ml	1ml	9ml
3.ortam	10ml	2ml	8ml
4.ortam	10ml	3ml	7ml
5.ortam	10ml	4ml	6ml
6.ortam	10ml	5ml	5ml
7.ortam	10ml	6ml	4ml
8.ortam	10ml	7ml	3ml
9.ortam	10ml	8ml	2ml
10.ortam	10ml	9ml	1ml
11.ortam	10ml	10ml	-

### 3.2.3. Antioksidan özelliklerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltiler

#### Total antioksidan aktivite tayininde kullanılan çözeltiler

- 1. 0.04M pH:7,4 fosfat tamponu hazırlanması:**0,48 g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  alındı ve 80 ml destile suda çözüldü, pH metre ile PH'sı 7,4'e ayarlandı ve toplam hacim 100 ml'ye destile su ile tamamlandı.
- 2. Linoleik asit emülsiyonunun hazırlanması:**0,017M linoleik asit emülsiyonu hazırlamak için 265  $\mu\text{l}$  linoleik asit 50 ml pH:7,4 fosfat tamponuna ilave edildi. Emülgatör olarak Tween-20 ilave edilerek karışım homojenize edildi.
- 3. %3,5'luk HCl çözeltisinin hazırlanması:** %37'lik HCl'den 9,46 ml alınarak 100 ml'ye destile suyla tamamlandı.
- 4. 20mM  $\text{FeCl}_2$  çözeltisi hazırlanması:** 281 mg  $\text{FeCl}_2 \cdot 3/4\text{H}_2\text{O}$ , %3,5'luk HCl ile çözümlenerek hacim aynı çözeltiyle 100 ml'ye tamamlandı.
- 5. %30'luk  $\text{NH}_4\text{SCN}$  çözeltisinin hazırlanması:** 15 gr  $\text{NH}_4\text{SCN}$  destile suda çözüldü, hacmi 50 ml'ye tamamlandı.

### **Kuprak metoduna göre indirgeme kapasitesi tayini ile ilgili çözeltiler**

- 1. 0,01 M'luk  $\text{CuCl}_2$  çözeltilisinin hazırlanması:** 47 mg  $\text{CuCl}_2$  alındı ve 50 ml destile suda çözüldü.
- 2.  $7,5 \times 10^{-3}$  M'luk etanolik neokuprin çözeltilisinin hazırlanması:** 78 mg Neokuprin alındı ve 50 ml etanolde çözüldü.
- 3. 1 M'luk  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  tamponunun hazırlanması (pH:6,5):** 7,7g  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  alındı ve 80 ml saf suda çözüldü, pH-metre ile pH'sı 6,5'e ayarlandı ve toplam hacim 100 ml'ye saf su ile tamamlandı.

### **$10^{-3}$ M'luk DPPH çözeltilisinin hazırlanması**

39 mg DPPH· 100 ml etanolde tamamen çözününceye kadar bir gece boyunca manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı.

### **3.2.4. Total antioksidan aktivitesi**

Dut sirkesinin total antioksidan aktivitesi tiyosiyanat metoduna göre belirlendi (Yen and Chen 1995). Bu amaçla daha önce hazırlanan dut sirkesinin stok çözeltisi kullanıldı. İstenilen miktarlara karşılık gelen hacimde stok çözelti vezin kaplarına otomatik pipetlerle aktarıldı ve toplam hacim tampon çözelti (0,01 M'luk pH:7,4) ile 2,5 ml'ye tamamlandı. Daha sonra her bir vezin kabına 2,5 ml linoleik asit emülsiyonu ilave edildi. Kontrol olarak da 2,5 ml tampon çözelti ve 2,5 ml linoleik asit emülsiyonu kullanıldı.

İnkübasyon  $37^\circ\text{C}$ 'de ve karanlıkta gerçekleştirildi. Her 12 saatte bir vezin kaplarından 100'er  $\mu\text{l}$  alınarak 4,7 ml etanol bulunan deney tüplerine konuldu ve sırasıyla 100  $\mu\text{l}$   $\text{Fe}^{2+}$  çözeltisi ve 100  $\mu\text{l}$   $\text{SCN}^-$  çözeltisi ilave edildi. Kör numune ise 4,8 ml etanole 100  $\mu\text{l}$   $\text{Fe}^{2+}$  çözeltisi ve 100  $\mu\text{l}$   $\text{NH}_4\text{SCN}$  çözeltisi ilave edilerek hazırlandı. Numunelerin 500 nm'deki absorbanları köre karşı okundu. İnkübasyon işlemine kontrol maksimum absorbansa ulaştığı noktada sonra son verildi.



### 3.2.5. Cu<sup>2+</sup> - Cu<sup>+</sup> indirgeme kapasitesi (Kuprak metodu)

Dut sirkesinin Cu<sup>2+</sup> indirgeme aktiviteleri bakır iyonları indirgeme metodunun (Apak *etal.* 2006) hafif bir modifikasyonu ile yapıldı (Ak and Gülçin 2008). Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan dut sirkesi tüplere sırasıyla 0,25 ml CuCl<sub>2</sub> çözeltisi (0,01 M), 0,25 ml etanolik neokuprin çözeltisi (7,5x10<sup>-3</sup>M) ve 0,25 ml CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub> tampon çözeltisi (1 M) eklendi. Yarım saat sonra 450 nm'de köre karşı absorbanans değerleri ölçüldü. Kör olarak distile su kullanıldı.

### 3.2.6. 1,1-Difenil 2-pikril hidrazil (DPPH) serbest radikalleri giderme aktivitesi

DPPH serbest radikal giderme aktivitesi Blois metoduna göre yapıldı (1958). Serbest radikal olarak DPPH'nin 1 mM'lık çözeltisi kullanıldı. Numune olarak daha önce hazırlanan 1 mg/ml konsantrasyonunda ki stok çözeltisi kullanıldı. Deney tüplerine sırasıyla 10, 20 ve 30 µg/µl konsantrasyonlarında çözelti oluşturacak şekilde stok çözeltiler aktarıldı ve toplam hacimleri 3 ml olacak şekilde etanol ile tamamlandı. Daha sonra her bir numune tüpüne stok DPPH' çözeltisinden 1 ml ilave edildi. Yarım saat oda sıcaklığı ve karanlıkta inkübe edildikten sonra etanoldan oluşan köre karşı 517 nm'de absorbanansları ölçüldü. Kontrol olarak, 3 ml etanol ve 1 ml DPPH' çözeltisi kullanıldı. Azalan absorbanans geriye kalan DPPH' çözeltisi miktarını yani serbest radikal giderme aktivitesini verdi.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1. Dut Sirkesinin Antimikrobiyal Aktivitesi

Metod kısmında verilen yöntemle elde edilen dut sirkesinin 8 bakteri ve 1 fungus türü üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir. Sirkenin antimikrobiyal aktivitesini belirlemek için kullanılan Kirby ve Bauer'in disk diffüzyon duyarlılık testi (DDDT) sonuçlarına göre oluşan zon çapları Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

Test mikroorganizmalarının tümünün dut sirkesine karşı duyarlı olduğu belirlenmiştir. Disk diffüzyon duyarlılık testi yönteminde duyarlı olanlar sırasıyla *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella oxytoca*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Erwinia carotovora*, *Candida albicans* ve *Escherichia coli* olduğu belirlenmiştir. Sadece saf suyun emdirilmesiyle hazırlanan negatif kontrollerin ise, test mikroorganizmalarının hiçbirinde inhibisyon zonu oluşturmadığı görülmüştür.

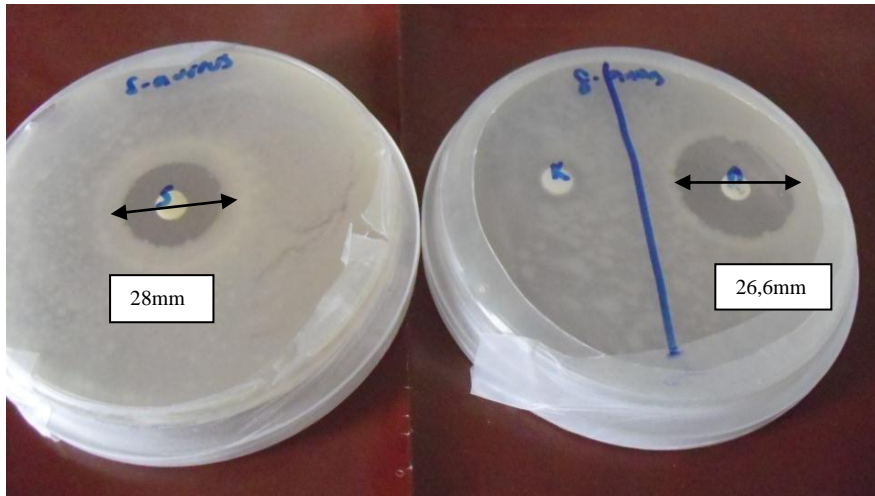
Pozitif kontrol olarak kullandığımız ofloxacin ve sulbactam + cefoperazona'nın tüm bakterilere karşı etkili olduğu görülmüştür. Dut sirkesi tüm mikroorganizmalar üzerinde pozitif kontrol olarak kullandığımız antibiyotiklere yakın zonlar oluşturmuştur. Hatta *Staphylococcus aureus* da en iyi etkiyi göstermiş olup pozitif kontrolden daha geniş zon oluşturmuştur. (Dut sirkesi; 28 mm, pozitif kontrol; 26,6 mm )

Dut sirkesi hem gram (-) hem de gram (+) bakterilerde yaklaşık olarak aynı etkiyi göstermiştir.

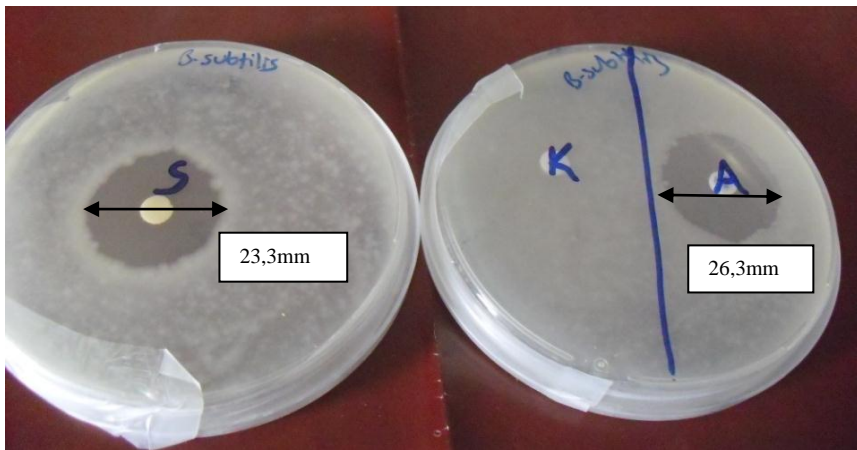
**Çizelge 4.1.** Dut sirkesinin test mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi

Test mikroorganizmaları	İnhibisyon Zonunun Çapı (mm)		
	Dut sirkesi	Negatif kontrol	Pozitif kontrol
<i>Staphylococcus aureus</i>	28mm	-	26,6mm
<i>Streptococcus pyogenes</i>	20,6mm	-	27,3mm
<i>Klebsiella oxytoca</i>	24,6mm	-	29,6mm
<i>Enterococcus faecalis</i>	19,6mm	-	22,6mm
<i>Bacillus cereus</i>	15,3mm	-	20mm
<i>Bacillus subtilis</i>	23,3mm	-	26,3mm
<i>Erwinia carotovora</i>	13mm	-	32,6mm
<i>Escherichia coli</i>	5,3mm	-	26mm
<i>Candida albicans</i>	9,6mm	-	33mm

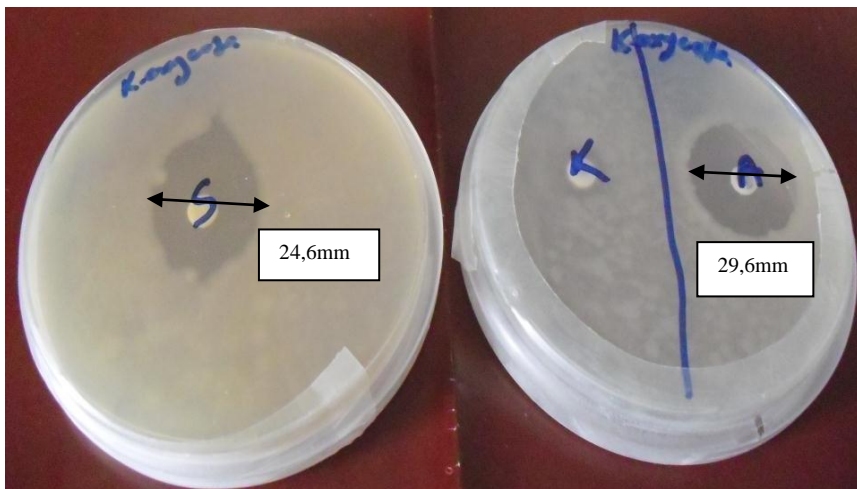
OFX=Ofloxacin (10Tg/disk) pozitif kontrol olarak standart antibiyotik diskleri kullanılmıştır (Oxoid). Sulbactam (30Tg) + cefoperazona *E. coli* için kullanılmıştır.



*S. aureus*

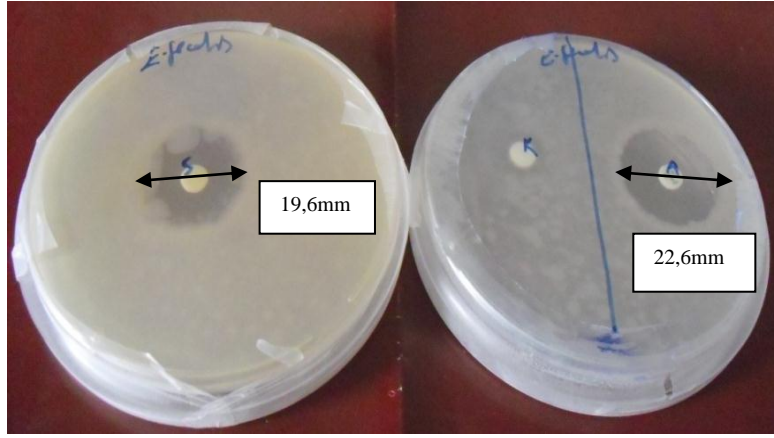
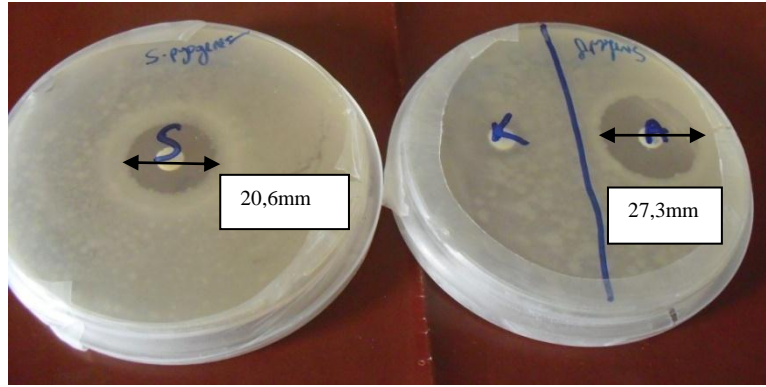
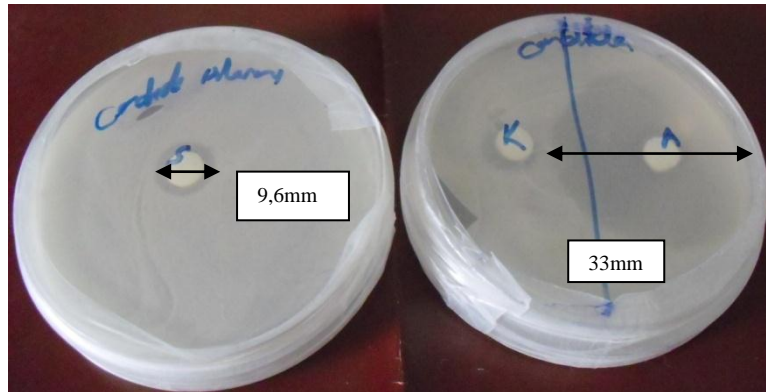


*B. subtilis*



*K. oxytoca*

Şekil 4.1. (devam)

*E. faecalis**S. pyogenes**C. albicans*

**Şekil 4.1.** Dut sirkesinin test mikroorganizmalar üzerinde oluşturdukları inhibisyon zonları

A: Pozitif kontrol ( antibiyotik disk ), K: Negatif kontrol ( saf su ), S: Sirke emdirilmiş disk

İnkübasyon sonunda oluşan koloniler seyreltme faktörü de dikkate alınarak sayılmış ve spektrofotometrede ölçülen optik yoğunluğa denk gelen koloni sayısı hesaplanmıştır (cfu/ml olarak).

**Çizelge 4.2.** *S. aureus*'un spektrofotometrede ölçülen optik yoğunluğa denk gelen koloni sayısı

	Üretim ortamı	Koloni sayısı (cfu/ml)
1	10ml NB + 10ml saf su	$380 \cdot 10^7$
2	10ml NB + 1ml sirke + 9ml saf su	$262 \cdot 10^7$
3	10ml NB + 2ml sirke + 8ml saf su	$149 \cdot 10^7$
4	10ml NB + 3ml sirke + 7ml saf su	$36 \cdot 10^7$
5	10ml NB + 4ml sirke + 6ml saf su	$190 \cdot 10^6$
6	10ml NB + 5ml sirke + 5ml saf su	$47 \cdot 10^6$
7	10ml NB + 6ml sirke + 4ml saf su	$187 \cdot 10^5$
8	10ml NB + 7ml sirke + 3ml saf su	$40 \cdot 10^5$
9	10ml NB + 8ml sirke + 2ml saf su	$156 \cdot 10^4$
10	10ml NB + 9ml sirke + 1ml saf su	$41 \cdot 10^4$
11	10ml NB + 10ml sirke	$19 \cdot 10^3$

**Çizelge 4.3.** *S.pyogenes*'in spektrofotometrede ölçülen optik yoğunluğa denk gelen koloni sayısı

	Üretim ortamı	Koloni sayısı (cfu/ml)
1	10ml NB + 10ml saf su	$392 \cdot 10^7$
2	10ml NB + 1ml sirke + 9ml saf su	$271 \cdot 10^7$
3	10ml NB + 2ml sirke + 8ml saf su	$150 \cdot 10^7$
4	10ml NB + 3ml sirke + 7ml saf su	$41 \cdot 10^7$
5	10ml NB + 4ml sirke + 6ml saf su	$195 \cdot 10^6$
6	10ml NB + 5ml sirke + 5ml saf su	$49 \cdot 10^6$
7	10ml NB + 6ml sirke + 4ml saf su	$53 \cdot 10^5$
8	10ml NB + 7ml sirke + 3ml saf su	$190 \cdot 10^5$
9	10ml NB + 8ml sirke + 2ml saf su	$162 \cdot 10^4$
10	10ml NB + 9ml sirke + 1ml saf su	$57 \cdot 10^4$
11	10ml NB + 10ml sirke	$32 \cdot 10^3$

**Çizelge 4.4.** *K. oxytoca*'nın spektrofotometrede ölçülen optik yoğunluğa denk gelen koloni sayısı

	Üretim ortamı	Koloni sayısı (cfu/ml)
1	10ml TSB + 10ml saf su	$378 \cdot 10^7$
2	10ml TSB + 1ml sirke + 9ml saf su	$270 \cdot 10^7$
3	10ml TSB + 2ml sirke + 8ml saf su	$153 \cdot 10^7$
4	10ml TSB + 3ml sirke + 7ml saf su	$44 \cdot 10^7$
5	10ml TSB + 4ml sirke + 6ml saf su	$193 \cdot 10^6$
6	10ml TSB + 5ml sirke + 5ml saf su	$51 \cdot 10^6$
7	10ml TSB + 6ml sirke + 4ml saf su	$122 \cdot 10^5$
8	10ml TSB + 7ml sirke + 3ml saf su	$48 \cdot 10^5$
9	10ml TSB + 8ml sirke + 2ml saf su	$162 \cdot 10^4$
10	10ml TSB + 9ml sirke + 1ml saf su	$64 \cdot 10^4$
11	10ml TSB + 10ml sirke	$21 \cdot 10^3$

**Çizelge 4.5.** *E. faecalis*'in spektrofotometrede ölçülen optik yoğunluğa denk gelen koloni sayısı

	Üretim ortamı	Koloni sayısı (cfu/ml)
1	10ml TSB + 10ml saf su	$370 \cdot 10^7$
2	10ml TSB + 1ml sirke + 9ml saf su	$268 \cdot 10^7$
3	10ml TSB + 2ml sirke + 8ml saf su	$163 \cdot 10^7$
4	10ml TSB + 3ml sirke + 7ml saf su	$34 \cdot 10^7$
5	10ml TSB + 4ml sirke + 6ml saf su	$195 \cdot 10^6$
6	10ml TSB + 5ml sirke + 5ml saf su	$57 \cdot 10^6$
7	10ml TSB + 6ml sirke + 4ml saf su	$172 \cdot 10^5$
8	10ml TSB + 7ml sirke + 3ml saf su	$23 \cdot 10^5$
9	10ml TSB + 8ml sirke + 2ml saf su	$112 \cdot 10^4$
10	10ml TSB + 9ml sirke + 1ml saf su	$35 \cdot 10^4$
11	10ml TSB + 10ml sirke	$26 \cdot 10^3$

**Çizelge 4.6.** *B.subtilis*'in spektrofotometrede ölçülen optik yoğunluğa denk gelen koloni sayısı

	Üretim ortamı	Koloni sayısı (cfu/ml)
1	10ml NB + 10ml saf su	$354 \cdot 10^7$
2	10ml NB + 1ml sirke + 9ml saf su	$262 \cdot 10^7$
3	10ml NB + 2ml sirke + 8ml saf su	$198 \cdot 10^7$
4	10ml NB + 3ml sirke + 7ml saf su	$32 \cdot 10^7$
5	10ml NB + 4ml sirke + 6ml saf su	$135 \cdot 10^6$
6	10ml NB + 5ml sirke +5 saf su	$51 \cdot 10^6$
7	10ml NB + 6ml sirke + 4ml saf su	$170 \cdot 10^5$
8	10ml NB + 7ml sirke + 3ml saf su	$42 \cdot 10^5$
9	10ml NB + 8ml sirke + 2ml saf su	$133 \cdot 10^4$
10	10ml NB + 9ml sirke + 1ml saf su	$46 \cdot 10^4$
11	10ml NB + 10ml sirke	$34 \cdot 10^3$

**Çizelge 4.7.** *B.cereus*'un spektrofotometrede ölçülen optik yoğunluğa denk gelen koloni sayısı

	Üretim ortamı	Koloni sayısı (cfu/ml)
1	10ml NB + 10ml saf su	$362 \cdot 10^7$
2	10ml NB + 1ml sirke + 9ml saf su	$201 \cdot 10^7$
3	10ml NB + 2ml sirke + 8ml saf su	$186 \cdot 10^7$
4	10ml NB + 3ml sirke + 7ml saf su	$49 \cdot 10^7$
5	10ml NB + 4ml sirke + 6ml saf su	$137 \cdot 10^6$
6	10ml NB + 5ml sirke +5 saf su	$47 \cdot 10^6$
7	10ml NB + 6ml sirke + 4ml saf su	$190 \cdot 10^5$
8	10ml NB + 7ml sirke + 3ml saf su	$45 \cdot 10^5$
9	10ml NB + 8ml sirke + 2ml saf su	$134 \cdot 10^4$
10	10ml NB + 9ml sirke + 1ml saf su	$53 \cdot 10^4$
11	10ml NB + 10ml sirke	$38 \cdot 10^3$



**Çizelge 4.8.** *E.carotovora*'nın spektrofotometrede ölçülen optik yoğunluğa denk gelen koloni sayısı

	Üretim ortamı	Koloni sayısı (cfu/ml)
1	10ml NB + 10ml saf su	$370 \cdot 10^7$
2	10ml NB + 1ml sirke + 9ml saf su	$267 \cdot 10^7$
3	10ml NB + 2ml sirke + 8ml saf su	$178 \cdot 10^7$
4	10ml NB + 3ml sirke + 7ml saf su	$32 \cdot 10^7$
5	10ml NB + 4ml sirke + 6ml saf su	$123 \cdot 10^6$
6	10ml NB + 5ml sirke + 5 saf su	$35 \cdot 10^6$
7	10ml NB + 6ml sirke + 4ml saf su	$182 \cdot 10^5$
8	10ml NB + 7ml sirke + 3ml saf su	$28 \cdot 10^5$
9	10ml NB + 8ml sirke + 2ml saf su	$130 \cdot 10^4$
10	10ml NB + 9ml sirke + 1ml saf su	$37 \cdot 10^4$
11	10ml NB + 10ml sirke	$24 \cdot 10^3$

**Çizelge 4.9.** *C.albicans*'ın spektrofotometrede ölçülen optik yoğunluğa denk gelen koloni sayısı

	Üretim ortamı	Koloni sayısı (cfu/ml)
1	10ml PDB + 10ml saf su	$387 \cdot 10^7$
2	10ml PDB + 1ml sirke + 9ml saf su	$280 \cdot 10^7$
3	10ml PDB + 2ml sirke + 8ml saf su	$205 \cdot 10^7$
4	10ml PDB + 3ml sirke + 7ml saf su	$47 \cdot 10^7$
5	10ml PDB + 4ml sirke + 6ml saf su	$138 \cdot 10^6$
6	10ml PDB + 5ml sirke + 5 saf su	$43 \cdot 10^6$
7	10ml PDB + 6ml sirke + 4ml saf su	$189 \cdot 10^5$
8	10ml PDB + 7ml sirke + 3ml saf su	$32 \cdot 10^5$
9	10ml PDB + 8ml sirke + 2ml saf su	$147 \cdot 10^4$
10	10ml PDB + 9ml sirke + 1ml saf su	$58 \cdot 10^4$
11	10ml PDB + 10ml sirke	$46 \cdot 10^3$

**Çizelge 4.10.** *E. coli*'nin spektrofotometrede ölçülen optik yoğunluğa denk gelen koloni sayısı

	Üretim ortamı	Koloni sayısı (cfu/ml)
1	10ml NB + 10ml saf su	$391 \cdot 10^7$
2	10ml NB + 1ml sirke + 9ml saf su	$280 \cdot 10^7$
3	10ml NB + 2ml sirke + 8ml saf su	$115 \cdot 10^7$
4	10ml NB + 3ml sirke + 7ml saf su	$82 \cdot 10^7$
5	10ml NB + 4ml sirke + 6ml saf su	$340 \cdot 10^6$
6	10ml NB + 5ml sirke + 5ml saf su	$261 \cdot 10^6$
7	10ml NB + 6ml sirke + 4ml saf su	$185 \cdot 10^5$
8	10ml NB + 7ml sirke + 3ml saf su	$71 \cdot 10^5$
9	10ml NB + 8ml sirke + 2ml saf su	$37 \cdot 10^5$
10	10ml NB + 9ml sirke + 1ml saf su	$283 \cdot 10^4$
11	10ml NB + 10ml sirke	$108 \cdot 10^4$

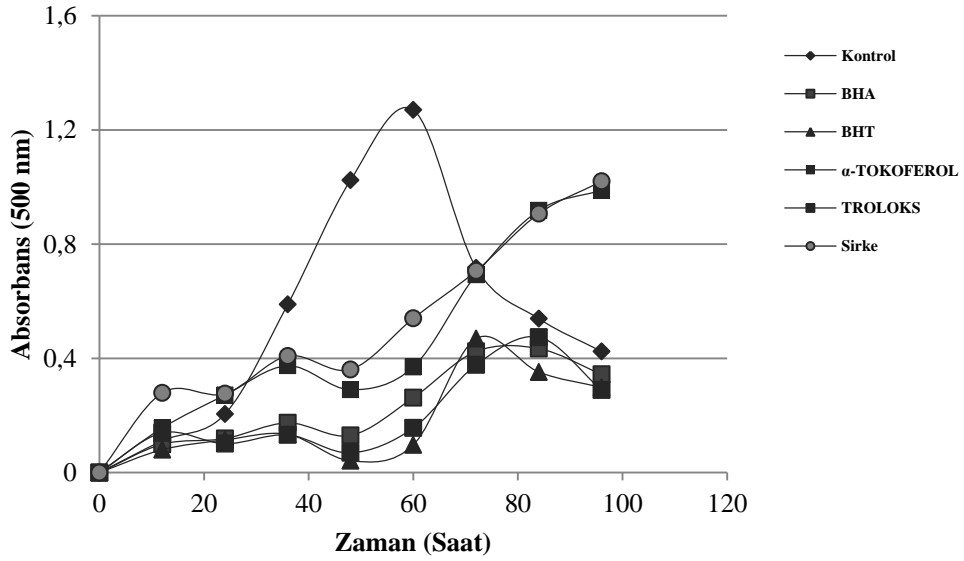
#### 4.2. Dut Sirkesinin Total Antioksidan Aktivite Bulguları

Sirkenin total antioksidan aktivitesi “Tiosiyanat Metoduna” göre belirlendi. Bu metotta linoleik asit emülsiyonunun oto-oksidasyonu sonucu oluşan peroksitler ferröz iyonlarını ( $Fe^{2+}$ ) ferrik iyonlarına ( $Fe^{3+}$ ) yükseltir. Daha sonra yükseltgenen ferrik iyonları ( $Fe^{3+}$ ) tiosiyanat ( $SCN^-$ ) ile  $Fe(SCN)^{2+}$  kompleksi oluşturur. Oluşan bu kompleks ise spektrofotometrik olarak 500 nm’de maksimum absorbanans değerini gösterir. Gözlemlenen yüksek absorbanans değeri, peroksidasyon sonucu meydana gelen peroksit miktarının fazlalığını gösterir. Total antioksidan aktivite, Sirkenin 30 µg/ml konsantrasyonunda ki emülsiyonunun etanoldeki çözeltisinin 500 nm’deki absorbanansı ölçülerek belirlenmiştir (Şekil 4.2).

Sirkenin linoleik asit emülsiyonunun peroksidasyonu inhibe etme miktarı yüzde olarak aşağıda verilen eşitlikten hesaplandı.

$$\text{Lipit peroksidasyonunun inhibisyonu (\%)} = \left( 1 - \frac{\lambda_{500-N}}{\lambda_{500-K}} \right) \times 100$$

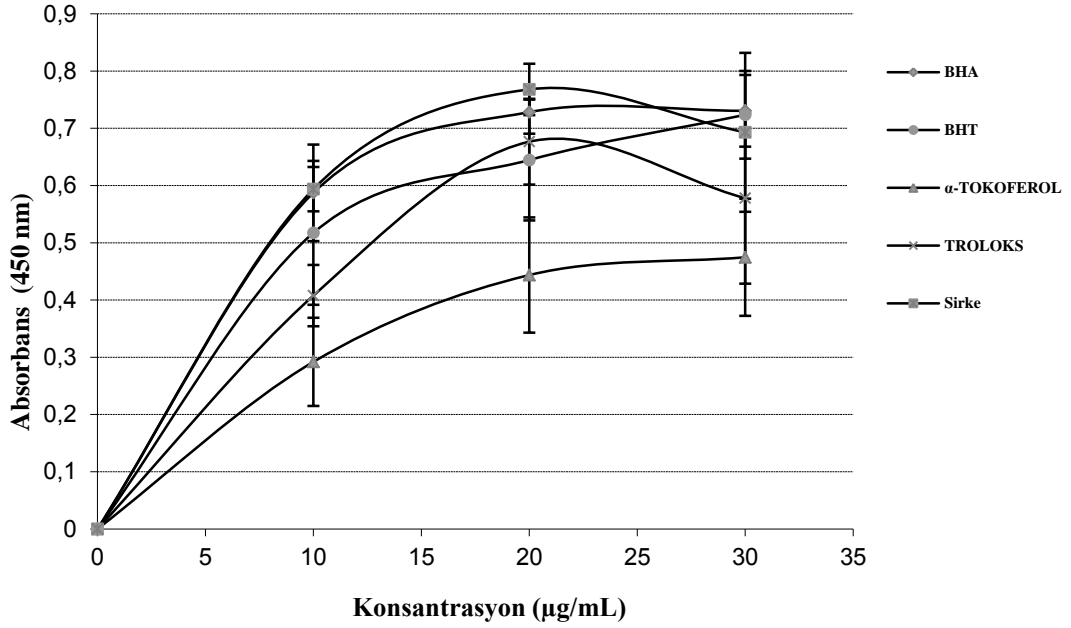
Burada  $\lambda_{500-N}$ , numune veya standart antioksidanların linoleik asit emülsiyonunun peroksidasyonu için bulunan absorbands değerini,  $\lambda_{500-K}$  ise linoleik asit emülsiyonunun peroksidasyonu için bulunan absorbands değerini gösterir. Pozitif kontrol olarak BHA, BHT,  $\alpha$ -tokoferol ve troloks standart antioksidan bileşikleri kullanıldı (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Sirkenin (30  $\mu\text{g/ml}$ ) total antioksidan aktivitesinin aynı konsantrasyonda ki standart antioksidan olan BHA, BHT,  $\alpha$ -tokoferol ve troloks ile karşılaştırması

#### 4.3. $\text{Cu}^{2+}$ - $\text{Cu}^+$ İndirgeme Kuvveti (Kuprak Metodu) Bulguları

Sirkenin kuprik iyonlarını ( $\text{Cu}^{2+}$ ) indirgeme kapasitesi, konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak arttığı bulundu. Sirkenin kuprik iyonlarını ( $\text{Cu}^{2+}$ ) indirgeme kapasitesi, farklı konsantrasyonda ki (10-30  $\mu\text{g/ml}$ ) çözeltilerinin 450 nm'deki absorbandsları ölçülerek belirlendi. Sirke ve standart antioksidan çözeltilerinin kuprik iyonlarını ( $\text{Cu}^{2+}$ ) indirgeme grafikleri çizildi (Şekil 4.3).



**Şekil 4.3.** Sirkenin farklı konsantrasyonlarda ki (10-30 µg/ml) kuprik iyonlarını (Cu<sup>2+</sup>) indirgeme aktivitesinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması

Daha sonra her bir standart antioksidan, Sirke için 30 µg/ml'ye karşılık gelen standart antioksidanların kuprik iyonlarını (Cu<sup>2+</sup>) indirgeme aktiviteleri birbirleriyle karşılaştırıldıklarında: BHA > BHT > sirke > troloks > α-tokoferol şeklinde sıralanmaktadır.

#### 4.4. DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi Bulguları

Sirkenin çalışmada kullanılan BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks gibi standart antioksidan bileşiklerin DPPH serbest radikali giderme aktivite tayini için öncelikle standart grafik oluşturuldu ( $r^2$ : 0,9966) (Şekil 4.4).

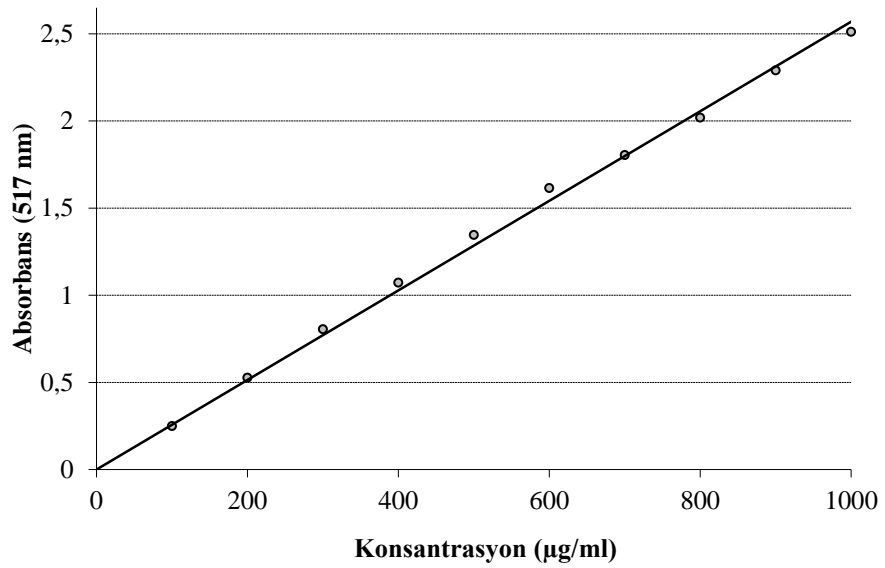
DPPH serbest radikali giderme aktivitesi tayininden sonra geriye kalan DPPH serbest radikali miktarı standart grafikten elde edilen ve aşağıda verilen eşitlikten hesaplandı.

$$\text{Absorbans } (\lambda_{517}) = 0,0026 \times [\text{DPPH}]$$

DPPH serbest radikali ile ilgili hesaplamalar aşağıdaki eşitliğe göre yapıldı.

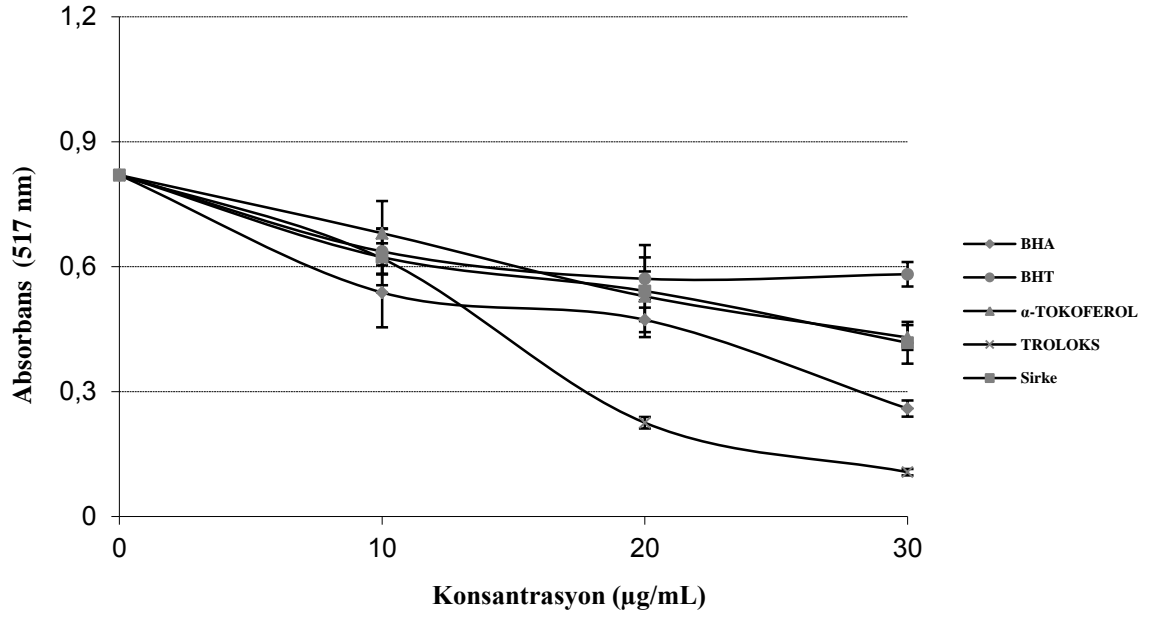
$$\text{DPPH} \cdot \text{giderme aktivitesi (\%)} = \left( 1 - \frac{\lambda_{517\text{-N}}}{\lambda_{517\text{-K}}} \right) \times 100$$

Burada  $\lambda_{517\text{-N}}$  DPPH serbest radikal çözeltisine numune ilavesinden sonra okunan absorbans değeri,  $\lambda_{517\text{-K}}$  ise sadece DPPH serbest radikal çözeltisi içeren kontrol çözeltisinin absorbans değerini ifade eder. Pozitif kontrol olarak BHA, BHT,  $\alpha$ -tokoferol ve troloks standart antioksidan bileşikleri kullanıldı.



**Şekil 4.4.** DPPH serbest radikal giderme aktivitesi tayini için hazırlanan standart grafik

Sirkenin DPPH serbest radikali giderme aktiviteleri Şekil 4.5’de görüldüğü gibi konsantrasyon ile doğru orantılı olarak artmaktadır.



**Şekil 4.5.** Sirkenin (10-30 µg/ml) DPPH serbest radikali giderme aktivitelerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması

Sirkenin ve kullanılan standart antioksidan moleküller sırasıyla şu şekilde DPPH serbest radikali giderme aktivitesi sergilediler: troloks > BHA > Sirke > α-tokoferol > BHT şeklindedir.

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇLAR

### 5.1. Dut Sirkesinin Antimikrobiyal Özellikleri

Konuyla ilgili literatür çalışmaları incelendiğinde dut sirkesinin antimikrobiyal aktivitesinin çalışılmadığı görülmüştür. Antimikrobiyal aktivite çalışmalarında çoğunlukla aseton, etanol, kloroform, su veya daha farklı çözücüler kullanılarak hazırlanan bitki ekstraktlarının veya uçucu yağların kullanıldığı görülmektedir (Erdoğan 2002; Kabouche *et al.* 2005; Ünal 2006; Yiğit vd 2009).

Test mikroorganizmalarının tümü dut sirkesine karşı duyarlı olduğu belirlenmiştir. Disk diffüzyon duyarlılık testi yönteminde duyarlı olanlar sırasıyla *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella oxytoca*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Erwinia carotovora*, *Candida albicans* ve *Escherichia coli* olduğu belirlenmiştir. Sadece saf suyun emdirilmesiyle hazırlanan negatif kontrollerin ise, test mikroorganizmalarının hiçbiri üzerinde inhibisyon zonu oluşturmadığı görülmüştür.

Katı besiyerinde 400 µl sirke emdirilerek yapılan deney sonucu oluşan inhibisyon zonları ile sıvı kültürde ki koloni sayıları karşılaştırıldığında sıvı besiyerinde ki inhibisyonun daha etkili olduğu görülmüştür. Buradan yola çıkılarak sıvı besiyerinde sirke konsantrasyonu artırılmış ve artan konsantrasyonla doğru orantılı olarak mikrobiyal inhibisyonun arttığı gözlenmiştir.

Kullandığımız besiyerleri dizayn edilirken yüksek sirke konsantrasyonlarında pH ayarlanmadığı durumda, başlangıç pH'sının düşük olduğu belirlenmiştir. Örneğin; 10ml NB ve 10ml sirke içeren besi ortamının pH'sı 3,83 bulunurken, 10ml NB ve 10ml saf su içeren ortamın pH'sı 7,1 olarak belirlenmiştir. Ortamın mikrobiyal gelişme üzerine inhibisyon etkisinin sirkenin antimikrobiyal etkisinden mi yoksa ortamın pH'sından mı kaynaklandığını belirlemek amacıyla tüm ortamlar hazırlandıktan sonra, pH'ları HCl ve NaOH kullanılarak bakteriler için en uygun olan pH değerine yani 7,2'ye ayarlanmıştır.

Literatürlerde, sirkenin ortam pH'sını düşürerek ya da hücre içine nüfuz edip plazmayı denatüre ederek antimikrobiyal etki gösterdiği bilinmektedir. Bu sebeple çalışmamızda ortam pH'ları başlangıçta ayarlanıp sirkenin antimikrobiyal etkisinin düşük pH'ya bağlı olmayıp hücre içine nüfuz etmesi şeklinde olduğu belirlenmeye çalışılmıştır.

Daha önce yapılmış araştırma sonuçlarına göre gram (+) bakterilerin bazı antibiyotiklere karşı daha duyarlı olduğu görülmüştür (Dimayuga and Garcia 1991; Rajbhandri and Schopke 1999; Rabanal *et al.* 2002; Masika and Afolayan 2002). Bunun nedeni literatür bilgilerine bakılarak şöyle özetlenebilir; gram (+)'lerde hücre duvarı tek bir tabakadan (Peptidoglikan) ibarettir. Gram (-)'lerde ise hücre duvarı en dışta lipopolisakkarit bir tabakanın olduğu çok tabakalı bir yapıya sahiptir. Bu sebeple gram (-)'lerde hücre duvarı gram (+)'lere göre daha az geçirgen bir yapı oluşturmaktadır. Buda gram (+) bakterilerin antimikrobiyal maddelere karşı daha duyarlı, gram (-) bakterilerin ise daha dirençli olmalarını sağlamaktadır (Quattara *et al.* 1997; Urzua *et al.* 1998; Ali-Shtayeh *et al.* 1998; Ertuğrul 2002).

Bizim çalışmamızda dut sirkesine hem gram (+) hem de gram (-) bakteriler duyarlı olmuştur. Gram (-) bakterilerden *K. oxytoca*'nın disk difüzyon ve sıvı besiyeri metodunda dut sirkesine karşı *E. coli*'den daha duyarlı olduğu gözlenmiştir.

Hem çeşitli literatür bulgularına hem de bizim araştırma bulgularımıza bakıldığında, bitkisel ekstraların antifungal özelliklerinin antibakteriyel özelliklerine kıyasla daha zayıf olduğu görülmektedir. Ali-Shtayeh *et al.* (1998) bunun nedenini ökaryotik hücre membranındaki sterollere atfetmişlerdir. Antimikrobiyal ajanlar, ökaryotik mantar hücrelerini inhibe etmek için hücre membranındaki sterollere bağlanmak zorundayken, böyle bir bağlanma sterol taşımayan prokaryotik bakteri hücreleri için gerekli değildir (Kara 2002).

Antifungal aktivite için kullandığımız *C. albicans* dan, Kirby ve Bauer'in disk difüzyon duyarlılık testi (DDDT) sonuçlarına göre antibakteriyel özellik kadar etkili sonuç alınmamış olsa da sıvı besiyeri dilüsyonlarında daha iyi sonuçlar alınmıştır.



Bu araştırmanın sonuçlarına bakıldığında araştırmaya ait dut sirkesinin bazı patojen mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etkisinin olduğu görülmektedir. Ancak dut ağacının yetiştiği coğrafi bölge, kullanılan bakteri suşları ve çalışılan besiyeri gibi değişebilen şartları değerlendirirsek farklı sonuçların çıkması normal görülebilir.

Özer vd (2001), sentetik olarak üretilen ilaçların, bitkilerde ki herhangi bir aktif maddenin izole edilmesi suretiyle yapıldığını ve bu nedenle hastalık etmenlerinin, sade bir yapısı bulunan sentetik ilaçlara karşı kısa zamanda dayanıklı ırklar oluşturarak ilaçları etkisiz hale getirebildiğini belirtmektedirler. Buna karşılık; bitkilerdeki aktif maddeler diğer maddelerle birlikte kompleks (karışık) bir yapı oluşturduklarından hastalık etmenlerinin bu yapıyı zerek dayanıklı ırklar oluşturması daha zor olmaktadır.

Sonuçlar dikkate alındığında halk arasında deneme yanılma veya geleneğe bağlı olarak kullanılan ve ev ortamında da kolayca yapılabilen dut sirkesinin söz konusu patojen mikroorganizmaların sebep olduğu hastalıklara karşı ilaç hammaddesi veya pekçok endüstriyel işlenebilen gıda ve kozmetik ürünlerinde koruyucu madde olarak değerlendirilip kullanılabileceği düşünülmektedir.

Mevcut alışmamızda elde ettiğimiz veriler işığında:

1. Çalışmamızda kullandığımız bitki patojeni olarak bilinen *E. carotovora*'ya ilaveten, dut sirkesi *Xhantomonas*, *Pseudomonas* gibi farklı bitki patojenleri üzerinde de kullanılarak tarımsal çalışmalarda bitkilerin, bakteriyel hastalıklara karşı dayanıklılığını artırmak mümkün olabilir.
2. Dut sirkesinin antifungal özelliğinin tam olarak ortaya çıkarılması için bizim çalışmamızda kullandığımız *C. albicans*'a ilaveten daha farklı fungus türleri de test edilebilir.
3. Dut sirkesinin antiviral etkileri de araştırılabilir.

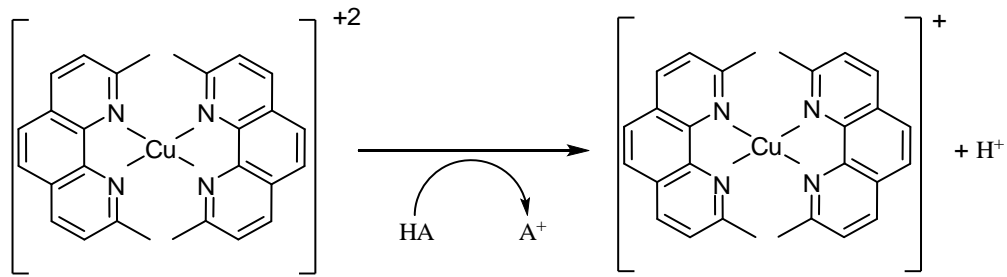
## 5.2. Dut Sirkesinin Antioksidan Özellikleri

Antioksidan aktivitenin temeli herhangi bir serbest radikalın elektronlarını nötralize edebilme yeteneğine dayanır. Ayrıca, antioksidan aktivite aromatik halkadaki hidroksilasyonun pozisyonu ve sayısı ile ilişkilidir. Genel olarak, fenol halkasındaki hidroksi grupların sayısının artması sayesinde hidrojen donörü ve oksidasyon önleyici gibi etkilerin arttığı kabul edilir. Fenolik bileşikler; meyveler, sebzeler ve bitkisel yağlarda bol miktarda bulunan fitokimyasalların çok çeşitli bir grubudur. Son zamanlarda besin kaynağı ya da koruyucu tıbbi ürünler için kullanılan ve antioksidan özellik gösteren maddeler maddeler üzerindeki ilgi giderek artmaktadır. Bunların bir sonucu olarak gıda konserveçiliği teknolojisinin ve çağdaş yaşamın çok önemli bir parçası haline gelmiştir. Antioksidan ve farmakolojik özelliklere sahip olan bitkilerin, özellikle fenolik asit ve flavonoidler gibi fenolik bileşiklerin varlığı ile ilişkilendirildiği çok iyi bilinmektedir.

Bugünlerde doğal antioksidanların bilimsel araştırmaların önemli bir alanını oluşturması, uzun yıllardan beri gıdaların tatlarını arttırmak için katkı maddesi olarak kullanılan baharatların ve aromatik bitkilerin içerdikleri fenolik asit miktarlarından dolayı giderek önem kazanması bizi antioksidan aktivitesine yönlendirmiştir. Bu doğrultuda tez kapsamında kullanmış olduğumuz sirkenin antioksidan özelliklerini belirlemek amacıyla yapılan çalışmalarda; kuprak metoduna göre  $Cu^{2+}$ - $Cu^{+}$  indirgeme kapasitesi, DPPH radikal giderme aktiviteleri ile tiyosiyanat metoduna göre total antioksidan aktivite tayini gibi üç farklı biyoanalitik metot kullanıldı. Sirke ve her bir standart antioksidanın farklı konsantrasyonları (10-30  $\mu$ g/ml) kullanılarak deneysel çalışmalar yapıldı.

Laboratuvar ortamında gerçekleştirilen antioksidan yöntemlerle elde edilen sonuçlar, gıda ve farmakoloji endüstrisinde yaygın olarak kullanılan BHA, BHT,  $\alpha$ -tokoferol ve  $\alpha$ -tokoferolün suda çözünen bir analogu olan troloks gibi standartlar kullanılarak değerlendirildi.

Kuprak metodu son zamanlarda Apak ve arkadaşları (2004) tarafından indirgeme kapasitesini belirlemek için geliştirilen ve Gülçin ve ekibi tarafından ise oldukça etkili bir şekilde kullanılan önemli bir yöntemdir (Gülçin *et al.* 2010a; Gülçin *et al.* 2010b). Bu metot, düşük maliyetli ile beraber hızlı ve kararlı bir metottur. Kuprak metodu bir kromojenik redoks reaksiyonu olup fizyolojik pH'ya yakın bir pH'da (pH: 7) gerçekleştirilir (Apak *et al.* 2004; Köksal *et al.* 2009; Gülçin 2012). Kuprak metodu; antioksidanlar tarafından kuprik iyonlarının ( $\text{Cu}^{2+}$ ) kupröz iyonlarına ( $\text{Cu}^+$ ) indirgenmesi esasına dayanır. Neokuprinin varlığında  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^+$ 'e indirgenir. Oluşan kompleks 450 nm'de maksimum absorbans verir (Şekil 5.1). Kuprak metodunda  $\text{CuCl}_2$  ve etanolde hazırlanan neokuprin çözeltisi kullanılır.



**Şekil 5.1.** Antioksidan bir molekül tarafından gerçekleştirilen kuprak reaksiyonu

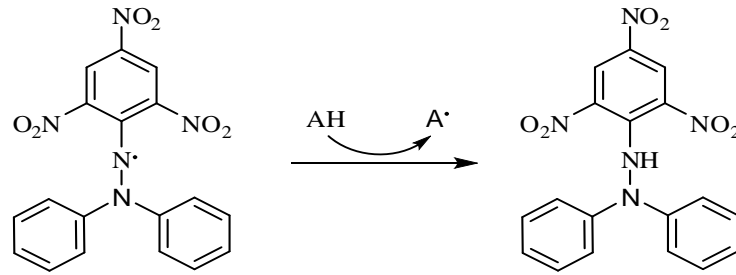
Hazırlanan çözeltilerin 450 nm'deki absorbans artışı gözlemlenir. Bu artış indirgenme miktarının, yani numunenin antioksidan kapasitesinin bir ölçütü olarak değerlendirilir (Gülçin 2012).

450 nm'deki absorbans ölçüm sonuçlarına dayanarak sirkenin indirgeme kapasitelerinin standart antioksidanlara benzer şekilde artan konsantrasyona bağlı olarak arttığı gözlemlenmiştir. 30  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonda sirke ve standart antioksidanların kuprik iyonlarını ( $\text{Cu}^{2+}$ ) indirgeme kuvvetleri birbirleriyle kıyaslandı ve BHA > BHT > sirke > troloks >  $\alpha$ -tokoferol şeklinde bir sıralanma gözlemlendi.

DPPH, radikal giderme metodu basit, hızlı, seçici ve tekrarlanabilir prosedür olmasından dolayı bileşiklerin radikal giderme aktivitelerini belirlemek için yaygın bir

şekilde kullanılmaktadır (Özçelik *et al.* 2003; Gülçin 2012). Bir antioksidan madde, bu radikal çözeltiliye eklendiğinde; DPPH<sup>·</sup> oluşumunu tersine çevirir ve bu reaktif türleri indirgeyerek bir renksizleşme oluşur.

DPPH<sup>·</sup> radikali giderme aktivitesi, antioksidan aktivite belirlemek için kullanılan ilk metotlardan biridir. İlk kez 1950'lerde doğal ürünlerdeki hidrojen donörlerini belirlemek için önerilmiştir. Sonraları hem fenoliklerin hem de gıdaların antioksidan potansiyellerini belirlemek amacıyla geliştirilmiştir. DPPH radikali uzun ömürlü, azot merkezli, kararlı ve mor renkli bir serbest radikaldir. Bu metotta antioksidanlar DPPH<sup>·</sup> radikallerini, sarı renkli difenil-pikrilhidrazine (DPPH-H) indirger. Bu metodun esası, hidrojen verici gruplara sahip antioksidanların varlığında, alkolde çözünen DPPH<sup>·</sup> radikallerinin indirgenmesine ve DPPH<sup>·</sup> radikallerine karşı antioksidanların indirgeme kabiliyetlerinin ölçümüne dayanır. İndirgenme sonucunda 517 nm'de absorbans vermeyen ve radikal olmayan DPPH-H molekülü oluşur. Dolayısıyla DPPH<sup>·</sup> serbest radikali miktarındaki azalma 517 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülür ve bu sayede aktivite tayini yapılabilir (Gülçin 2002; Özçelik *et al.* 2003; Gülçin 2012).



**Şekil 5.2.** Bir antioksidan tarafından DPPH<sup>·</sup> serbest radikalinin giderilmesi

DPPH<sup>·</sup> serbest radikali giderme aktivitesi ile ilgili sonuçlara bakıldığında çalışma kapsamında kullanılan sirkenin DPPH serbest radikali giderme aktivitesi için BHT ve  $\alpha$ -tokoferol standardı gibi davrandıkları gözlemlendi. DPPH serbest radikali giderme aktivitesi tayininde kullanılmak üzere standart grafik çizildi. DPPH serbest radikali giderme aktivitesi tayininden sonra geriye kalan DPPH serbest radikali miktarı standart grafikten elde edilen eşitlikten hesaplandı. Sirkenin farklı konsantrasyonlarda ki (10-30

$\mu\text{g/ml}$ ) DPPH $\cdot$  serbest radikalleri giderme aktivitelerine ait grafiklerde artan konsantrasyonla birlikte absorbansta azalış gözlemlendi. Dolayısıyla artan konsantrasyonla birlikte giderme aktivitesinin arttığı görüldü.

Total antioksidan kapasitesi, gıda ve tıbbi biyoaktif bileşenler için bir parametre olarak kullanılır. Lipit peroksidasyonu, hidrojen zengin metilen grupları içeren çoklu doymamış yağ asitlerinin ROS saldırısına uğramasıyla başlayan zincirleme tepkimelerdir. Lipit oksidasyonu, bir dizi serbest radikal zincir reaksiyonları sonucu oluşur ve birçok biyolojik hasarla ilişkilidir. Genelde biyoaktif bir maddenin olası etkisini belirlemek için linoleik asit emülsiyonunun peroksidasyonunu azaltabilme kabiliyeti test edilir. Peroksitler linoleik asitin oksidasyonu boyunca oluşur. Antioksidanların varlığında linoleik asitin oksidasyonu azalır. Bu yüzden antioksidanlar, lipit peroksidasyonunun inhibe edilmesinde ve ROS'in zararlı etkilerine karşı korunmada çok önemli rol oynarlar (Gülçin 2012).

Sirkenin total antioksidan aktivitesi "Tiosiyanat Metoduna" göre belirlendi. Bu metotta linoleik asit emülsiyonunun oto-oksidasyonu sonucu oluşan peroksitler ferröz iyonlarını ( $\text{Fe}^{2+}$ ) ferrik iyonlarına ( $\text{Fe}^{3+}$ ) yükseltir. Daha sonra yükseltgenen ferrik iyonları ( $\text{Fe}^{3+}$ ) tiosiyanat ( $\text{SCN}^-$ ) ile 500 nm'de maksimum absorban veren  $\text{Fe}(\text{SCN})^{2+}$  kompleksini oluşturur. Görülen yüksek absorban değeri, peroksidasyon sonucu oluşan peroksit miktarının fazla olduğunun göstergesidir. Deney periyodik olarak 12 saatte bir ölçüm olarak toplam 72 saatte gerçekleştirildi. Total antioksidan aktivite, sirkenin 30  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonunda ki emülsiyonunun etanoldeki çözeltisinin 500 nm'deki absorbanı ölçülerek belirlendi. Daha sonra absorbansa karşı inkübasyon süresine ait grafik çizildi ve sonuçlar standart antioksidanlarla karşılaştırıldı.

## KAYNAKLAR

- Abascal, K., Yarnell, E. 2002. Herbs and Drug Resistance. Potential of Botanical in Drug-Resistant Microbes. *Alternative & Complementary Therapies*, Part: 1, 237-241.
- Abutbul, A., Golan-Goldhirsh, A., Barazani, O., Zilberg, D. 2004. Use of *Rosmarinus officinalis* as a treatment against *Streptococcus iniae* in tilapia (*Oreochromis* sp.). *Aquaculture*. 1-4: 97-105.
- Ahmad, I., Beg, A.Z., 2001. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. *Journal of Ethnopharmacology* 74 (2), pp. 113-123.
- Ak, T., Gülçin, İ., 2008. Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. *chemico-biological. Interaction*, 174, 27-37.
- Akbaş, M., 2008. Ülkemizde Üretilen Üzüm Sirkelerinin Bileşimleri ve Gıda Mevzuatına Uygunlukları Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Akgül, A. 1993. Baharat Bilimi ve Teknolojisi. Gıda Teknolojisi Derneği Yay., Ankara.
- Akkuş, İ., 1995. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimosza yayınları, Kuzucular ofset, Konya.
- Aktan, N., Kalkan, H., 1998. Sirke Teknolojisi II. Baskı, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 82s.
- Ali-Shtayah, M.S., Yaghmour, R.M.-R., Faidi, Y.R., Salem, K., Al-Nuri, M.A., 1998. Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *Journal of Ethnopharmacology* 60 (3), pp. 265-271.
- Altuner, Z., 2004. Sistematik Botanik. Gazi Osman Paşa Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Aktif Yayınevi, 202s, Erzurum.
- Anonymous, 2000, Proposed Draft Revised Regional Standart for Vinegar, Codex Alimentarius Commission, FAO, WHO, Rome.
- Anonim, 2001, Tarım İstatistikleri Özeti (1980-1999), T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü Yayın No:2430, Ankara, 45.
- Anon., (2002a) *Morus alba*, [http://gardenbed.com/source/43/4223\\_lan.asp](http://gardenbed.com/source/43/4223_lan.asp)
- Anonim (2003) *Tarımsal Yapı (Üretim, Fiyat, Değer) 2001*. T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü, Yayın No:2758, s. 544, Ankara.
- Anonim, 2003a, Türkiye İstatistik Yıllığı 2002, T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü Yayın No:2779, Ankara, 721.
- Anonim, 2003b, Tarımsal Yapı (Üretim, Fiyat, Değer) 2001., T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü Yayın No:2758, Ankara, 544.
- Apak, R., Güçlü K., Özyürek, M., Karademir, S.E., Erça, E., 2006. The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 57, 292-304.
- Başer, K. H. C. 1997. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin İlaç ve Alkollü İçki Sanayilerinde Kullanımı. Anadolu Üniversitesi Tıbbi ve Aromatik Bitki ve İlaç Araştırma Merkezi (TBAM), İstanbul Ticaret Odası, Yayın no:39, İstanbul.

- Baydar, H., Sağdıç, O., Özkan, G., Karadoğan, T. 2003. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control*. 15: 169-172.
- Baytop, T., 1999. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. Nobel Tıp Kitabevleri Yayınları, 480 s, İstanbul, Türkiye.
- Behferooz, F.(1993) *M. alba* L. ve *M. nigra* L. Üzerinde Farmakognozik Araştırma, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognozik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, S. 119, Ankara.
- Benli, M., Yiğit, N., 2005. Ülkemizde Yaygın Kullanımı Olan Kekik (*Thymus vulgaris*) Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesi. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 03(08), 1-8.
- Beşkaya, A., 2004. Broylere doğal ve sentetik antioksidanların bazı iz elementler üzerine etkisi. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.
- Bilgehan, H., 2000. Klinik Mikrobiyoloji (Özel Bakterioloji ve Bakteri Enfeksiyonları). 10. Baskı. Barış Yay. Fakülteler Kitabevi, İstanbul. Bilgehan, H., 2005. Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi. Barış Yayınları, 622s, İzmir.
- Boxtel, C.J.V., 2007. Bölüm 4 Antimikrobiyal Maddeler. İlaç Yararları ve Riskleri, Türk Eczacılar Birliği, TEB yayınları, Ankara, 83-115.
- Bremness, L., 1999. Şifalı Otlar, Çeviren Nejat Ebcioğlu, İnkılâp Kitabevi Yayın San. Tic. A.Ş., İstanbul, 240.
- Chun, S.-S., Vattam, D. A., Lin, Y.-T., Shetty, K. 2004. Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. *Process Biochemistry*. 2: 809-816.
- Cuendet M., Hostettmann K., Potterat O., Dyatmiko W., 1997, Iridoid Glucosides with Free Radical Scavenging Properties from *Fagraea blumei*, *Helvetica Chimica Acta*, 4, 1144 – 1152
- Cunningham, M. W. (2008). Pathogenesis of group A streptococcal infections and their sequelae. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 609, 29-42. doi:10.1007/978-0-387-73960-1\_3
- Çavdar, C., Sifil, A. and Çamsarı, T., 1997. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *J Turk Nephrol.*, 3-4, 92-95.
- Çeliktas, O. Y., Kocabas, E. E. H., Sukan, F. V., Ozek, T., Baser, K. H. C. 2005. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry*. 100:553-559.
- De Candolle, A., (1967). *Origin of Cultivated Plants*. New York and London. P. 149-153.
- Dığrak, M., İlçim, A., Alma, M.H. 1999. Antimicrobial activities of several parts of *Pinus brutia*, *Juniperus oxycedrus*, *Abies cilicia*, *Cedrus libani* and *Pinus nigra*. *Phytotherapy Research*, 13: 584-587.
- Dimayuga R. E., Garcia S.K., 1991. Antimicrobial screening of medicinal plants from Baja California Sur, Mexico. *Journal of Ethnopharmacology*, Volume 31, Issue 2, February 1991, Pages 181-192.
- Erdoğrul, O.T., 2002. Antibacterial activities of some plant extracts used in folk medicine. *Pharmaceutical Biology* 40 (4), pp. 269-273.

- Ersoy Y., Bayraktar M., Fırat M., Yağmur M., Durmaz R., 2005. Klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. *Ankem Dergisi*, 19:92-96.
- Eryılmaz B., 2001, *Capsicum annuum* (L.) Solanaceae meyvelerinin antioksidan aktivite açısından değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniv. 102 s, Ankara.
- Erdoğrul, O.T., 2002. Antibacterial activities of some plant extracts used in folk medicine. *Pharmaceutical Biology* 40 (4), pp. 269-273.
- Ersoy Y., Bayraktar M., Fırat M., Yağmur M., Durmaz R., 2005. Klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. *Ankem Dergisi*, 19:92-96.
- Eryılmaz B., 2001, *Capsicum annuum* (L.) Solanaceae meyvelerinin antioksidan aktivite açısından değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniv. 102 s, Ankara.
- Facey, P.C., Pascoe, K.O., Porter, R.B., Jones, A.D., 1999. Investigation of plants used in Jamaican folk medicine for anti-bacterial activity. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 51 (12), pp. 1455-1460.
- Farnsworth, N.R., Akerev, O. Bingel, A.S., 1985. The Bulletin of WHO., 63: 9865-9871.
- Gökmen, H., 1973. Kapalı Tohumlular Şark Matbaası, Ankara. 1. cilt. p.186-190.
- Gökpınar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T., Durmaz, Y., 2006. Algal Antioksidanlar. *E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 23, 85-89.
- Gülçin, İ., 2002. Isırgan otunun (*Urtica dioica*) antioksidan aktivitesinin belirlenmesi, oksidatif enzimlerinin karakterizasyonu ve bazı *in vivo* etkilerinin incelenmesi. Doktora tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, s114.
- Gülçin, İ., Elias, R., Gepdiremen, A., Chea, A., Topal, F., 2010. Antioxidant activity of bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Stephania rotunda*: cepharanthine and fangchinoline. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 25, 44-53.
- Gülçin, İ., Kirecci, E., Akkemik, E., Topal, F., Hisar, O., 2010. Antioxidant and Antimicrobial Activities of an Aquatic Plant: Duckweed (*Lemna minor* L.). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 34, 175-188.
- Gülçin, İ., 2012. Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*, 86, 345-391.
- Güven, S. ve Basaran, M. (1979) Çanakkale Yöresinde Üretilen Karadut (*Morus nigra* L.) Meyvesinin Besin Teknolojileri Yönünden Değerlendirilmesi. *Tarımsal Araştırma Dergisi* 1(2) p. 108-117.
- Halliwell B., (1994): —Free radicals and antioxidants: A personal view. *Nutrition Reviews*, 52(8), 253-265.
- Halliwell, B., 1996. Antioxidant in Human Health and Disease. *Annual Review of Nutrition*, 16, 33-50.
- Harlow, W.M. (1958) *Textbook of dendrology*, 4. Edition. New York. (Türkçesi: Kayacık, H., 1981. Orman ve Park Ağaçlarının Özel Sistematığı. I I. Cilt Angiospermeae. 4. Baskı. İstanbul.
- Hasenekoğlu, İ., ve Yeşilyurt, S., 2002. Mikrobiyoloji. Atatürk Üniversitesi Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi, 692s, Erzurum.
- <http://www.sifalibitkiler.us/bitki-tarihi>
- <http://bitkikitabi.com/>



- Huo, Y., 2002, Mulberry Cultivation and Utilization in China. Mulberry for Animal Production, FAO Animal Production and Health Paper 147: 11-44.
- Ivanov, I. I., Lancev, I.I. and Nesev, G.K., 1999. Sifalı Bitkilerle Tedavi Atlası (Ceviren: Makaklı, B.). Pamuk Yayıncılık, 368 s, İstanbul.
- Kabouche, A., Boutaghane, N., Kabouche, Z., Seguin, E., Tillequin, F., Benlabeled, K., 2005. Components and antibacterial activity of the roots of *Salvia jaminiana*. *Fitoterapia* 76 (5), pp. 450-452.
- Kamatou, G.P.P., Viljoen, A.M., Gono-Bwalya, A.B., Van Zyl, R.L., Van Vuuren, S.F., Lourens, A.C.U., Basker, K.H.C., Steenkamp, P., 2005. The in vitro pharmacological activities and a chemical investigation of three South African *Salvia* species. *Journal of Ethnopharmacology* 102 (3), pp. 382-390.
- Kara, A.A., 2002. Bazı Sifalı Bitkilerin *Helicobacter Pylori*'nin İn-Vitro Üremesi Üzerine Etkileri ve Antioksidan Özellikleri. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Kirk, R.S., Sawyer, R., 1991. Pearson's Composition and Analysis of Foods. 9th Edition, Longman Scientific & Technical, England, 705-710.
- Kokoska, L., Polesny, Z., Rada, V., Nepovim, A., Vanek, T., 2002. Screening of some Siberian medicinal plants for antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology* 82 (1), pp. 51-53.
- Köksal, E., Gülçin, İ., Öztürk Sarıkaya, S.B., Bursal, E., 2009d. On the *in vitro* antioxidant activity of silymarin. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 24, 395-405.
- Lacombe, V., Wu, V.C.H., White, J., Tadepalli, S., Andre, E.E., 2011. The antimicrobial properties of the lowbush blueberry (*Vaccinium angustifolium*) fractional components against foodborne pathogens and the conservation of probiotic *Lactobacillus rhamnosus*. *Food Microbiology*, 30 (2012), 124-131.
- Lale, H. (1992) Dut Türlerinin Pomolojik, Fenolojik ve Bazı Meyve Kalite Özellikleri Üzerinde Bir Çalışma. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı Bornova-İzmir.
- Lale, H., Özçağırın, R. (1996) Dut Türlerini Pomolojik, Fenolojik ve Bazı Meyve Kalite Özellikleri Üzerinde Bir Çalışma, *Derim Dergisi*, 13(4): 177-182.
- Machii, H., Koyama A., Yamanouchi H., Matsumoto K., Kobayashi S. and Katagiri K. (2001) A list of morphological and agronomical traits of mulberry genetic resources. *Misc. Publ. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci.*, 29, 1-307.
- Masika, P.J., Afolayan, A.J., 2002. Antimicrobial activity of some plants used for the treatment of livestock disease in the Eastern Cape, South Africa. *Journal of Ethnopharmacology* 83 (1-2), pp. 129-134.
- Menaker, A., Kravets, M., Koel, M., Orav, A. 2004. Identification and characterization of super critical fluid extracts from herbs. *C. R. Chimic.* 7: 629-633.
- Mercan, U., 2004. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. *YYU Vet Fak Dergi*, 15(1-2), 91-96.
- Modigan, M.T., Martimko, J.M., 2010. Brock Mikroorganizmaların Biyolojisi. Palme Yayıncılık, 992s, 2010.
- Moldovan, L., Moldovan, N.I., 2004. Oxygen free radicals and redox biology of organelles. *Histochemistry and Cell Biology* 122 (4), 395-412
- Moore, L.M., 2002 (*Morus salba* L.). ([http://plants.usda.gov/plantguide/pdf/pg\\_moal.pdf](http://plants.usda.gov/plantguide/pdf/pg_moal.pdf))

- Morales, M.L., Benitez, B., Troncoso, A.M., 2004. Accelerated Aging of Wine Vinegar with Oak Chips: Evaluation of Wood Flavour Compounds. *Food Chemistry*, 88: 305-315.
- Mukherjee, P.K., Saritha, G.S., Suresh, B., 2001. Antibacterial spectrum of *Hypericumhookerianum*. *Fitoterapia* 72 (5), pp. 558-560.
- Nohl, H., Gille, L., Kozlov, A., Staniek, K., 2003. Are mitochondria a spontaneous and permanent source of reactive oxygen species?. *Redox Report*, 8 (3), 135-141.
- Nostro, A., Blanco, A. R., Cannatelli, M. A., Enea, V., Flamini, G., Morelli, I., Roccaro, A. S., Alonzo, V. 2003. Susceptibility of methicillin-resistant staphylococci to oregano essential oil, carvacrol and thymol. *FEMS Microbiology Letters*. 2: 191-195.
- Oskay M, Sari D. 2007. Antimicrobial Screening of Some Turkish Medicinal Plants. *Pharmaceutical Biology*; 45(3): 176-181.
- Özcelik, B., Lee, J.H., Min, D.B., 2003. Effects of light, oxygen and pH on the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method to evaluate antioxidants. *Journal of Food Sciences*, 68, 487-490.
- Özer, Z., Tursun, N., Önen, H. 2001. *Yabancı Otlarla Sağlıklı Yaşam (Gıda ve Tedavi)*. Ankara. 4Renk Yayınları. 133 Sf.
- Özkaya, H., Şahin, E., Türker, İ., 1991. *Gıda Bilimi ve Teknolojisi*, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ders Kitabı, Ankara, 345: 443-467.
- Özmen, N., Alkın, E., 2006. Balın Antimikrobiyal Özellikleri ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri (The Antimicrobial Features of Honey and The Effects on Human Health). *Uludağ Bee Journal*.
- Öztürk, A., 1990. Erzurum Yöresinin Faydalı ve Tıbbi Yabancı Bitkilerinin Yerel Ad ve Kullanılışları Yönünden Kısa Tanımları. *Y.Y. Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi*, No:13, 132 s, Van.
- Palanduz, A., Yalçın, I., Öneş, Ü., Salman, N., Güler, N., Somer, A., Töreci, K., Kaygusuz, A., Öngen, B., 1996. Son Beş Yılda Çocuk Kliniği Enfeksiyon Servisinde Yatan Hastalarda Saptanan *Klebsiella* Suşlarının Antibiyotiklere Duyarlılıkları. *Ankem Derg.*, 10 (No.1), 56-61.
- Pandit, V. A., Shelef, L. A. 2002. Sensivity of *Listeria monocytogenes* to rosemary (*Rosmarinus officinalis* L). *Food microbiology*. 1: 57-63.
- Percival M., 1998, —Antioxidants. *Clinical Nutrition Insights*, 10, 1-4. Pişkin, Ç., 2007. *Lamiaceae* Familyasına Mensup Bazı Baharat Bitkilerinin Antimikrobiyal Etkilerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Placer CA, Cushman LL, Johnson BC, (1990) :Estimation of product of lipid peroxidation (Malondy Dialdehyde) in biochemical systems. *Anal. Biochem.*, 16: 259-264.
- Plessi, M., 2003. *Vinegar*, Umversita Degli Studi Modena, Elseiver Science Ltd. 5996-6003.
- Prado, B., Rabanal, R.M., Sanchez-Mateo, C.C., 2002. Evaluation of the central properties of several *Hypericum* species from the Canary Islands. *Phytotherapy research* : PTR 16 (8), pp. 740-744.

- Ouattara, B., Simard, R.E., Holley, R.A., Piette, G.J.-P., Begin, A., 1997. Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *International Journal of Food Microbiology* 37 (2-3), pp. 155-162.
- Rabanal, R.M., Arias, A., Prado, B., Hernandez-Perez, M., Sanchez-Mateo, C.C., 2002. Antimicrobial studies on three species of *Hypericum* from the Canary Islands. *Journal of Ethnopharmacology* 81 (2), pp. 287-292.
- Rabe, T., Van Staden, J., 1997. Antibacterial activity of South African plants used for medicinal purposes. *Journal of Ethnopharmacology* 56 (1), pp. 81-87.
- Rajbhandari, M., Schopke, T., 1999. Antimicrobial activity of some nepalese medicinal plants. *Pharmazie* 54 (3), pp. 232-234.
- Salehi, P., Sonboli, A., Eftekhari, F., Nejad-Ebrahimi, S., Yousefzadi, M., 2005. Essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of the oil and various extracts of *Ziziphora clinopodioides* subsp. *rigida* (BOISS.) RECH. f. from Iran. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 28 (10), pp. 1892-1896.
- Sanchez M. D. (2000) Mulberry an Exceptional Forage Available Almost Worldwide, *World Animal Review*, 93(1), FAO, Rome.
- Seven A., Candan G., 1996, —Antioksidan savunma sistemleri. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 27(1), 41-50.
- Scheibmeir, H.D., Christensen, K., Whitaker, S.H., Jegaethesan, J., Clancy, R., Pierce, J.D., 2005. A review of free radicals and antioxidants for critical care nurses. *Intensive and Critical Care Nursing*, 21, 24-28.
- Stadtman, E.R., 2002. Importance of Individuality in Oxidative Stress and Aging. *Free Radical Biology and Medicine*, 33 (5), 597–604.
- Stojanović, G., Radulović, N., Hashimoto, T., Palić, R., 2005. In vitro antimicrobial activity of extracts of four *Achillea* species: The composition of *Achillea clavennae* L. (Asteraceae) extract. *Journal of Ethnopharmacology* 101 (1-3), pp. 185.
- Sohal, R.S., 2002. Role of Oxidative Stress and Protein Oxidation in the Aging Process. *Free Radical Biology and Medicine*, 33 (1), 37–44.
- Şahin, F., Karaman, İ., Güllüce, M., Ögütçü, H., Şengül, M., Adıgüzel, A., Öztürk, S., Kotan, R., 2003. Evaluation of antimicrobial activities of *Satureja hortensis* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 87 (2003), 61-65.
- Tan, S.C., 2005. Vinegar Fermentation, a Thesis of Master, University of Louisiana Department of Food Science, pp:120-125.
- Tassou, C., Koutsoumanis, K., Nychas, G.-J. E. 2000. Inhibition of *Salmonella enteritidis* and *Staphylococcus aureus* in nutrient broth by mint essential oil. *Food Research International*. 33: 273-280.
- Temür, M., 2008. Muz Kabuğu Hidrolizatının Glutasyon Üretiminde Kullanımı. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Trujillo, F.U., 2002. Mulberry for Rearing Dairy Heifers. Mulberry for Animal Production, FAO Animal Production and Health Paper, 147: 203-206.
- Urzua, A., Caroli, M., Vasquez, L., Mendoza, L., Wilkens, M., Tojo, E. 1998. Antimicrobial study of the resinous exudate and of diterpenoids isolated from *Eupatorium salvia* (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology* 62 (3), pp. 251-254.

- Ünal, E., 2006. Türkiye Florasında Doğal Olarak Yetişen Bazı Bitki Türlerinin Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Ünlüer, A., 2011. Beyaz Dut (*Morus alba*) ve Karadut (*Morus nigra*) Yaprak Özüleri Üzerine Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları. Yüksek Lisans Tezi, Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Manisa.
- Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. D., 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4113-4117.
- Vonderbank, H. 1949. Ergebnisse der Chemotherapie der Tuberculose. *Pharmazie*, 4:198-207.
- Yaltrık, F., Asuman, E., (1994). Dendroloji Ders kitabı. İstanbul Üniversitesi. Yayın no: 3836, Fakülte yayın no: 431. İstanbul.
- Yaltrık F. ve ark. (1995) *Süs Bitkileri (Ağaçlar ve Çalılar)*, Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi Yayın No: 1, Eskisehir.
- Yen, G.C., Chen, H.Y., 1995. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their mutagenicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 27-32.
- Yen, G.C., Chang Y.C., 2003. Production of antioxidant from *Aspergillus candidus* broth filtrate by fermentor. *Process Biochemistry*, 38, 1425-1430.
- Yıldırım, A., 2003. İntakt ve Adrenalektomili Sıçanların Eritrosit ve Mide Dokularında Oksidan ve Antioksidan Parametrelerin Araştırılması. Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Erzurum.
- Yılmaz, İ., 2010. Antioksidan İçeren Bazı Gıdalar ve Oksidatif Stres. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 17 (2), 143-153.
- Yiğit, D., Yiğit, N., Aktaş, E., Özgen, U., 2009. Ceviz (*Juglans regia* L.)'nin Antimikrobiyal Aktivitesi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 39 (1-2), 7-11.

## **ÖZGEÇMİŞ**

1986 yılında Erzurum'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Erzurum'da tamamladı. 2004 yılında girdiği Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden 2008 yılında mezun oldu. 2010 yılında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde yüksek lisans öğrenimine başladı.