

T. C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ BÖLÜMÜ



**BAZI TÜRK BAHARAT ÇEŞİTLERİNİN ANTİMİKROBİYAL VE
ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Gioacchino dell'AQUILA

Tez Danışmanı

Yrd. Doç. Dr. Duygu ALTIOK

İstanbul, 2013

ONAY



T.C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Tez Onay Belgesi

Enstitümüz Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Gıda Mühendisliği (Tezli) Yüksek Lisans Programı Y1113.040013 numaralı öğrencisi **Gioacchino Dell' AQUILA**'nın "BAZI TÜRK BAHARAT ÇEŞİTLERİNİN ANTİMİKROBİYAL VE ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ" adlı tez çalışması Enstitümüz Yönetim Kurulunun 02.07.2013 tarih ve 2013/14 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından **oybirliği / -oyçokluğu** ile Yüksek Lisans Tezi olarak **kabul** edilmiştir.

Öğretim Üyesi Adı Soyadı

İmzası

Tez Savunma Tarihi : 17.07.2013

1) Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Duygu ALTIOK

2) Jüri Üyesi : Prof. Dr. Şükrü KARATAŞ

3) Jüri Üyesi : Prof. Dr. Kamil BOSTAN

Not: Öğrencinin Tez savunmasında **Başarılı** olması halinde bu form **imzalanacaktır**. Aksi halde geçersizdir.

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Gioacchino dell'AQUILA

ÖNSÖZ

Tez konumun belirlenip yürütülmesinde bana destek olan ve yardımlarını esirgemeyen Değerli Tez Danışmanım Yard. Doç. Dr. Duygu ALTIOK' a, araştırma desteğini sağlayan ve laboratuvar çalışmalarında beni destekleyen İsmail Hakkı TEKİNER' e ve İnci GÖKÇE' ye, bana verdiği ölçülemez desteklerinden ötürü Türkçe Öğretmenim Ayşe Gözde KURTULUŞ'a ve yüksek lisans eğitimim süresince maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen arkadaşlarıma, aileme tüm kalbimle teşekkür ederim.

Gioacchino dell'AQUILA

BAZI TÜRK BAHARAT ÇEŞİTLERİNİN ANTİMİKROBİYAL VE ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ÖZET

Bitkiler ve içerikleri koruma, tatlandırma ve renklendirme amaçlarıyla kullanılmıştır; fakat sadece günümüzde, toplumun üst gelir grubu tarafından yapay katkı maddelerinin terkedilmeye başlanması ile ‘doğal tüketim’ bir eğilim haline gelmiş ve çevre dostu gıda tasarımına başlanmıştır. Buna bağlı olarak, bu çalışma kapsamında incelenen bitkilerin raf ömrünü uzatma, gıdanın toplam kalitesini artırma özelliklerine sahiptir ve sağlığa katkıda bulunan biyo aktif bileşenler içermektedir.

Türkiye, gıda koruma ve tedavi amaçları doğrultusunda yabancı veya üretilmiş bitkilerin kullanılması geleneğine sahiptir. Bu çalışmada kullanılan beş Türk baharatı, Konya ve çevresinde kurulmakta olan yerel pazarlardan temin edilmiştir. Bu baharat çeşitlerinden *Sumak (Rhus coriaria)* ve *Zahter (Thymbra spicata)* numuneleri doğadan toplanmış olup *Kekik (Origanum vulgare)*, *Nane (Mentha spicata)* ve *Reyhan (Ocimum basilicum)* organik yöntemler kullanılarak yetiştirilmiş ve elde edilmiştir.

Baharatın etanol, dimethylsulfoksit ve su ekstraktlarının *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* üzerine antimikrobiyal aktiviteleri Agar Disk Difüzyon yöntemi ile incelenmiş ve *Rhus coriaria*, *Origanum vulgare* ve *Thymbra spicata*'nın öğütülmüş formlarının ve ham ekstraktlarının güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Antioksidan aktivite değerlendirmesinde (Trolox Eşdeğeri Antioksidan Kapasite) yapılan testlerde *Rhus coriaria* ve *Origanum vulgare*'nin en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmüş olup bu aktivitenin baharatın fenolik bileşen ve flavonoid miktarıyla ilişkisi toplam fenol ve flavonoid tayinleriyle belirlenmiştir.

Bu çalışmada, bazı baharat çeşitlerinin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerinin toplam fenol ve flavonoid bileşen miktarıyla ilişkisi ortaya koyulmuştur.

Anahtar kelimeler: *Sumak; Nane; Kekik; Reyhan; Zahter; Antimikrobiyal Aktivite;*

EVALUATION OF ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF SELECTED TURKISH SPICES

ABSTRACT

Herbs and their constituents have been used with preserving, flavouring and colouring purposes, while nowadays modern wealth society is experiencing a trend of 'green consumerism' since the unpopular synthetics have been abandoned and *eco-friendly food* has been designed. In this case the research refers to edible plants since they are able to extend food shelf-life improving its total quality as well as a source of bioactive compounds promoting health.

Turkey has a strong experience of using wild or cultivated plant both for food preserving or healing purposes. Samples of the five Turkish spice used to perform the experiments has been collected from farmer's market in the district of Konya in October 2012. Sumac (*Rhus coriaria*) and Zaater (*Thymbra spicata*) samples have been collected from nature; on the other hand Oregano (*Origanum vulgare*), Mint (*Mentha spicata*) and Basil (*Ocimum basilicum*) have been cultivated and collected using organic methods.

The antimicrobial tests have been carried on Agar Disc Diffusion Assay of crude spice and spice extracts in Ethanol, Dimetilsülfoksit and water on *E. coli* and *S. aureus* demonstrating the impressive bacteriostatic activity of *Rhus coriaria*, *Origanum vulgare* and *Thymbra spicata* crude and plant extracts. The antioxidant assay (Troloks Equivalent Antioxidant Capacity) has shown that *Rhus coriaria* and *Origanum vulgare* held the highest antioxidant activity likely their components are mainly phenolic compounds.

The results of this work demonstrated the relationship between the antioxidant and the antimicrobial activities of the spices to the total phenols and flavonoid content in the vegetable matter.

Key Words: *Spices; Sumac; Mint; Oregano; Basil; Zaater; Antimicrobial Activity;*

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ONAY	i
BEYAN	ii
ÖNSÖZ.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİL LİSTESİ	x
TABLO LİSTESİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR DEĞERLENDİRMESİ	5
2.1 Baharatın Karakteristik Özellikleri	5
2.1.1 <i>Thymbra spicata</i> (Zaater).....	8
2.1.1.1 Taksonomi ve dağılım.....	8
2.1.1.2 Etnobotanik ve tarih.....	9
2.1.1.3 Biyoaktif Bileşenleri.....	9
2.1.2 <i>Rhus coriaria</i> (Sumak)	10
2.1.2.1 Taksonomi ve dağılım.....	10
2.1.2.2 Etnobotanik ve tarih.....	11
2.1.2.3 Biyoaktif bileşenler.....	11
2.1.3 <i>Ocimum basilicum</i> (Reyhan)	12
2.1.3.1. Taksonomi ve dağılım.....	12
2.1.3.2. Etnobotanik ve tarih.....	13
2.1.3.3 Biyoaktif bileşenleri	14
2.1.4 <i>Mentha spicata</i> (Nane)	15
2.1.4.1 Taksonomi ve dağılım.....	15

2.1.4.2 Etnobotanik ve tarih.....	16
2.1.4.3 Biyoaktif bileşenleri	16
2.1.5 Origanum vulgare (Kekik).....	17
2.1.5.1 Taksonomi ve dağılım.....	17
2.1.5.2 Etnobotanik ve tarih.....	18
2.1.5.3 Biyoaktif bileşenleri	18
2.2 Gıdaların baharatla korunması	20
2.2.1 Tarihi	20
2.2.2 Bugünkü yöntemler.....	21
2.2.3 Gıda güvenliği ile ilgili tüketici yeşil bakış açısı.....	23
3. MATERYAL VE METOD	27
3.1 Materyaller	27
3.1.1 Numune Toplama.....	27
3.1.1.1 Örnek hazırlama	27
3.2 Metodlar	28
3.2.1 Agar Disk Difüzyon Yöntemi	28
3.2.1.1 Nutrient Agar Plakaların hazırlanması	28
3.2.1.2 Kültür Aktivasyonu.....	28
3.2.1.3 Disk Difüzyon Yöntemi.....	28
3.2.2 Antioksidan Aktivitenin Değerlendirmeleri.....	31
3.2.2.1 Bitki Özütlerinin Hazırlanması.....	31
3.2.2.2 Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasite.....	31
3.2.2.3 Toplam Fenolik Madde İçeriği (Folin-Ciocalteu Metodu)	32
3.2.2.4 Toplam Flavonoid İçeriği	32
4. BULGULAR VE TARTIŞMALAR	33
4.1 Agar disk difüzyon testi	33
4.2 Antioksidan Aktivite Değerlendirmesi.....	45
4.2.1 Troloks eşdeğer antioksidan kapasite testi.....	45
4.3.2 Toplam fenol içeriği.....	49
4.3.3 Toplam flavonoid içeriği.....	50
5. SONUÇLAR	52

REFERANSLAR.....	53
ÖZGEÇMİŞ.....	60

KISALTMALAR

A	: Baharat karışımı
ADP	: Agar Dökme Plak
AYP	: Agar Yayma Plak
UY	: Uçucu yağlar
GRAS	: Generally Recognized As Safe
K	: <i>Kekik (Origanum vulgare)</i>
mM	: miliMolar
N	: <i>Nane (Mentha spicata)</i>
NA	: Nutrient Agar
R	: <i>Reyhan (Ocimum basilicum)</i>
S	: <i>Sumak (Rhus coriaria)</i>
TEAK	: Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite
Z	: <i>Zaater (Thymbra spicata)</i>

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1: <i>Thymbra spicata</i> çiçek açan başı	8
Şekil 2: <i>Rhus coriaria</i> Meyve Salkımı	10
Şekil 3: <i>Ocimum basilicum</i> yenilenebilir üst kök ve yaprakları	12
Şekil 4: <i>Mentha spicata</i> çiçekli sapı ve Yaprakları.....	15
Şekil 5: <i>Origanum vulgare subs. hirtum</i> çiçekleri başı	17
Şekil 6: Agar plate sürme (swabbing) tekniği	29
Şekil 7: <i>E. coli</i> ve <i>S. aureus</i> üzerinde baharat karışımı tabletleri inhibisyon bölgeleri.....	34
Şekil 8: <i>E. coli</i> ve <i>S. aureus</i> üzerinde <i>Origanum vulgare</i> tabletleri inhibisyon bölgeleri.....	35
Şekil 9: <i>E. coli</i> ve <i>S. aureus</i> üzerinde <i>Thymbra spicata</i> tabletleri inhibisyon bölgeleri.....	35
Şekil 10: <i>E. coli</i> ve <i>S. aureus</i> üzerinde <i>Rhus coriaria</i> tabletleri inhibisyon bölgeleri.....	36
Şekil 11: <i>E. coli</i> ve <i>S. aureus</i> ' a karşı <i>Origanum vulgare</i> ' nin Etanol özütü	41
Şekil 12: <i>E. coli</i> ve <i>S. aureus</i> ' a karşı <i>Thymbra spicata</i> ' nın Etanol özütü.....	42
Şekil 13: <i>E. coli</i> ve <i>S. aureus</i> ' a karşı <i>Rhus coriaria</i> ' nın Etanol özütü	43
Şekil 14: <i>Rhus coriaria</i> absorbans kaybı	45
Şekil 15: <i>Thymbra spicata</i> absorbans kaybı.....	46
Şekil 16: <i>Ocimum basilicum</i> absorban kaybı.....	46
Şekil 17: <i>Origanum vulgare</i> absorban kaybı	47
Şekil 18: <i>Mentha spicata</i> absorban kaybı.....	47
Şekil 19: Troloks absorbans standart eğim	48
Şekil 20: Baharat özleri için Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasite değerleri (µl Troloks Eşdeğeri / 100 g Kuru Ağırlık).....	49
Şekil 21: Bitki özleri için Galik Asit Eşdeğeri Toplam Fenol değerleri.....	50
Şekil 22: Bitki özleri için Kateşin Eşdeğeri Toplam Flavonoid değerleri (mg KE / 100 g Kuru Ağırlık).....	51

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1: Agar Disk Difüzyon yöntemi sonuçları: inhibisyon bölgelerinin çapı (mm)	33
Tablo 2: DMSO ile elde edilen baharat özütlerindeki Agar Disk Difüzyon yöntemi sonuçları: inhibisyon çapı (mm)	37
Tablo 3: Etanol ile elde edilen baharat özütlerindeki Agar Disk Difüzyon yöntemi sonuçları: inhibisyon çapı (mm)	38
Tablo 4: Distile su ile elde edilen baharat özütlerindeki Agar Disk Difüzyon yöntemi sonuçları: inhibisyon çapı (mm)	44
Tablo 5: TEAK değerleri.....	48

1. GİRİŞ

Günümüzde yeni teknolojiler mevcut olmasına rağmen, mikroorganizmalar tarafından kontamine olan gıdaların tüketiminden kaynaklanan gıda kökenli enfeksiyonlar hala dikkate değer orandadır. Bundan dolayı pazarlanan gıdaların güvenli olmasını sağlayan yeni ve güçlü antimikrobiyal ajanların bulunması üzerine çalışmalar yoğunlaşmıştır.

Son yıllarda, sentetik koruyuculara alternatif doğal ya da diğer bir deyişle 'yeşil' koruyucuların geliştirilmesi popülerlik kazanmıştır. Geleneksel olarak tedavi amaçlı kullanılan bazı bitki ve baharatın antimikrobiyal özelliklerinden dolayı hem gıda muhafazası hem de tıbbi amaçlar için kullanımı araştırılmaktadır.

İlaç ve gıda sektöründe, doğal koruyucu maddelerin, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri sayesinde gıdaların raf ömrünü uzatma özellikleri dolayısıyla popüleritesi artmıştır. Antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bilinen ve gıdayı bozulmadan tutabilen ve çok eskiden beri kullanılan birçok bitki ve baharat vardır.

Son yıllarda gıdanın muhafazası konusunda, gıdalardaki kimyasal kalıntıların varlığından dolayı artan bir endişe söz konusudur. Bunun yanında, toksik olmayan doğal koruyuculara olan talep, kimyasalların uzun vadedeki yan etkileri ile ilgili çalışmaların yetersizliğinden dolayı her gün daha da artmaktadır.

Doğa, gıda koruyucu maddeler olarak kullanılabilen biyo-aktif moleküllerin gelişmiş bir kaynağıdır. Bu maddeler bitkinin farklı bölgelerinde bulunabilir ve yaygın olarak, bitkinin en yüksek metabolit konsantrasyonu içeren kısmı 'ilaç' olarak kabul edilir. Örneğin; kakule tohumu, defne yaprağı, çiçek tomurcuklarından karanfil, meyvelerden biber, kabuğundan tarçın, rizomdan (köksap) zencefil vb.

Baharat, yeni lezzette ürünler yaratmak ve keşfetmek için arzulanan gıda maddeleridir. Baharatı araştırmak için yeni yöntemler ve araçlar geliştirirken onların özelliklerini anlamak ve incelemek gıda ürünleri imalatı için kritik faktörlerdir (Madsen ve ark., 2000).

Bir bitkiye nazaran bir baharatın ne olduğunu tanımlamak çok zor olduğundan, baharatın özel bir tanımı yoktur. Birçok baharatın yetişmesi için tropical

veya sub-tropikal iklimler gereklidir. Bitkiler, yumuşak saplı otlardır ve hem taze hem de kurutulmuş halleriyle, yaprakları ve çiçekli dal uçları gıdaları soslamak için kullanılır.

Baharatın kokusu ve tadı kimyasal kompozisyonlarına bağlıdır. Birçok örnekte görülen, tek bir bileşen baharatın karakteristiğini ve özgün kokusunu oluşturmaz, karmaşık bir karışım genel koku kalitesini etkiler. Çoğunlukla baharatın uçucu yağ kısmı işleme sırasında kaybolur. Diğer taraftan, birçok farklı bileşen gıda cevherindeki yağ ve proteinler tarafından tutulur.

Baharat, aroma ve keskinlik (pungency) özelliklerinin yanısıra, baharatın doğal aromasına katkı sağlayan reçine ve yağ gibi pek çok farklı bileşim içerir. Kırmızıbiber, zerdeçal ve safran gibi bazı baharat sadece tat vermekle kalmayıp aynı zamanda gıdaya çekici bir renk de veren bir özelliğe sahiptir.

Küçük miktarlarda tüketilen baharat, yüksek miktarda protein, karbonhidrat, yağ, nişasta, lif, mineral ve farklı vitaminleri içeren sebzelere göre az makro-besin değerlerini içerir. Yine de, baharat tıbbi, antioksidan ve antimikrobiyal etkileri olan ikincil bileşenler sunmaktadır.

Bilhassa, baharat değişken miktarlarda protein, yağ ve karbonhidrat, az miktarda vitamin (örneğin, karoten, tiamin, riboflavin ve niasin) ve organik olmayan elementler (kalsiyum, magnezyum, manganez, fosfor, potasyum, klor, bakır, demir, sodyumve çinko) içerir. Bazı baharat ayrıca yağ asitleri, nişasta, şeker, kolesterol ve lif içerir.

Baharat kullanım oranları, doğal olarak, baharatın yetiştirildiği ülkelerde daha yüksektir. Bitkiler, baharat ve otlardan alınan özler, anti-kanser, antioksidan ve anti-iltihap özellikleriyle insan sağlığını yükseltmekte önemli bir rol oynamaktadır.

Çaylı içeceklerden alınan flavonoidler serbest radikal-temizleyiciler ve antioksidan olma özelliklerine sahiptirler. Kirazlardan ve çaydan alınan antosiyaninler ve flavonoidler iseantialerjik, antiviral, anti-kanserve anti-kanserojen özelliklere sahiptir ve kalp-damar hastalıklarını ve yaşlanmayı engeller (Balentine ve ark.,1999).

Baharattaki bazı bileşenler ayrıca renklendirici, biyoaktif (yani antioksidan ve antimikrobiyal), asit düzenleyici ve tatlandırıcı etkilere sahiptir (Wang ve ark.,2000).

Uçucu yağlar çoğunlukla buhar yoluyla ve soğuk, kuru ve vakum damıtma yöntemleri elde edilmiş baharatın distile parçalarıdır.

Birçok uçucu yağın güçlü antimikrobiyal özelliklere sahip olduğu kabul edilmiş olsa da, baharat, 'çevre dostu tüketim' konusundaki popülaritenin artışından dolayı son zamanlarda bilimsel bir ilgi kazanmıştır. Ancak bu konuda yapılan araştırmalar hala, ürünlerin enerji verimliliği, güvenliği, raf ömrü gibi sayısız fırsatları dikkate almamaktadır.

Baharatın gıda endüstrisinde kullanılmasının geniş bir yelpazede muhtemel hedefleri vardır. Örneğin, pastörize edilmemiş elma suyu üzerinde yapılan bir çalışmada, elma suyunun 1.25 mM karvakrol veya p-simen ile uygulanmasının, 1-2 gün içinde 25 °C ve 4 °C depolama sıcaklığında *E. coli* O157:H7 sayılarını önemli ölçüde azalttığını göstermektedir.

Karvakrolun 0,5 mM'deki etkili konsantrasyonları, onu 0.25 mM simen ile birleştirerek daha da azaltılabilir. Fenolik bileşenler, hem karşı bozulma mayasına hem de *E. coli* O157:H7'e karşı biyosit edilmişti, böylece özellikle soğuk sıcaklıkta saklandığında raf ömrü artırılmış ve pastörize olmayan elma suyunun güvenliği geliştirilmiştir (Kiskò ve ark., 2005).

Baharatın hem bozulma hem de gıda kökenli salgınların önlenmesindeki etkinliği iyice araştırılmalıdır, çünkü daha önceden iyi test edilmiş prosedürlerde gösterildiği gibi, onlar soğuk depolama sıcaklıklarında da verimli olabilir. Ayrıca, baharatın etkinliği, ısı işlemlerin, gıdanın besleyici kalitesini korumadaki ciddi implikasyonlarıyla, hiç zorunlu olmadığı, keza gösterdiği pastörize edilmemiş ve steril edilmemiş gıda ürünlerinde kanıtlanmıştır.

Bilimsel literatürde bitkilerden elde edilen bileşenlerin, bütün olarak ya da onlardan alınan özleriyle, hem eski tıpta kullanıldığına hem de geleneksel gastronomide gıda çürümesini önlemek, raf ömrünü uzatmak ve en sık rastlanan patojenlere ilişkin hastalıkları savmak için kullanıldığına dair kanıt vardır. Ancak baharatın antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerine dair çalışmalar azdır.

Bu çalışmada, Konya bölgesinden temin edilen, sumak, nane, reyhan, kekik ve zahter baharatlarından elde edilen özütler kullanılarak hazırlanan tabletlerin, agar difüzyon yöntemi ile *Escherichia coli* (*E. coli*) ve *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)

mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivitelerinin; Trolox Eşdeğeri Toplam Antioksidan Kapasite, Galik Asit Eşdeğeri Toplam Fenol ve Kateşin Eşdeğeri (Toplam Flavonoid Eşdeğeri) antioksidan özelliklerinin ve biyokoruyucu işlevsellikleri bakımından ham madde inceleme protokollerinin oluşturulması, amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR DEĞERLENDİRMESİ

2.1 Baharatın Karakteristik Özellikleri

Tıbbi ve yenilebilir bitkiler tedavi edici etkileriyle gelişmekte olan ülkelerde geleneksel yaklaşımlarla yoğun olarak kullanılmaktadır (Hashim ve ark., 2010). Gelişmiş ülkelerde ise yeni etken ilaçların geliştirilmesi amacıyla doğal ürünler üzerindeki araştırmalar bilimsel boyut kazanarak doğal bileşenlerin etkileri ortaya çıkarılmıştır. Etno-medikal kullanımlarına dayanarak bitkiler üzerinde araştırmalar yoğunlaşmış, bu etkileri gösteren bileşenlerin kimyasal tanımlamaları yapılarak moleküler boyutta etkileri ortaya çıkarılmaya başlanmıştır (Arora ve ark., 2007). Baharat etno medikal bitkiler arasında önemli bir yer tutmaktadır.

Günümüzde baharat öncelikle günlük hayatta yemek pişirmede kullanılan çeşnilerdir. Fakat eski zamanlarda tat verme yanısıra daha çok tütsü, tahnit koruyucuları, merhem, parfüm, zehirlere karşı panzehir, kozmetik ve ilaç olarak kullanılmışlardır. Ortaçağ Avrupalıları baharatı kısmen çürümüş yiyeceklere lezzet vermek, esans sağlamak ve zararlı kokuları gizlemek için kullanırdı (Erdogan ve ark., 2007). Baharata olan talep, dünya tarihinde önemli bir rol oynayarak Doğu ve Batı ülkeleri arasındaki kültürel etkileşimi arttırmış ve ticaretin başlamasına vesile olan Amerika kıtasının keşfedilmesini tetiklemiştir.

Baharata ilişkin yapılan ilk kayıtlar Mısır'da (MÖ 2600) Piramit Dönemine kadar gitmektedir. Soğanlar, piramitlerin yapımı sırasında, piramitlerde çalışanlara sağlıklarını korumak için şifalı otlar olarak verilmiştir. Bugün çeşni olarak kullanılan baharat ve otlardan, Anason, Kimyon, Cassia (Çin Tarçını), Kışniş, Rezene, Kakule, Soğan, Sarımsak, *Kekik*, Hardal, Susam, Çemen, Safran ve Haşhaş tohumu gibileri ilaç, kozmetik, pişirme ve mumyalamada kullanılmıştır.

Çin'de, Cassia kullanımının ilk özgün kaydı dördüncü yüzyılda Ch'u Ssu'da (Chu için mersiye) bulundu. Büyük filozof Konfüçyüs (M.Ö. 551-479) seçme eserleri içinde zencefil kullanımından söz etmiştir. İndus Vadisi'ndeki kazılar, baharatın ve otların MÖ ilk binyıldan beri kullanılmakta olduğunu göstermektedir.

Antik Yunan'da, baharat ve otlar, yiyeceklerde çeşni olarak ve tıbbi bilimde önemli bir rol oynamıştır. Doğuya ait Biber, Cassia, Tarçın ve Zencefil gibi bazı

baharatı ithal etmişler ve aynı zamanda Anason, Kimyon, Haşhaş tohumu, Maydanoz ve Mercanköşk gibi Akdeniz bölgesinde yetişen, baharat ve otları kullanmışlardır.

"Tıbbın Babası" olarak bilinen Hipokrat (M.Ö 460-377), tıbbi bitkiler ve bunların kullanımı ile ilgili pek çok bilimsel yazı yazmıştır. Bazen "Botaniğin Babası" olarak atıfta bulunulan Yunan filozof ve bilim insanı Theophrastus (M.Ö 327-287), baharat ve otların botanik bilgilerini bir araya getiren '*Kokular Üzerine ve Bitkilerin İncelenmesi*' isimli iki kitap yazmıştır.

Doğu'dan Batı'ya baharat ve diğer bazı malların taşınması, Tütsü Yolu ve İpek Yolu gibi birçok antik ticaret yolları yarattı. Ortaçağ'da baharata olan yüksek talep ve onların maliyeti, Avrupalıların, Doğu'daki baharat yetişen bölgelere gitmek için yeni yollar bulmasını teşvik etti. *Marco Polo, Pedro Cabral, Vasco da Gama, Ferdinando Magellano, Cristoforo Colombo ve Hernando Cortes* baharat ticareti için yeni yollar bulan öncü kişilerdir. Baharatın ülke ekonomilerindeki önemli rolü yeni toprakların keşfi, ülkeler arasında savaşlar ve baharat yetiştiren ülkelerin istila edilmesiyle sonuçlanmıştır.

Baharatın büyük çoğunluğunun Doğu'dan geliyor olmasına rağmen, 'Yeni Dünyanın' (Amerika'nın) keşfinden sonra bazı popüler baharat Avrupa ve Asya'ya tanıtıldı. Biber, tatlı biber, Yenibahar, Annatto, Kakao, Epazote, Sassafras ve Vanilya Aztekler, Mayalar ve İnkalar tarafından hem yiyecek veya içeceklerin lezzetini artırmak hem de tıbbi amaçlar için kullanılmıştır.

Diyet için kullanılan şifalı bitkilerin parçaları geniş bir yelpazede çeşitli biyolojik aktivitelere sahip ham ilaç olarak alınarak kullanılmıştır. Bu ilaçların bazıları yerel kullanımlar için, yerel topluluklar ve halk şifacıları tarafından küçük miktarlarda toplanırken, diğer birçok ham ilaç ise daha büyük miktarlarda toplanarak ve pazarda birçok bitkisel sanayi için hammadde olarak satılmıştır (Uniyal ve ark., 2006).

Geleneksel tıp için kullanılan bitkiler hem bulaşıcı hastalıkları hem de kronik hastalıkları tedavi etmek için kullanılabilir geniş bir yelpazedeki bileşenleri içerir. Klinik mikrobiyologların diyet takviyeleri ya da nutrasetikler olarak tasarlanmış yeni tedaviler için şifalı bitkileri taramaya büyük ilgileri vardır (Periyasami ve ark., 2010).

Bitkilerde bulunan çok sayıda ilacın aktif maddeleri ikincil metabolizmadan

elde edilmektedir. Bitkilerdeki ikincil metabolitler yüksek antioksidan ve antimikrobiyel aktivite göstermektedirler. Bununla birlikte kan şekerini düzenleyici, idrar söktürücü, tansiyonu dengeleyici, kronik kalp problemlerini ortadan kaldırıcı etkileri raporlanmaktadır. Bu etkilerden ikincil metabolitlerden flavonoid gruplarının sorumlu olduğu ortaya konulmuştur. Son zamanlarda yürütülen çalışmalarda antikanserojen etkileri de dikkat çekici bir şekilde vurgulanmaktadır. Bu nedenle bu özlerin antimikrobiyal aktiviteleri çeşitli farklı bileşenlerde bulunabilir.

Yaygın olarak kullanılan antibiyotiklere karşı insan patojenlerindeki ilaç direncinin gelişimi, bitkiler dahil olmak üzere diğer kaynaklardan yeni antimikrobiyal maddelerin araştırılmasını gerektirmiştir. Antimikrobiyal aktiviteler için bitkilerin taranması, hem gıda hem de ilaç sektörü için potansiyel yeni bileşenler bulmak açısından önemlidir.

2.1.1 *Thymbra spicata* (Zaater)



Şekil 1: *Thymbra spicata* çiçek açan başı

2.1.1.1 Taksonomi ve dağılım

Thymbra (Ballıbabagiller) türleri yaygın olarak Akdeniz bölgesinde, Asya ve Kuzey Amerika'da düzenli güneş alan, kuru ve kayalık habitatlarda bulunur. *Thymbra* genellikle aromatik otlar ve çalılardan oluşan yaklaşık 200 türe sahiptir. *Thymbra* türü bitkilerin yapraklı kısımları, geleneksel tıpta çeşitli hastalıkların tedavisinde ilaç olarak kullanılmıştır.

Türkiye'de, (Baydar ve ark., 2004) *Thymbra* iki tür ile temsil edilmektedir. En yaygın olan, bazı Doğu Akdeniz ülkelerinde yabani olarak yetişen ve kurutulmuş yaprakları baharat ve bitkisel çay olarak kullanılan *Thymbra spicata* (*Karakekik*) 'dır.

Bu bitkinin uçucu yağları gıda aroması, likör üretimi, parfümeri ve antimikrobiyal ajanlar olarak kullanılmakla birlikte antiseptik etkileri ilede ilaç sektöründe kullanılmaktadır (Ozkan ve ark., 2003).

2.1.1.2 Etnobotanik ve tarih

Bu bitkinin infüzyonu Akdeniz halk hekimliğinde ağız ülseri, mide ağrısı, baş ağrısı ve diş ağrısı tedavisinde ve boğaz ağrısını yatıştırmak için kullanılır. Bitki odunsu bir çalılık şeklinde yaprakları hafif döner marjları olan mızraklı-eliptiktir. Çiçeklenme gevşek ve genellikle leylak korollalı uzamış başla olur. Bu türün uçucu yağı, halk hekimliğinde antiseptik, tonik, mide yatıştırıcı ve idrar söktürücü olarak kullanılır (Capone ve ark., 2009).

Ayrıca, bazı *Thymbra* bitkilerinin üst kısımları geleneksel tıpta yaygın olarak kas ağrıları, hazımsızlık, kramp, bulantı, ishal ve bulaşıcı hastalıklar gibi birçok hastalığın tedavi edilmesi için kullanılmaktadır. Bunun yanında, yaygın olarak soğuk algınlığı ve bronşitin tedavisi için antibakteriyel olarak uygulanırlar.

Yaprakların *Kekik* tarzında bir tadı vardır ve bakliyat, tuzlu ekme, salamura kurutulmuş zeytin ve sebzelerde baharat olarak kullanılır. Yapraklar ve genç filizler çay yerine kullanılmaktadır. Bunun da tüm bitkisel çaylar arasında en iyi tad olduğu belirtilmektedir.

2.1.1.3 Biyoaktif Bileşenleri

T. spicata' dan elde edilen uçucu yağ, yüksek karvakrol içeriği yanısıra başlıca γ -terpinen ve p-simen uçucu bileşenlerini içermektedir. Ayrıca, uçucu yağ düşük bir oranda mirsen, α -terpinen, bornylacetate, borneol ve timol içerir (Baydar ve ark., 2004). Uçucu yağ kompozisyonunu olan aromatik bitki ve baharatın üretim koşullarına ve eğer ekilmişse arazinin konumlandırmasına oldukça bağlı olduğu açıktır; dahası, hasat zamanının ve işleme ekipmanların da uçucu yağ bileşimini ve verimi üzerinde oldukça büyük bir etkisi vardır.

T. Spicata'nın iki çeşidi farklı yerel isimlerle bilinir ve Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde geleneksel kullanımları vardır. Güney Anadolu'da *T. Spicata* varyasyonu olan *spicata* "Saater" ya da "Zaater" olarak da bilinir. Güneybatı Anadolu'da, *T. Spicata* varyasyonu olan *intricata* "Karaba" ya da "Karakekik" olarak bilinir (Baytop ve ark., 1999). Türkiye'de çok yaygın olarak bulunan *T. Spicata* varyasyonu olan *intricata*, 150-1520 m yüksekliklerde kuru taşlı yerlerde, kayalarda ve kireçtaşı kayalıklarda yetişen 10-40 cm arası çalılardan meydana gelir.

2.1.2 *Rhus coriaria* (Sumak)



Şekil 2: *Rhus coriaria* meyve salkımı

2.1.2.1 Taksonomi ve dağılım

Sumak, 250'den fazla çiçekli bitki türlerini içeren Anacardiaceae'nın bir cinsi (*Rhus*) için kullanılan ortak isimdir. Türkiye'de üç tür ile temsil edilir, bunlardan birisi *R. coriaria*'dır. Bu tür, dünya çapında ılıman tropikal bölgelerde bulunur, fakat genel olarak sumak, tarımsal üretime uygun olmayan bölgelerde yetişebilir.

Rhus coriaria 1-3 m yüksekliğinde çalı veya küçük bir ağaçtır. Yaprakları 9-15 yaprakçığı olan tüy yapraklı (imparipinnate) biçimdedir. Çiçeklenmesi kompakt ve dik salkımlı, küçük çiçekli ve beyaz yeşilimsidir. Meyvesi ise kırmızımsı, kılsı çıkıntılı, (villose) bir tohumlu sert çekirdekli bir meyvedir.

Sumak, yerde yetişen meyvelerin çokça pilav üzerinde kullanıldığı Türkiye ve İran'da çok popüler bir çeşnidir. Taze kesilmiş soğan ile karıştırılarak sıklıkla bir meze olarak da tüketilmektedir.

2.1.2.2 Etnobotanik ve tarih

Rhus glabra geleneksel olarak frengi, bel soğukluğu, dizanteri ve kangren gibi bakteriyel hastalıkların tedavisinde Kuzey Amerika yerli halkları tarafından kullanılmaktadır. Kanarya Adaları boyunca Akdeniz bölgesinde Türkiye, İran ve Afganistan'da yabancı olarak yetişen *Rhus coriaria* yaygın olarak tuz ile kuru meyve öğütülerek yapılan bir baharat olarak kullanılır, ve aynı zamanda Akdeniz ve Orta Doğu'da yaygın biçimde, özellikle yara iyileşmesi için şifalı bir ot olarak kullanılır (Sezik ve ark.,1991).

Bu bitkinin yaprakları tanen, şeker, mumlar ve renk sarı renkte yetişen flavon türevleri (myricetine) içerir. Bunlar mikroorganizmalara karşı derinin korunması için kullanılır. Ağacı; yani "sarı kök" ve "sarı ağaç", uzun süredir deri ve tekstil boyama işinde kullanılmıştır. Ayrıca, *R. coriaria* meyve özleri antiseptik, kabızlık koruyucusu, kan akımını düzenleyici ve sıcaklık düşürücü olarak kullanılabilir.

Türkiye'nin Kahramanmaraş bölgesinde, *R. coriaria* meyvesinden elde edilen sulu özler yiyeceklerde ekşi bir tat üretmek için kullanılmıştır. Ayrıca, bitkinin sulu özleri koyunların tırnaklarında beliren tipik bir hastalık (Aftlar epizootica) virüslerine (*Stomatit aphthosa epizootica*) karşı kullanılmaktadır (Digrak ve ark., 2001).

2.1.2.3 Biyoaktif bileşenler

Bu bitkinin hidrolize tanenler, gallotannins, uçucu yağ, flavonoidler, antosiyanin, gallik asit, myricetin, quercetin ve kaempferol gibi flavonlar, nitrat ve nitrit içeriği, nem, yağ, protein, lif ve kül gibi unsurları içerdiği belirtilmektedir. Sumak yağının en önemli bileşenleri olarak malik, palmitik, stearik, oleik ve linoleik asit bulunur. Bitkide mevcut mineraller olarak; K, P, Si, Br, Al, Cu, S, Cl, Pb, Ti, Ca, Mn, Fe, Zn, Sr, Mg, Ba, Cr, Li, N (Shabbir, 2012) bulunmaktadır.

Sumağın antibakteriyel, hepatoprotektif (Pourahmad ve ark., 2010), anti-fungal, antioksidan, anti-inflammatory/chondroprotective DNA koruyucu (Chakraborty ve ark., 2009) ve anti-iskemik, hücrelerden üretilen vazorelaksanların, vasküler düz kas hücresi göç önleme, hipoglisemik, ksantin oksidaz inhibe ve mutajenik özelliklere sahip olduğu belgelenmiştir.

2.1.3 *Ocimum basilicum* (Reyhan)



Şekil 3: *Ocimum basilicum* yenilebilir üst kök ve yaprakları

2.1.3.1. Taksonomi ve dağılım

Ocimum Asya, Afrika ve Orta ve Güney Amerika'nın tropikal ve sub-tropikal bölgelerinde yetişen cinsi 50-150 arasında ot ve çalı türü içerir. Bununla birlikte, çeşitliliğin en önemli görüldüğü yer Afrika'dır (Paton, 1992). Bu bitkiler kare gövdeli, kokulu ters yapraklı ve başaklı çiçeklenme üzerinde helezonik çiçeklere sahiptir.

Ocimum basilicum genelde 0.3-0.5 metre boyunda yıllık aromatik bir bitkidir, ancak bazı çeşitleri 1 metreye kadar ulaşabilir. Bitki neredeyse tüsüzdür. 'Dark Opal' gibi bazı çeşitlerin yaprakları ve sapları koyu mor renklidir. Yaprakları oval, genelde büzük, beyaz veya pembe çiçeklidir, meyvelerinin ıslakken yapışkan olan dört küçük çekirdeği vardır.

Ocimum basilicum sıklıkla yakından bağlı olduğu *Ocimum africanum* ve *Ocimum americanum* ile karıştırılmaktadır, ancak indumentum (saç dağıtım) ve çiçek büyüklüğünden bunlar tespit edilebilir. Limon kokulu çeşitleri genellikle *O. basilicum* ve *O. africanum* arasındaki kesişme yerlerinin sonucudur.

Reyhan, *Ocimum* cinsine tabii ve Lamiaceae (Labiatae) familyasına ait en eski baharatdan biridir. Farklı türde reyhan yağının distile edildiği *Ocimum basilicum* L. çeşitlerinin botanik isimlendirilmesi karmaşıktır. Bu karmaşıklığın nedeni aynı çeşitler ve bazı durumlarda birkaç belirtmeyle tespit edilen diğer türler (Guenther, 1975) ve bazı çeşitlemelerin karışık olmasından kaynaklanmaktadır.

Bu tür, kendi morfolojisi ve kimyasal içeriği (Lawrence, 1988) açısından büyük farklılıklar ile karakterize edilir. Onun çapraz polinasyon kolaylığı, alt türlerine, çeşitlerine ve formlarına sayısız katkıda bulunur.

2.1.3.2. Etnobotanik ve tarih

Yapraklarından buhar damıtma yoluyla alınan reyhanın uçucu yağları ve tatlımsı üst kısımları, baharat olarak kullanımı yanı sıra, diş ve ağız ürünlerinde, parfümlerde ve ilaçlarda etken bileşen olarak kullanımını mümkün kılmaktadır.

Ocimum basilicum popüler bir mutfak bitkisidir, ve uçucu yağları şekerleme ve fırın ürünlerinde, çeşnilerde (örneğin, ketçap, salça, biber sosu, turşu ve sirke), sosis ve et baharatında, salata düzenlemesinde, alkolsüz içeceklerde, dondurma ve buzlarda uzun yıllardır yaygın olarak kullanılmaktadır. *Ocimum basilicum* yağı, aynı zamanda, diş ve ağız ürünleri ve parfümlerde geniş bir uygulama alanı bulmuştur.

Reyhan, çorbaları ve sosları lezzetlendirmek için kullanılır ve 'Pesto sosun' ana maddesidir. Yaprakları salata olarak yenilebilir. *Ocimum basilicum* ayrıca parfümeride, sabun üretiminde ve likörler lezzetlendirmede kullanılır. Tohumları yenilebilir ve suya batırıldığı zaman yapışkan hale gelir. Akdeniz bölgelerinde şerbet tohumu olarak bilinen serinletici bir içecek olarak da yapılır (Bremmess, 2002).

Ocimum basilicu, Ayurveda ve geleneksel Çin tıbbı gibi geleneksel tıp sistemlerinde yaygın olarak kullanılır. Karın ağrısı ve ishal, böbrek şikayetleri ve enfeksiyonlar gibi sindirim sistemi hastalıkları tedavisi için kullanılır. Afrika'da, örneğin, boğmaca ve çeşitli ateşli hastalıkları tedavi etmek için kullanılır. Yaprakları, Batı Afrika bölgelerinde, kulak ve göz damlası yapmak için toz haline getirilerek özü çıkarılmaktadır. Ayrıca yine yaprakları kaynatılarak öksürük tedavisinde kullanılır.

Elde edilen uçucu yağlarının aynı zamanda, böcek öldürücü nematisital ve fungistatik olan biyolojik aktif bileşenler içerdiği gösterilmiştir. Bu özelliği uçucu

yağında hakim olan bileşiklerin, metil chavicol, eugenol linalol, kafur ve metil sinnamat olmasına bağlanmaktadır.

Ocimum basilicum, geleneksel olarak, baş ağrısı, öksürük, ishal, kabızlık, siğiller, solucanlara, ve böbrek tedavisinde bir tıbbi bitki olarak kullanılmıştır. Aynı zamanda, antispazmodik, gaz giderici, uyarıcı ve böcek kovucu olduğu da düşünülmektedir.

2.1.3.3 Biyoaktif bileşenleri

Reyhandan elde edilen yağlar, özellikle kafur-içeren yağ, antibakteriyel özelliklere sahiptir. Tatlı reyhan tarafından üretilen uçucu bileşenlerin bazı mantar popülasyonlarının bileşimi, dağılımı ve spor çimlenmesini etkilediği gösterilmiştir. *Ocimum basilicum* ve diğer Ballıbabagiller türlerindeki uçucu terpen kafurları ve 1,8-sineol birleşimleri allopatik reaksiyonlarda ajan olarak önerilmiştir (Simon ve ark., 1999).

Yaygın bir bahçe otu olan tatlı reyhan (*Ocimum basilicum* L.) taze bir ot ve kuru baharat olarak ABD' de mutfakta kullanılmak üzere yetiştirilmektedir. Uluslararası ticarete, esas olarak her bir farklı reyhan çeşidinden ve dolayısıyla içeriği ve miktarı farklı kimyasal bileşenlerinden ötürü türetilmiş çeşitli reyhan yağı bulunmaktadır. Ticari yağlar, Avrupa, Fransız, Mısır, Reunion veya Komor ve az olarak Bulgar ve Java reyhan yağı olarak bilinmektedir.

Parfüm, ilaç ve gıda sanayisi reyhan yapraklarından ve çiçeklerinden elde edilen aromatik uçucu yağları kullanır. *O. basilicum* ve *O. sanctum* yağlarının güçlü antimikrobiyal etkilere sahip olduğu gösterilmiş olduğundan, bunların gıda hazırlanmasında potansiyel bir koruyucu olarak kullanılmasını olası kılar. Avrupa tipi tatlı reyhanın, temel olarak linalool ve metil chavicol içermesi bu tipi en kaliteli aromaya sahip tür yapmaktadır.

2.1.4 *Mentha spicata* (Nane)



Şekil 4: *Mentha spicata* çiçekli sapı ve yaprakları

2.1.4.1 Taksonomi ve dağılım

Nane aromatik, neredeyse uzun ömürlü, nadiren yıllık otlardır. Bunların toprak altında ve toprak üstünde genişçe yayılan sapsarı (Aflatuni ve ark., 2005) ve dik, kare, dallı kökleri vardır. Yaprakları genellikle tüylü, boyundan enine doğru mızrak şeklinde, asterik bitimleri olan karşıt çiftler halinde düzenlenmiştir. Yaprak renkleri, koyu yeşil ve gri yeşilden mor, mavi ve bazen de soluk sarı renklerinde değişir.

Çiçekler mor ve beyaz renklerinde ve verticillasters adı verilen suni sarmallar üretir. Taç yaprakları (korolası), her biri eşit dört loblu, üstte kalan lob genelde en geniş olduğu iki ağızlıdır. Meyvesi 1-4 arası tohum içeren küçük kuru bir kapsül

şeklindedir (Tucker ve ark., 2007).

2.1.4.2 Etnobotanik ve tarih

Nane, yaprakları genelde meze olarak servis edilen nane sosu ve jölesi yapmak için kullanılır. Yaprakların şekerlemesi yapılabilir ve aynı zamanda bitki çayları ve buzlu içeceklerini lezzetlendirmek için kullanılabilir. Elma nane yaprakları tüylüdür ve dolayısıyla *Mentha spicata*'ya göre garnitür olarak kullanımı için daha az tercih edilmektedir.

Yaygın bir biçimde saksı ve mutfak bitkisi olarak yetiştirilen nane, her yerde görülmeye müsaittir. Açık toprakta yetiştirildiğinde kontrol altında tutulmalıdır. Taze veya kurutulmuş yaprak yaygın olarak yemeklerde kullanılmaktadır. Muhafazası bir sorun olmadığı zaman taze nane genellikle kuru naneye tercih edilir. Yapraklarının keyifli sıcak, taze, aromatik, tatlı lezzeti vardır. Nane yaprakları çaylar, içecekler, jöle, şuruplar, şeker, ve dondurmalarda kullanılır.

Türkiye'de olduğu gibi Ortadoğu mutfağında da, nane soğuk ve sıcak geleneksel çorbalarda (Mercimek çorbası) ve kuzu yemeklerinde kullanılır, taze yaprakları salata için ortak bir maddedir. Nane, Kuzey Afrika ve Arap ülkelerinde popüler bir çay olan Touareg çayının gerekli bir maddesidir (Ortiz ve ark., 1992).

2.1.4.3 Biyoaktif bileşenleri

Nane aslında karın ve göğüs ağrılarını tedavi etmek için tıbbi bir bitki olarak kullanılmaktadır. Nane uçucu yağından (40-90%) elde edilen mentol birçok kozmetik ürününün ve bazı parfümlerin ana maddesini teşkil eder. Mentol ve nane yağı, aynı zamanda çok sayıda ilaç bileşeni olarak tıpta kullanılır ve aroması çok popülerdir. Mentol tütündeki acı tadı engellediği için, aynı zamanda bir katkı maddesi olarak sigara üretiminde kullanılır ve boğazı yatıştırır.

2.1.5 *Origanum vulgare* (Kekik)



Şekil 5: *Origanum vulgare* subs. *hirtum* çiçekli başı

2.1.5.1 Taksonomi ve dağılım

Origanum vulgare 20-90 cm uzunluğunda büyüyen ağaçsı- sürekli yetişen aromatik bir bitkidir. Yaprakları, kök tarafında ters oval 10-40 mm uzunluğunda ve 5-25 mm genişliğindedir. Yaprakların kenarları düz ya da çok az dişlidir ve yaprak uçları sivri uçlu yapraklardan obtus yapraklara kadar değişir.

Çiçeklenmesi kısa, yoğun, yanal veya terminal sivri grupta çiçekleri içerir. Korolası 4-8 mm uzun, iki ağızlı olan morumsu, beyaz renklidir. Çanak beş dişlidir. Her meyvenin dört küçük çekirdeği (tek-tohumlu birimler) vardır.

Origanum vulgare, tercihen 6.0 ve 8.0 aralığında 6.0 (hafif asit) ve 9.0 (kuvvetli alkalın) arasında pH değeri gerektirdiğinden, yetiştirmek için özel gereksinimler istemektedir. Sıcak ve nispeten kuru iklimleri tercih eder, ancak diğer ortamlarda da yetişir (Peter, 2011).

2.1.5.2 Etnobotanik ve tarih

Kekik, taze yapraklarına göre daha fazla lezzeti olan kuru yapraklarıyla Yunan ve İtalyan mutfağının önemli bir bitkisidir. *Origanum vulgare* ile ilişkilendirilen en yaygın yemek belki de pizzadır. *Origanum vulgare* baharatı ve lezzeti çeşidine, çevre koşullarına (örneğin, iklim ve toprak yapısı gibi) ve hasat zamanına göre değişir.

Origanum vulgare aynı zamanda soğuk algınlığı, hazımsızlık ve mide rahatsızlıklarının tedavisinde geleneksel tıpta kullanılır. *Origanum vulgare* yağı, parfüm, banyo malzemeleri, gıda sektöründe ve aromaterapide katkı maddesi olarak kullanılır.

En sık, kavrulmuş, kızartılmış veya ızgara yapılmış sebze, et ve balık ile birlikte kullanılır. Bu bitki aynı zamanda yaygın olarak Türkiye, Ortadoğu, Yunan, Portekiz, İspanyol, Filipinler ve Latin Amerika mutfaklarında da kullanılır.

Türkiye mutfağında, *Origanum vulgare* daha çok özellikle koyun ve kuzu eti olmak üzere, eti lezzetlendirmek için kullanılır. Yaprakları genellikle salataya lezzet eklemek için birçok balık ya da et barbeküsü ve bazı güveçlere eşlik eden limon-zeytinyağı sosuna eklenir.

Hipokrat, kekiği bir antiseptik olarak, mide ve solunum rahatsızlıkları için bir çare olarak kullandı. Girit kekiği (*O. dictamnus*) hala boğaz ağrısı için bir palyatif olarak Yunanistan'da günümüzde de kullanılmaktadır.

Origanum vulgare fenolik asitler ve flavonoidlerin yüksek miktarda olmasına paralel olarak antioksidan aktivitesi de yüksektir. Ayrıca gıda kaynaklı patojen olan *Listeria monocytogenes*'e karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Faleiro ve ark., 2005).

2.1.5.3 Biyoaktif bileşenleri

Kekik, ana kimyasal bileşenleri karvakrol, timol, limonen, pinen, cimene ve caryophyllenedir. Yaprakları ve çiçekli sapları güçlü bir şekilde, antiseptik, spazm, gaz giderici, cholagogue, terletici, yorgunluk ve ağrı giderici, balgam söktürücü, uyarıcı, etkiler gösterir. *Origanum vulgare* yoğunluğu değişebilir aromatik, sıcak ve hafif acımsı bir tada sahiptir.

Kaliteli *Origanum vulgare* neredeyse dil uyuşturacak kadar yeterince güçlü olabilir, ama soğuk iklimlere adapte olmuş türleri genellikle daha az aroma içerir. İklim, mevsim ve toprak yapısı gibi faktörler mevcut aromatik yağları etkileyebilir ve bu etki bitkilerin çeşitli türleri arasındaki farklardan daha büyük olabilir.

2.2 Gıdaların baharatla korunması

Baharat, gıdalara az miktarda katılmalarına rağmen, aroma ve lezzet değişiminde önemli rol oynamaktadır. İçerdikleri eterik yağlar ve alkaloidlerden dolayı bakterisit etkiye de sahiptirler. İlk önceleri baharat et ve ürünlerinin bozulmasını önlenmesi ve hoş olmayan kokuların maskelenmesi amacıyla kullanılmıştır. Son yüzyıldaki teknolojik gelişmeler ve çeşitli gıda muhafaza tekniklerinin uygulamaya konması baharatın koruma amaçlı kullanımını sınırlandırmıştır. Günümüzde ise, lezzet ve ürün çeşitliliğinin artırılması ve sentetik koruyuculara olan şüpheli yaklaşımlar nedeniyle yeniden kullanımı artmıştır.

2.2.1 Tarihi

Gıda koruması uzun çağlar boyunca insanların gerekli bir ilgi alanı olmuştur. Kısa vadeli gıda muhafaza yöntemleri büyük ölçüde soğukta muhafaza ile yapılırken, uzun vadeli koruma yöntemlerinde ise konserve ya da dondurma yöntemleri ile gerçekleştirilmektedir.

Önceki kültürlerde ise tahılların toplanması, kurutması ve depolanması büyük seramik kaplarda yapılırdı. Avcı-toplayıcı gruplar havayı kurutarak ya da dumanla et ve balıkları tütsüleyerek muhafaza ederlerdi. Aynı zamanda bir koruyucu madde olarak, tuz ve şeker kullanılırdı.

Baharat her zaman gıdanın aroma ve lezzetini artırmak için kullanılmıştır. Baharat; çeşitli bitkilerin tohum, çekirdek, meyve, çiçek, kabuk, kök, yaprak gibi kısımlarının bütün halde ve/veya parçalanması, kurutulması, öğütülmesi ile elde edilen; gıdalara renk, tat, koku ve lezzet verici olarak katılan doğal bileşikler veya bunların karışımıdır. Baharat, gıdalara az miktarda katılmalarına rağmen, aroma ve lezzet değişiminde önemli rol oynamaktadır.

Baharatın farklı özellikleri ve kullanımı antik toplumlarda bile bilinmekteydi. İlk çağlardan beri, gıda ve gıda katkı maddesi olarak kullanılan baharatın ve bileşenlerin, var olduğu bilinen antimikrobiyal etkileri üzerinde bilimsel araştırma sonuçları 19. yüzyıldan itibaren rapor edilmeye başlanmıştır. Gıdaların korunmasında baharatın kullanımı ile ilgili ilk laboratuvar çalışması 1911 yılında Hoffman ve ark. tarafından yapılmıştır. Son yıllarda baharatın gıdalara lezzet verici, bakterisidal,

bakteriostatik, fungostatik, tansiyon düşürücü, antioksidatif, diüretik etkileri ve diğer fonksiyonlar için farklı kullanımları üzerine birçok araştırma yapıldığı görülmektedir.

2.2.2 Bugünkü yöntemler

Birçok gıda ürünleri doğal olarak çürüyebilir ve istenen raf ömrünü sağlamak için hazırlama, depolama ve dağıtım sırasında bozulmadan korunmayı gerektirir. Gıda ürünleri artık daha sık bir şekilde üretim tesislerinden çok uzakta dünyanın çeşitli alanlarında satıldığı için bu ürünler için güvenli uzun raf ömrüne olan ihtiyaç da artmıştır.

Doğal koruyucular, gıda ürünlerinin genel kalitesini artıran, gıdaların raf ömrünü uzatan, patojenik bakterileri inhibe eden veya miktarlarının azaltılmasını sağlayan etken bileşenlerdir.

Bazı bitkisel özlerin, yenilebilir filmlerde ve içeceklerde, bakteri kültürlerinde ve gıda uygulamalarında güçlü antimikrobiyal özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir. Bakteriyosinler yaygın olarak gıda güvenliği ve raf ömrünü artırmak için peynir ürünlerinde ve diğer gıda işlemlerinde kullanılmaktadır. Biyo-koruyucuların popülerliği artmaya devam ederken, tüketiciler, düzenleyici kurumlar ve gıda işlemcileri bu ürünlerin güvenliği, standardizasyon ve etkinliği hakkında güvenilir bilgi istemektedir.

Bir bitkinin tanımı biraz belirsizlik taşır. Bu, bir bitkinin köklerinden, yapraklarından, gövdesinden, meyvesi ya da çekirdeğinden yapılan ürünleri içerebilir. Bu ürünlerden bazıları GRAS (spice) ve bazıları ise değildir. Botanik biyo-koruyucular daha ileri işlendiğinde özellikle, bir şeyin gıda veya besin takviyesi olarak kabul edilebilirliği arasında bulanık yasal çizgiler vardır.

Baharat, fiziksel, sulu çözücü ya da süper kritik gaz çıkarma gibi, çeşitli yöntemler yolu ile hazırlanabilir. Isıtma ve/veya vakum konsantrasyonu yoluyla fiziksel kırma yaygın bir yöntemdir. Konsantre özler, malt dekstrin gibi nötr kuru taşıyıcı üzerine kaplanabilir veya bitkisel yağda seyreltilmiş olabilir.

Bu hazırlığın her bir yöntemi, preparatın içindeki etkin maddeler üzerinde bir etkisi olacaktır. Standardizasyon, bitkilerin birden fazla çeşitleri, yaygın değişken yetiştirme koşulları, hasat zamanı ve yöntemi, bitkinin depolanması veya hazırlanması

gibi unsurların tümü özün içeriğini etkileyebilecek olduğundan biyo-koruyucu kullanmak için çaba gösteren gıda endüstrisi için en büyük meydan okumadır (Draughton, 2003).

Gıda muhafaza süreçlerin geliştirilmesi gıdaların raf ömrünü uzatmak için ortaya çıkan talepler doğrultusunda olmuştur. Gıda koruma gıda bozucu mikroorganizmalar ve gıda patojenlerine karşı sürekli bir muameledir. Isıtma, soğutma ve gıdalara antimikrobiyal bileşiklerin eklenmesi gibi çeşitli gıda muhafaza sistemleri gıda zehirlenmesi salgını riskini azaltmak için kullanılabilir, ancak bu teknikler sıklıkla duyuşal özellikler ve besin kaybında olumsuz değişikliklerle ilişkilendirilir.

Koruma tekniklerinin tek kullanımlık yöntemleri arasında, gıda endüstrisi daha lezzetli, besleyici doğal ve kolay idare edilir, gıda ürünleri için artan tüketici talebi nedeniyle yeni koruma teknikleri yerine geleneksel gıda muhafaza tekniklerini araştırmaktadır. Soğuk dağıtım zincirindeki gelişmeler, bozulabilir gıdaların uluslararası ticaretini mümkün kılmaktadır.

Gıda güvenliği ve gıda kalitesi ile ilgili bir çalışma, bitkisel kaynaklı, hayvansal kaynaklı, mikrobiyal kaynaklı ve su ürünleri için enzim uygulamalarının ve biyo-koruyucuların özelliklerini engel teknolojiye dayalı olarak test etmiştir. Koruma fizibilitesi, düşük sıcaklık korunması ve modifiye atmosfer paketlenme ile kombine edildi ve analiz edildi. Biyo-koruyucu ve diğer teknoloji kombinasyonunun etkili bir şekilde büyük ölçüde su ürünlerinin raf ömrünü uzatmakta olduğu belirtilmiştir (Zhao ve Xie, 2009).

En sık kullanılan, asetik asit, laktik asit, benzoik ve sorbik asit gibi klasik koruyucu maddeler zayıf organik asitlerdir. Bu moleküller, hem bakteri hem de mantar hücrelerinin üremesini barındırır, ve de sorbik asitin bakteriyel sporlarının üremesi ve çimlenmesini engelleyemediği bildirilmiştir.

Gıdalardaki mikrobiyal gelişme, bitki özleri, uçucu yağlar ve koruyucu kültürler (özellikle Laktik Asit Bakterileri LAB) gibi doğal antimikrobiyal ve metabolitleri kullanılarak kontrol edilebilir. Bitki özleri ve uçucu yağlar da minimal işlenmiş gıdalarda istenmeyen mikroorganizmaların kontrol edilmesi için yardımcı olabilir. Antimikrobiyal etkiler üzerine yapılan çalışmalar, 0-2 °C muhafaza edilen

balıklara bitkisel uçucu yağların (*Kekik*) 33 gün boyunca ilave edilmesinin bozulan mikrofloranın sayısında bir azalmaya yol açtığını göstermiştir (Harpaz ark., 2003).

Birçok bakteriyel patojenler tek bir antimikrobiyal faktöre maruz kaldığında hayatta kalabilir ve direnç geliştirebilir, bu yüzden bu sorunu aşmak için, farklı antimikrobiyal aynı hücresel hedef mekanizmalarına göre hareket ettiğinden ve mikroorganizmaların zarar yoğunluğunu arttırdığından, etkin gıda muhafazası için birden fazla antimikrobiyal faktörlerin uygulanması önerilmiştir (Galvez ark., 2007).

2.2.3 Gıda güvenliği ile ilgili tüketici yeşil bakış açısı

Koruyucu terimi, işlenmiş ürünlerde mikrobiyal büyüme ya da herhangi bir arzu edilmeyen kimyasal değişimi engelleyerek bozulmayı önleyen doğal ya da sentetik kimyasal bir madde olarak tanımlanmaktadır. Bu maddeler, mikroorganizmalar tarafından bozulmalarını, renk değişimi veya kirlenmesini geciktirmek için çeşitli ürünlere eklenir. Bunun yerine onların renk, doku, lezzet ve besin değerini korumaya yardımcı olurlar.

Gıda üretiminde, ürünün bütün raf ömrü boyunca güvenlik ve istikrarını sağlamak için uygun önlemlerin alınması çok önemlidir. Özellikle, modern tüketici eğilimleri ve gıda mevzuatı, gıda endüstrisini bu amaca başarılı bir şekilde ulaşılması için uyum sağlayacak yenilikçi etkinlikleri uygulamaya teşvik etmiştir.

Özellikle meyve, et, balık ve sebze alanındaki işlemlerin temiz ve daha az çevresel etkiye sahip olması son derece önemli hale gelmektedir. Çevreye karşı daha güçlü bir sorumluluk geliştirmek için ambalaj, geri dönüşüm, imha ve atık bertaraf yöntemlerinin standart olması gerekir. Böyle bir bağlamda, gıda sektörünün de kendi üretim yöntemleri için yeşil teknolojileri benimsemesi önemlidir. Yeşil üretimin sektöre adaptasyonu, haliyle, pazar gereksinimi, mevcut altyapı ve şirketlerin yatırım profiline bağlı olarak değişebilir.

Başlangıçta tat değiştirmek ya da geliştirmek için eklenen baharat ve otlar antimikrobiyal doğaları nedeniyle raf ömrü de artırabilirler. Bu maddelerin bazılarının, aynı zamanda bulaşıcı organizmalara karşı bitkilerin kendi savunma sistemlerine katkıda bulunduğu bilinmektedir (Kim ve ark., 2001).

Gıda üretim tekniklerindeki modern gelişmelere rağmen, gıda güvenliği

giderek artan önemli bir halk sağlığı sorunudur. Sanayileşmiş ülkelerde insanların 30% kadarı her yıl gıda kaynaklı hastalıklardan mustarip olduğu ve 2000 yılında dünya çapında en az iki milyon kişi ishal hastalığından öldüğü tahmin edilmektedir (WHO, 2002a).

Muhtemelen mevcut olan yöntemler ile kombinasyon şeklinde olacak, gıda kaynaklı patojenlerin azaltılması veya ortadan kaldırılması için yeni yöntemler için hala bir ihtiyaç duyulmaktadır. Aynı zamanda, Batı toplumunun, çevre üzerinde küçük etkisi ile daha az sentetik gıda katkı maddeleri ve ürünlerini talep eden 'yeşil' tüketime dair bir trend yaşadığı görünüyor (Smid ve ark., 1999). Ayrıca, Dünya Sağlık Örgütü zaten kardiyovasküler hastalıkları (WHO, 2002b) azaltmak için dünya çapında tuz tüketiminde bir azalma çağrısında bulunmuştur.

İşlenmiş gıdalarda tuz seviyesi azaltılırsa, diğer katkı maddelerinin gıdaların güvenliğini sağlamak için gerekli olması mümkündür. Doğal ya da 'yeşil' bir imaja sahip güvenli gıda üretmede yeni yöntemler olasılığı bu nedenle vardır. Böyle bir olasılık antibakteriyel maddeler şeklinde kullanılan uçucu yağların (UY) kullanılmasıdır.

Bugünün yaşlanan nüfus ve hızlı tempolu yaşam tarzları olan insanların diyet (yeme alışkanlığı) endişeleri beslenme yetersizliğine ve kronik hastalıklara uzun vadeli önlem sunan, gıdalara bağlı hastalıkları önleyen gıdalara taşınmıştır. Ülkeler şu anda değişen nüfus demografisi ve yaşam tarzı ile ilgili hastalıklardaki artıştan kaynaklanan sağlık sorunları ile karşı karşıyadır. Tüketiciler diyet ve hastalıklar arasındaki ilişkileri anlamada daha bilinçli hale gelmektedir. Diyet bileşenlerinin etkileri hakkında algıları ve bakış açılarını değiştirme gıdaların tüketimini derinden etkileyebilir.

Modern gıda yenilikleri doğrudan ya tüketici talebi veya bilim ve teknolojiye bağlı gelişmelerle ilerler. Bir çok araştırma, sağlık sorunlarının çeşitli risklerini azaltmak için tüm yenilebilir kaynaklardan gıdalarda fizyolojik olarak aktif bileşenlerin belirlenmesi amaçlı olduğu yapılmıştır. En son, gıdalarda basit beslenmenin yanında sağlık faydaları için olan tüketici talebi artıyor. Ayrıca, ticari olarak başarılı olmak için, bu yeni gıdaların sonuçta hala tüketici ihtiyaçlarını karşılaması gerekir.

Gıdalarda olumlu sağlık sonuçları olan fizyolojik aktif bileşenler bitkilerden, hayvan ya da mikrobiyal kaynaklardan gelebilir. Bu bileşenlerin önemli bir kısmı bitkilerden elde edilir. Epidemiyolojik alışmalar meyvelerin düzenli veya artan tkretiminin kronik ve bulaşıcı hastalıklara yakalanma riskini azaltabileceğini göstermektedir (Vattem ve ark., 2005) ve bu sağlık yararların bitkilerin içsel antioksidan ve lif içeriğinden etkili olduğu düşünülmektedir (Scott ve ark., 2008).

İlk olarak, tüketiciler daha kaliteli, koruyucu içermeyen, güvenli ama raf ömrü uzun olan hafif işlenmiş gıdalar talep etmektedir. Örneğin, bu, gıdaların daha yüksek pH değerlerinde korunmuş olması ve sterilizasyon sıcaklıkları yerine hafif-pastörizasyon yoluyla işlenmesi anlamına gelebilir. Asitlik ve sterilizasyon uygulamaları ürünleri korumak sağlamak için yenilikçi yaklaşımlar içeren bu tüketiciler ihtiyaçlarını, *Clostridium botulinum* gibi patojen spor oluşturan bakterilerin denetimi için iki önemli faktördür.

İkinci olarak, mevzuat, farklı gıdalarda şu anda kabul edilmiş koruma maddelerinin kullanımını sınırladı ve bazı kullanma miktarlarına izin verdi. Bu durum, şu anda kullanılan koruyucuların bazılarının mikroorganizmalara olan duyarlılığı düştüğünden sektör için sorun yarattı.

Giderek artan sayıda tüketiciler, kimyasal koruyucu madde olmadan hazırlanan minimal işlenmiş gıdaları tercih etmektedir. Bu hazır yemeklerin ve yeni gıda türlerinin çoğu sağlık riskleri ve bozulma ile ilgili yeni yeni gıda sistemlerini temsil eder. Bu erveye karşı, ve mikrobiyal etkileşimlerin karmaşıklığının daha iyi anlaşılması ve öğrenilmesi bilgisine dayanarak, son yaklaşımlar giderek biyolojik korumanın sunduğu olanaklara yöneliktir.

Oldukça açık bir şekilde, sektördeki en baskın eğilim bugün evre dostu ve daha az atık bırakan üretimdir. Popüler olarak bilindiği şekliyle "Temiz ve Yeşil Trend," bu nedenle de gıda işleme sektöründe giderek zorunluluk haline gelmiştir. Tüketiciler baskısı ve hkmet düzenlemeleri sayesinde, gıda işleme ve paketlemenin, hem üretim süreçleri hem de bertaraf yöntemleri açısından evre dostu olması gerekmektedir.

Günümüzde insanların minimal işlem görmüş, kimyasal katkı kullanılmamış gıdalara yönelmesinden dolayı, baharat ve özütlerinin gıdayı koruma amaçlı

kullanılmalarının önemi oldukça artmıştır. Çabuk bozulabilen nitelikteki gıdaların raf ömrünün doğal katkılarla uzatılabilmesinin büyük önem taşıdığı bilinmektedir. Daha önceleri özellikle koruyucu ve lezzet arttırıcı etkileri nedeniyle gıdalarda baharat kullanımı, gıda teknolojisinin ve koruyucu amaçlı yeni katkı maddelerinin geliştirilmesiyle daha sınırlı hale gelmiş, baharat sadece lezzet ve aromayı zenginleştirmek ve gıdanın görünümünü iyileştirmek amacıyla kullanılmıştır. Gerek kimyasal katkı maddelerinin insan sağlığı üzerine çeşitli zararlarının ortaya çıkması, gerekse baharat niteliğindeki maddelerin faydalarını ortaya koyan çeşitli çalışmalara paralel olarak gıdalarda baharat kullanımı daha büyük önem kazanmıştır.

3. MATERYAL VE METOD

3.1 Materyaller

3.1.1 Numune Toplama

Bu çalışmada analiz edilen beş bitki örnekleri(*Thymbra spicata*, *Rhus coriaria*, *Ocimum basilicum*, *Menthaspicata*ve *Origanum vulgare*) Ekim 2012 yılında Orta Anadolu bölgesinde Konya ilinde bir çiftçi pazarından toplanmıştır. *Rhus coriaria* ve *Thymbraspicata* kültürleri doğadan toplanmışken *Origanum vulgare*, *Ocimum basilicum*, *Mentha spicata* kültürleri organik prosedürler takip edilerek yetiştirilmiş ve hasat edilmiştir.

Her bitki materyali Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognози Anabilim Dalı (Eskişehir, TR) tarafından şu şekilde tespit ve karakterize edilmiştir:

- Fam. Labiatae - *Thymbra spicata*, Zaa'ter
- Fam. Anacardiaceae - *Rhus coriaria*, Sumak
- Fam. Labiatae - *Ocimum basilicum*, Reyhan
- Fam. Labiatae - *Mentha spicata*, Nane
- Fam. Labiatae - *Origanum vulgare* alttür. hirtum, Kekik

3.1.1.1 Örnek hazırlama

Her bitki materyali organik üretim ve hasat yöntemleri nedeniyle doğal olarak meydana gelen yabancı cisimlerden ayrıştırıldı. Daha sonra beş baharatın her biri blender (Waring, İki hızlı blender 7011G) kullanılarak toz haline getirilmiş ve organoleptik ve hijyenik özelliklerini korumak için 4-5 °C' de koyu renk camda şişelerde saklanmıştır.

İdeal bir baharat karışımı hazırlamak amacıyla her bir örnekten 2 g tartılmış ve daha sonra bir öğütme kabı içinde karıştırılmıştır; bu karışımın 0.25 gramı 2 mm yükseklikte ve 10 mm çapında yuvarlak tablet elde etmek için 3 ton el presi ile basılmıştır.

3.2 Metodlar

3.2.1 Agar Disk Difüzyon Yöntemi

3.2.1.1 Nutrient Agar Plakaların hazırlanması

Nutrient Agar (Merck, Parti N° VM185150 036, DE) 20 g/L damıtılmış su ile hazırlanmıştır ve sonra otoklav (Hirayama, Hmclave HV-110 L) ile 121 °C’de 15 dakika sterilize edilmiştir.

Otoklav sterilizasyonu sonrasında, 15 mL Nutrient Agar tek kullanımlık plastik pipet (LP Italiana, Parti N° Q1056D, IT) kullanılarak steril Petri kutularına dökülmüştür. Bu işlem bir UV sterilize mikrobiyolojik güvenlik kabininde (Lab Kültür, Esco Sınıf II, Tip A2) yapılmıştır.

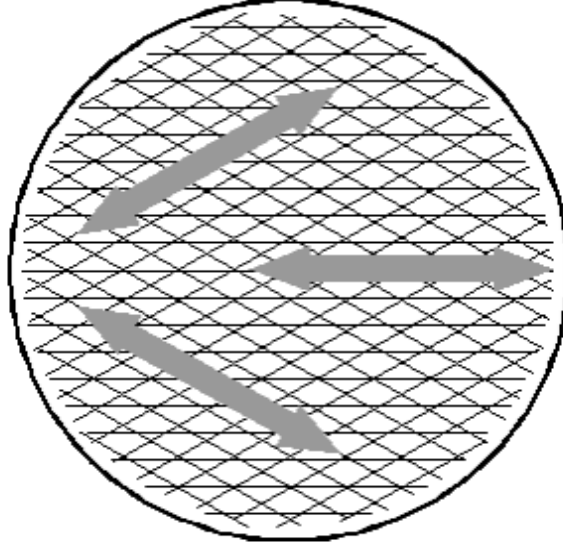
3.2.1.2 Kültür Aktivasyonu

Nutrient Broth distile su içinde bir manyetik karıştırıcı (Velp Scientifica, Manyetik Mikro karıştırıcı) üzerinde çözülmüştür. Çözelti berrak hale gelip hiç artık kalmadıktan sonra, 8 mL’lik çözelti cam test tüpleri içine dökülmüş ve pamuk ile üstü kapatılmıştır. -80°C’de saklanan *Escherichia coli* (NRRL B-3008) ve *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) standart suşları Nutrient Broth (Merck, Parti N° VM229043 107, DE) içerisinde canlandırılmıştır. 37°C’de 24 saat inkübasyon sonrasında kültürden 100 µL alınarak 8 mL’lik taze besiyerine transfer edilmiş ve sub-kültür elde edilmiştir.

Disk difüzyon testinde, eksponansiyel fazda (6-7 h) olan mikroorganizmalar kullanılmıştır.

3.2.1.3 Disk Difüzyon Yöntemi

Disk difüzyon deneyi, beş farklı baharatın ve bunların bir karışımının potansiyel antimikrobiyal aktivitesini test etmek için yapılmıştır. Disk difüzyon yönteminde 100 µL G (+) ve G (-) mikroorganizma kültürü, sırasıyla *Escherichia coli* (NRRL B-3008) ve *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), Nutrient Agar yüzeyine yayma plak yöntemiyle aseptik koşullarda Şekil 6. da görüldüğü gibi yayılmıştır.



Şekil 6: Agar Plate sürme (swabbing) tekniği

3.2.1.3.1 Baharat Tabletleriyle Disk Difüzyon testi

Baharat tabletleri 3 ton el presi ile basılarak elde edilmiştir. Tabletler söz konusu iki mikroorganizmanın agar yüzeyine homojen bir şekilde yayılmasından sonra steril forseps ile agar plakalarının merkezine yerleştirilmiş ve hafifçe agara doğru bastırılmıştır. Deneyler iki paralel olacak şekilde yapılmıştır.

3.2.1.3.2 Baharat Özütleriyle Disk Difüzyon Testi

Çözücü çeşidinin baharattan aktif bileşen ekstraksiyonuna ve dolayısıyla antimikrobiyal aktivite üzerine etkisini incelemek için baharat çeşitleri % 100 DMSO (Merck, Dimetilsulfoxide Parti N° K42088843-120, DE), % 70 etanol (Düzey Lab, Etanol gin: C₂H₆O% 96 Parti N° 64-175, TR) ve distile suda çözülerek ham ekstratlar elde edilmiştir.

Her bir baharat 10 g tartılarak her bir çözücü ile 1:5 oranında (w/v) karıştırılmıştır. Ekstraksiyon işlemi orbital çalkalayıcıda (Ejderha Lab, Orbital Çalkalayıcı SK-330-PRO) 240 rpm'de 48 saat yapılmıştır. Daha sonra, ekstratlar vakum filtrasyon ile süzülüp kullanılmaya kadar koyu renkli cam şişeler içinde

muhafaza edilmiştir.

% 75, % 50, % 25'lik çözücü konsantrasyonlarında elde edilen her bir özüt için aynı seyreltmede çözücü konsantrasyonları hazırlanarak çözücünün seçilen mikroorganizmalar üzerine inhibisyon etkisi araştırılmıştır. İnhibisyon kontrolü için kullanılan diskler filtre kağıdının (Munktell, Kağıt Levhalar 67N Parti N°: A522417) 4 mm çapında yuvarlak şekilde kesilmesiyle elde edilmiştir. Diskler 2 saat için 120 °C'de cam petri kapları içinde kurutma fırınında (Binder, S3 Model Soba) 120 °C'de 2 saat süreyle bekletilerek sterilize edilmiştir.

100%, % 75, % 50, % 25'lik baharat özütlerinin her biri boş disklerle emdirilerek elde edilen diskler Nutrient Agar yüzeyinin dörtte biri üzerine aseptik koşullarda yerleştirilmiştir. Disk difüzyon testi iki paralel çalışılmıştır. Disk difüzyon testinde bileşik belirli bir konsantrasyonda mikroorganizmaya karşı inhibisyon etkisine sahip ise, bu mikroorganizma için bileşiğin minimum inhibisyon konsantrasyonundan daha fazla olduğu yerlerde hiç büyüme görülmeyecektir. Diskin alt yüzeyinde ve çevresinde görülen bu temiz bölgeye inhibisyon bölgesi denir. İnhibisyon bölgesinin büyüklüğü bileşiğin etkinliğinin bir ölçüsüdür yani disk çevresindeki temiz bölge ne kadar daha büyükse, bileşik de daha etkilidir. Diskler nutrient agar yüzeyine yerleştirildikten sonra petri kapları 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda disklerin çevresindeki temiz bölgenin çapı ölçülerek baharat özütlerinin farklı konsantrasyonlarının antimikrobiyal aktiviteleri kıyaslanmıştır.

3.2.2 Antioksidan Aktivitenin Değerlendirmeleri

3.2.2.1 Bitki Özütlerinin Hazırlanması

10 mg baharat örneği 10 mL % 70'lik (v/v) etanol çözeltisi içerisinde orbital çalkalayıcıda (Ejderha Lab, Orbital Çalkalayıcı SK-330-PRO) 240 rpm'de 30 dakika boyunca karıştırılarak ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bitki özütleri vakum altında filtre edildikten sonra koyu renkli cam şişe içerisine konularak test edilinceye kadar saklanmıştır.

3.2.2.2 Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasite

Troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi (TEAK) tayini özütün içerdiği antioksidan özellikte bileşenlerin radikal süpürücü etkilerine dayanan bir metottur. Metotta 7 mM ABTS'in (Sigma Aldrich, (2,2-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-8-sülfonik asit) Parti N° 30931-67-0, DE) 2.45M K₂S₈O₂ (Fluka Chemika, Potasyum peroxidisulfate Parti N° 446720/1 51.403.070, TR) ile reaksiyonu sonucu yükseltgenme ile oluşan ABTS⁺ radikali 734 nm' de UV-spektrofotometre ile tayin edilebilecek bir renk vermektedir. ABTS⁺ radikali etanol ile seyreltilerek başlangıç absorbans değeri 0.70 (±0.02)' ye ayarlanan çözeltiliye uygun seyreltmelerle (kör absorbansını %20-80 arasında inhibe edebilecek konsantrasyonda) ilave edilen özütün yarattığı renk kaybı kinetik ölçümle izlenerek troloks ile oluşturulan kalibrasyon eğrisi ile kıyaslandığında antioksidan kapasitesi troloks eşdeğeri cinsinden tespit edilmiş olur. (Wojdylo ve ark., 2007)

Baharat özütlerinin ABTS⁺ radikali ile etkileşerek 6 dakika boyunca dakikada bir kaydedilen absorbans değerindeki azalma, yani renk kaybı, troloksun etkisiyle kıyaslanarak sonuçlar TEAK (Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasite) cinsinden ifade edilmiştir.

Yüzde inhibisyon, aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$TEAK = \frac{S_{sample} * Dilution\ factor}{S_{trolox} * Mw * C * 10^4}$$

3.2.2.3 Toplam Fenolik Madde İçeriği (Folin-Ciocalteu Metodu)

Bitki özütlerinin toplam fenolik madde içeriği Folin-Ciocalteu yöntemiyle tespit edilmiştir. Analizde 0.5 ml bitki özütü 1.25 ml günlük hazırlanan 20% 'lik sodyum karbonat (Balmuncu Kimya, Sodyum Karbonat Parti N° 207-838-8, TR) zltisi ile karıştırıldıktan sonra 0.5 ml 1N Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich, Folin-Ciocalteu Parti N° 026K0008, DE) zltisi ilave edilerek karanlık ortamda 40 dakika reaksiyona bırakılmıştır. Reaksiyon sonucunda fenolik bileşenlerden dolayı oluşan renk yoğunluğu 725 nm' de UV-spektrofotometrede absorbans değerleri okunarak tespit edilmiştir. Toplam fenol değeri gallik asit ile oluşturulan kalibrasyon eğrisi ile kıyaslanarak gallik asit cinsinden ifade edilmiştir.

3.2.2.4 Toplam Flavonoid İçeriği

Baharat özütlerinin toplam flavonoid içeriği baharat özütü numunesinin 0.25 mL'sinin 1.25 mL distile su ve günlük hazırlanmış 75 µl % 5'lik NaNO₂ (Merck, Sodyum Nitrit Parti N° A0248344115, DE) solüsyonu ile karıştırıldıktan sonra 6 dakika boyunca oda koşullarında karanlık ortamda reaksiyonuyla tespit edilmiştir. Reaksiyon tamamlandıktan sonra, 150 µL % 10'luk AlCl₃ zltisi (Merck, alüminyum klorid Parti N° S6038181, DE) eklenerek 5 dakika ilave bekleme süresi sonrası 0.5 mL 1 M' lik NaOH zltisi ve 275 µl distile su eklenerek karıştırılmıştır. Tüm karışım vortekslendikten sonra 510 nm de UV-spektrofotometre ile absorbansı kaydedilmif ve kateşin ile oluşturulan kalibrasyon eğrisi ile kıyaslanarak kateşin cinsinden ifade edilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMALAR

4.1 Agar disk difüzyon testi

Baharatın antimikrobiyal aktivitesini test etmek amacıyla pres ile hazırlanan 12 mm çapında (0.25 g) baharat tabletleri daha önceden iki mikroorganizma ile (*E. coli* - Gram negatif ve *S. aureus* - Gram pozitif) aşılınmış agar plaka yüzeyine yerleştirildi. Agar Disk Difüzyon yönteminin sonuçları 37 °C'de 24 saat inkübasyondan sonra baharat tableti etrafında inhibisyon bölgesinin çapı (mm cinsinden) ölçülerek kaydedilmiştir.

Paralel olarak yapılan deneyin sonuçları Tablo 1'de listelenmiştir:

Tablo 1: Agar Disk Difüzyon yöntemi sonuçları : İnhibisyon bölgesinin çapı (mm)

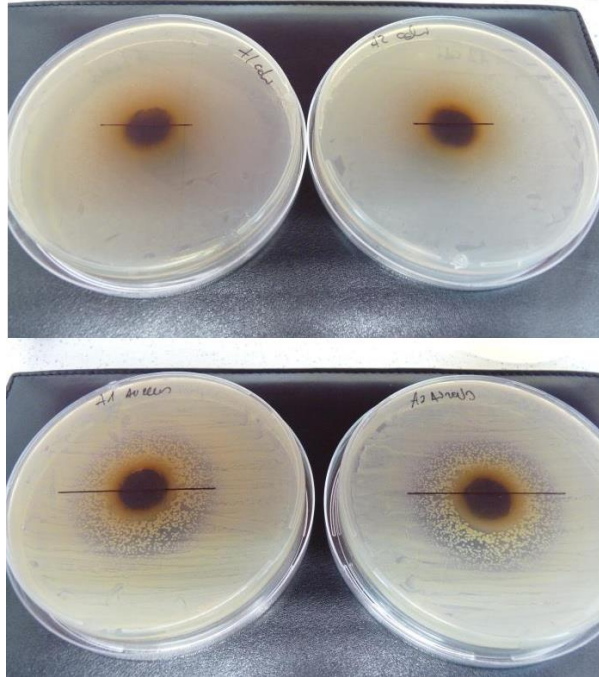
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Kontrol	+	+
A1	10	4
A2	12	6
R1	10	8
R2	8	10
Z1	17	16
Z2	14	13
N1	13	11
N2	13	11
S1	18	15
S2	20	18
K1	28	36
K2	28	35

(Tablet çapı 12 mm, toplam değerden çıkarılmıştır)

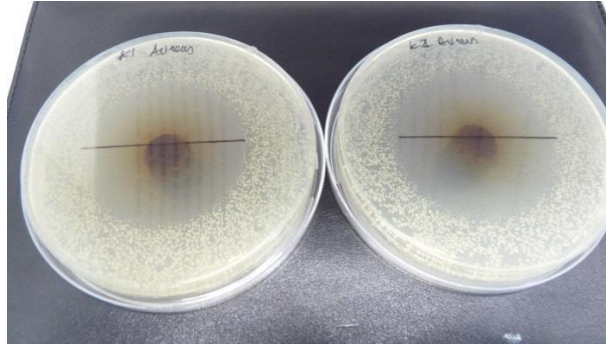
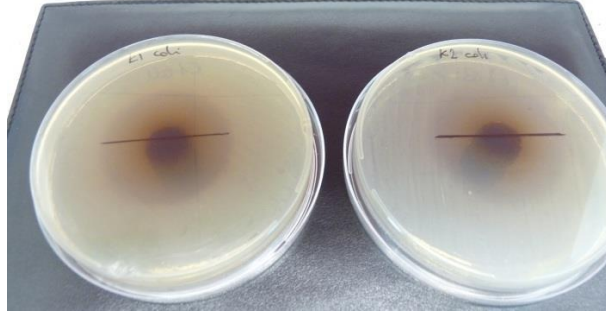
Baharat tableti agar plaka üzerine yerleştirildiğinde tablet agardan su emmeye başlar ve bununla birlikte baharat içerisindeki antimikrobiyal bileşikler

tabletin alt yüzeyindeki ve çevresindeki agara difüzyonla dağılmaya başlar. Agar yüzeyindeki antimikrobiyal bileşik konsantrasyonu tablete yakın bölgelerde yüksek olup, tableten uzaklaştıkça giderek azalmaktadır. (Jorgensen ve Turnridge, 2007).

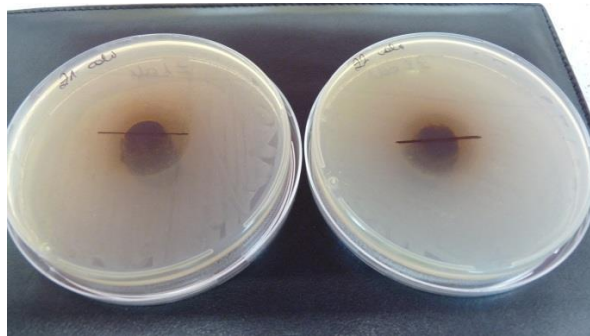
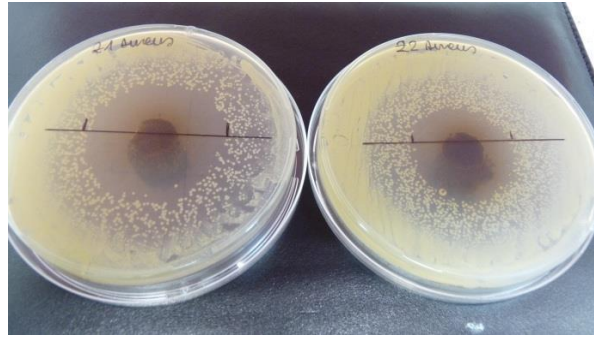
Deneyin paralel sonuçları baharatın güçlü antimikrobiyal aktivitelerini göstermektedir. *S. aureus* üzerinde en geniş inhibisyonu bölgesi *Origanum vulgare* (28 mm), *Rhus coriaria* (18-20 mm) ve *Thymbra spicata* (14-17 mm) tabletlerinde ortaya çıkmaktadır. *Ocimum basilicum* ve *Mentha spicata* örneklerinin de sırasıyla 9 mm ve 13 mm inhibisyon bölgeleri ile antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. *E. coli* üzerinde ise özellikle *Origanum vulgare* (35-36 mm), *Rhus coriaria* (15-18 mm) ve *Thymbra spicata* (13-16 mm) örnekleri, güçlü antimikrobiyal aktivite bulguları ortaya koymuştur. Agar ile antimikrobiyal bileşiklerinin difüzyon oranı kullanılan agarın difüzyon ve çözünürlük özellikleri ve antimikrobiyal moleküllerin ağırlığına bağlıdır. Büyük moleküllerin düşük molekül ağırlıklı bileşiklere göre daha yavaş bir oranda dağılacağı bilinmektedir (Hudzicki, 2009). Baharat tabletlerinin antimikrobiyal aktivitelerini gösteren inhibisyon bölgelerinin çapları Şekil 7-10.daki fotoğraflarda görülmektedir:



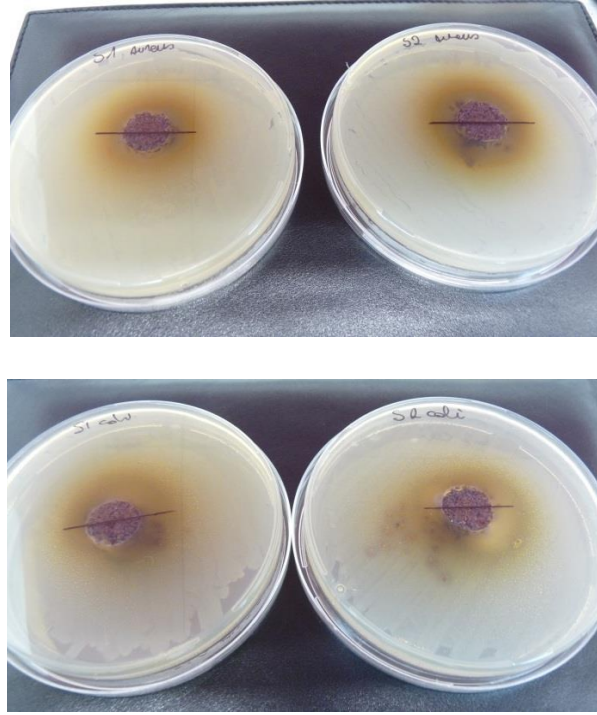
Şekil 7: E. coli ve S. aureus üzerinde baharat karışımı tabletleri inhibisyon bölgeleri



Şekil 8: E. coli ve S. aureus üzerinde Origanum vulgare tabletleri inhibisyon bölgeleri



Şekil 9: E. coli ve S. aureus üzerinde Thymbra apicata tabletleri inhibisyon bölgeleri



Şekil 10: E. coli ve S. aureus üzerinde Rhus coriaria tabletleri inhibisyon bölgeleri

Bu çalışmada *Rhus coriaria* (Sumak), *Origanum vulgare* (Kekik), *Thymbra spicata* (Zahter), *Ocimum basilicum* (Reyhan) ve *Mentha spicata* (Nane) gibi baharatın ve bunların etanol, dimetilsülfoksit ve su ile ekstraksiyonuyla elde edilen özütlerinin antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. Suyla ekstraksiyonda elde edilen özütler genellikle etkisiz iken *Rhus coriaria*, *Origanum vulgare* ve *Thymbra spicata*'nın etanol ve dimetilsülfoksit ile elde edilen özütlerinin test edilen her iki mikroorganizmaya karşı en güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Dimetilsülfoksit ile elde edilen baharat özütleri için elde edilen sonuçlar Tablo 2'de gösterilmiştir:

Tablo 2: DMSO ile elde edilen baharat özütlerindeki Agar Disk Difüzyon yöntemi sonuçları: inhibisyon çapı (mm)

% Özüt	<i>S. aureus</i>				<i>E. coli</i>			
	100	75	50	25	100	75	50	25
DMSO inhibisyonu	-	-	-	-	-	-	-	-
K	13	13	10	9	15	14	8	8
R	12	11	11	10	12	12	11	11
Z	14	13	12	12	13	12	9	9
N	13	12	11	11	12.5	12	12	12
S	16	15	12	11	15	14	13	12

Baharat özütünün elde edildiği konsantrasyondaki DMSO çözeltisinin yöntemde kullanılan mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkisinin olup olmadığı bu konsantrasyondaki çözücüye emdirilmiş boş diskle yapılan disk difüzyon testiyle incelenmiş ve inhibisyon etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Böylece, inhibisyon bölgelerinin baharatın antimikrobiyal bileşenlerinden kaynaklandığı ispatlanmıştır.

Baharat özütünün tüm seyreltme oranlarında testte kullanılan mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite tespit edilmiştir. Ancak en aktif özüt % 100'de *S. aureus* üzerinde inhibisyon bölgesinde 5 mm fark gösteren *Rhus coriaria* oldu. *Origanum vulgare* özütü inhibisyon bölgelerinin çapları, 100 % özüt ve 25 % özüt inhibisyon bölgeleri arasında belirgin bir fark (7 mm) ile en büyük olarak kaydedilmiştir.

Thymbra spicata özütleri % 100 ve % 75'lik konsantrasyonlarında test edilen mikroorganizmalara karşı daha aktif oldukları belirlendi. *Ocimum basilicum* ve *Mentha spicata*'nın seyreltilmiş özütlerinde konsantrasyona bağlı anlamlı bir fark

gözenmiştir.

Beş baharat özütü benzer şekilde % 70'lik etanol çözeltisi içinde de elde edilmiştir. DMSO gibi etanolün de farklı konsantrasyonlarda inhibisyon etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Etanol ile elde edilen baharat özütleri için elde edilen sonuçlar Tablo 3'te gösterilmiştir:

Tablo 3: Etanol ile elde edilen baharat özütlerindeki Agar Disk Difüzyon yöntemi sonuçları: inhibisyon çapı (mm)

% Özüt	<i>S. aureus</i>				<i>E. coli</i>			
	100	75	50	25	100	75	50	25
<i>Etanol inhibisyonu</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
K	17	12	11	9	17	10.5	10	9
R	10	-	-	-	-	-	-	-
Z	12	-	-	-	11.5	9	-	-
N	10	-	-	-	-	-	-	-
S	15	10	10	7	15	14	13	12

Baharat özütünün tüm seyreltme oranlarında testte kullanılan mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite tespit edilmiştir. Ancak en aktif özüt % 100'de *S. aureus* üzerinde inhibisyon bölgesinde 8 mm fark gösteren *Rhus coriaria* ve *Origanum vulgare* oldu.

Aynı zamanda, *Thymbra spicata* özütü % 100 ve % 75'lik konsantrasyonlarında *E. coli* üzerinde etkiliyken % 75 ve daha düşük konsantrasyonlarında *S. aureus* üzerinde antimikrobiyal aktivitesinin olmadığı görülmüştür.

Gıda muhafazasıyla ilgili son çalışmalar, bitki özütleriyle gıdaların raf ömrünün arttırılmasına dair dikkate değer sonuçlar sunmaktadır. Bitki özütlerinin antimikrobiyal aktivitelerinin karvakrol ve timol gibi fenolik bileşikler tarafından

oluşturulduğu görülmüştür (Seydim ve Sarıkuş, 2006). Bu bileşikler hidrofobik özelliklere sahiptir ve mikrobiyal hücrenin farklı kısımlarıyla (örneğin hücre duvarı ve sitoplazmik membran) olan etkileşim hücre bileşenleri kaybına, membran yapısının çöküşüne ve hücre ölümüne neden olmaktadır (Burt, 2004).

Bilimsel literatürde uçucu yağ ve aktif bileşenlerin içeriği ve bitkilerin değişkenliği gibi nedenlerden dolayı ham baharat antimikrobiyal aktivite değerlendirmeleri ilgili çalışmalar az bulunmakta, değerlendirmeler özellikle bileşenlerle ilgili yapılmaktadır. Örneğin, karvakrol ve timol en yaygın olarak araştırılmış olan bileşenlerdir ve bunlar bu çalışmada test edilen bitkilerde bulunan bileşenlerdir. Bunlar *Origanum vulgare* ve *Thymbra spicata*'nın temel bileşenleridir ve bu bileşenler, 0.03 ve %0.06'da *E. coli* O157:H7 karşı 25 °C depolamada inhibitör (engelleme) aktivite göstermiştir (Hammou ve ark., 2011).

Daha sonraki çalışmalarda, 1/50 ve 1/100 konsantrasyonda *Thymbra spicata* (özellikle % 75.5 karvakrol ihtiva eden) uçucu yağı, *E. coli* ve *S. aureus*, dahil olmak üzere çeşitli bakterilere karşı bir engelleme özellik göstermiştir. Timol ve karvakrol sinerjizmi ve diğer güçlü antioksidanlar araştırılmıştır ve aynı konsantrasyonlarda tek başına sorbik asitten daha fazla engelleme özellik sergilemiştir (Akgul ve Kıvanç, 1988). Bir çalışmada karvakrol ve timol, gıda kaynaklı patojenik bakterilere karşı antagonistik aktivite göstermiştir (Baydar ark., 2004). Karvakrol, c-terpinen ve p-simen içeriği en yüksek yabancı *Kekik* üst kısımlarından (*Origanum minutiflorum*, Türkiye'de yaygın) gelen karakterize uçucu yağlar *Kekik* (*Origanum vulgare*), *Karakekik* (*Thymbra spicata*) ve yabancı *Satureja cuneifolia*'da bulunmakta olup bu bitkilerin *E. coli* ve *S. aureus* gibi test edilen tüm bakterilerin büyümesinde engelleme olduğu bildirilmiştir.

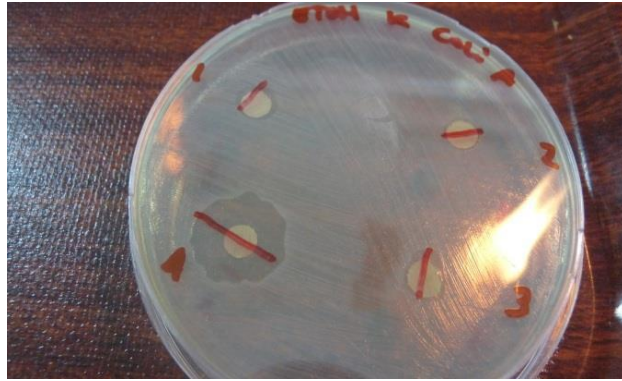
Diğer bir çalışmada *Kekik* özütü ve hidrosolünün küf, maya ve bakterilere karşı engelleme olduğu tespit edilmiştir (Sagdic ve Özcan, 2004) ve diğer bazı araştırmacılar *Origanum vulgare*'nin maya ve küflenmeyi engelleme olduğunu bildirdiler (Sokovic ve ark., 2002). Bu da bitki özlerinin gıda sistemlerinde kullanılma potansiyelinin daha geniş olduğu umidini vermektedir.

Türkiye'deki *Rhus coriaria* meyvesinin alkol özütlerinin test edilen Gram-pozitif bakterilere karşı, Gram-negatif bakterilere nazaran daha hassas olmak üzere

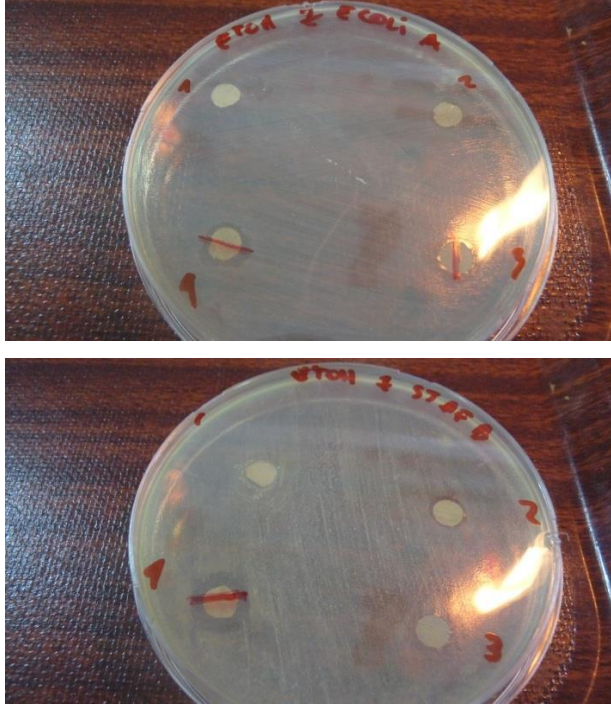
farklı inhibitör özelliklerini gösterdikleri rapor edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar Suriye *Sumak* meyve özü için benzer bir eğilim ortaya çıkarmıştır (NasarAbbas ve ark., 2004).

Bu çalışmada test edilen mikroorganizmalara karşı *Rhus coriaria* özünün gösterdiği antimikrobiyal aktivite Gram pozitif ve Gram negatif mikroorganizmaların büyümesini engelleyen ve literatürde bildirilen diğer baharatla kıyaslanabilmektedir (Ahmad ve ark., 2001).

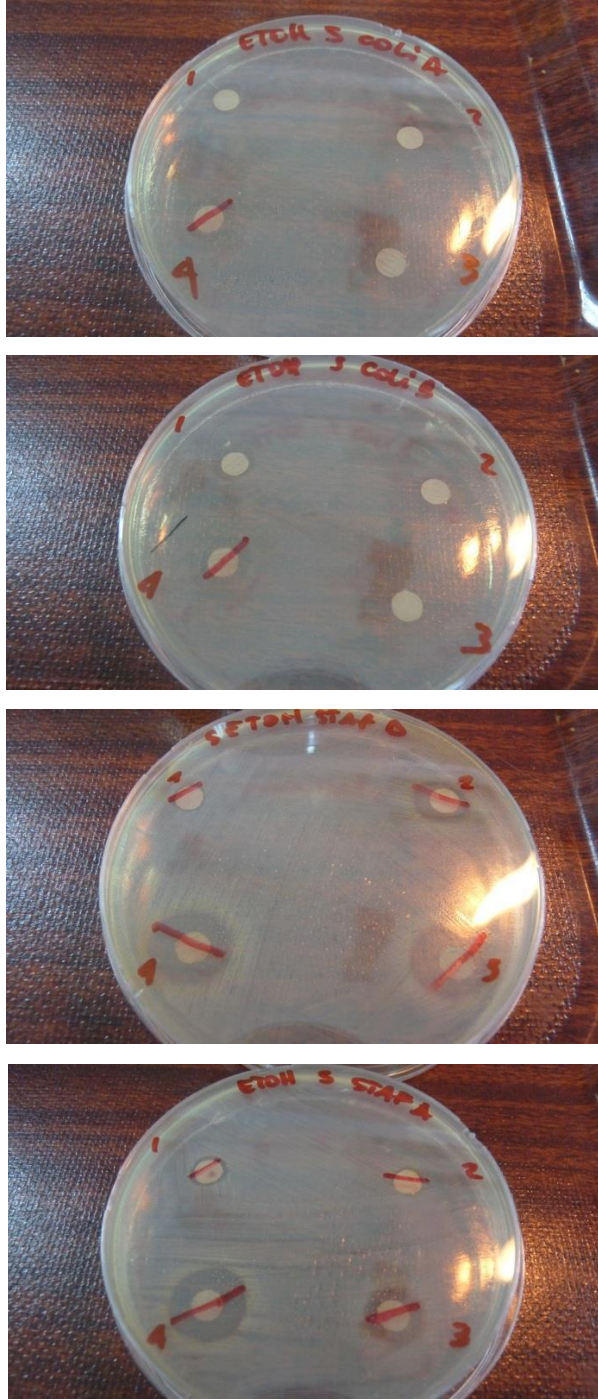
Etanol ile elde edilen baharat özütlerinin antimikrobiyal aktivitelerini gösteren inhibisyon bölgelerinin çapları Şekil 11-13'teki fotoğraflarda görülmektedir:



Şekil 11: *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı *Origanum vulgare*'nin etanol özütü



Şekil 12: *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı *Thymbra spicata*'nın etanol özütü



Şekil 13: E. coli ve S. aureus'a karşı Rhus coriaria'nın etanol özütü

Baharatın sıcak su özlerinin sonuçları kaydedilmiş ve Tablo 4'te listelenmiştir. Distile su ile yapılan ekstraksiyonla elde edilen baharat özütlerinin herhangi bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olmadığı belirlenmiştir. Bu da baharattaki antimikrobiyal bileşiklerin ekstraksiyon sırasında suya geçmediğini göstermektedir.

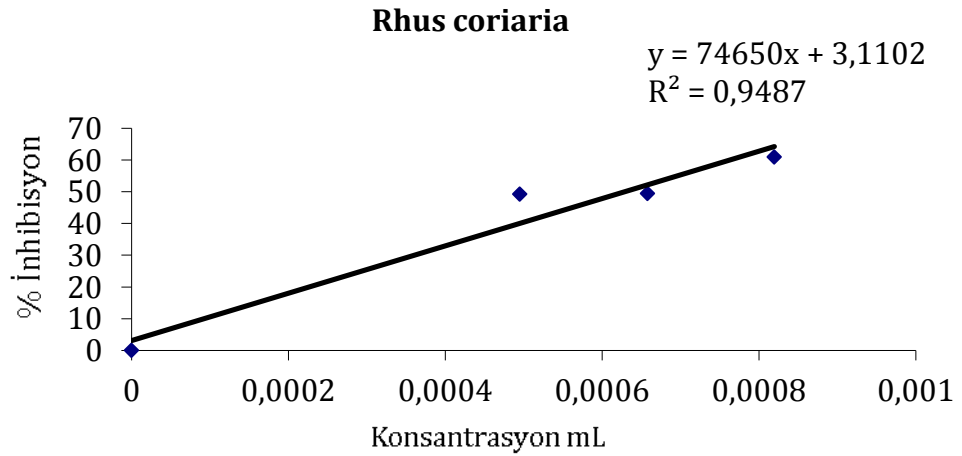
Tablo 4: Distile su ile elde edilen baharat özütlerindeki Agar Disk Difüzyon yöntemi sonuçları: inhibisyon çapı (mm)

% Özüt	<i>S. aureus</i>				<i>E. coli</i>			
	100	75	50	25	100	75	50	25
<i>Etanol inhibisyonu</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
K	-	-	-	-	-	-	-	-
R	-	-	-	-	-	-	-	-
Z	-	-	-	-	-	-	-	-
N	-	-	-	-	-	-	-	-
S	-	-	-	-	-	-	-	-

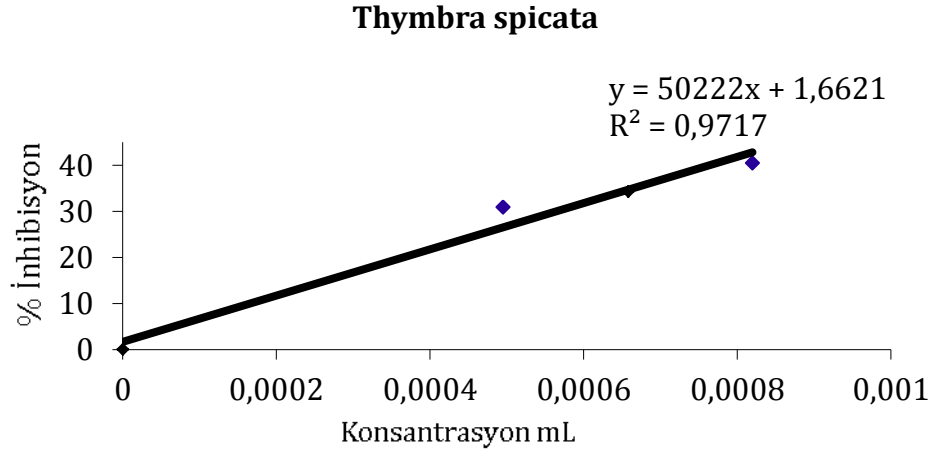
4.2 Antioksidan Aktivite Değerlendirmesi

4.2.1 Troloks eşdeğer antioksidan kapasite testi

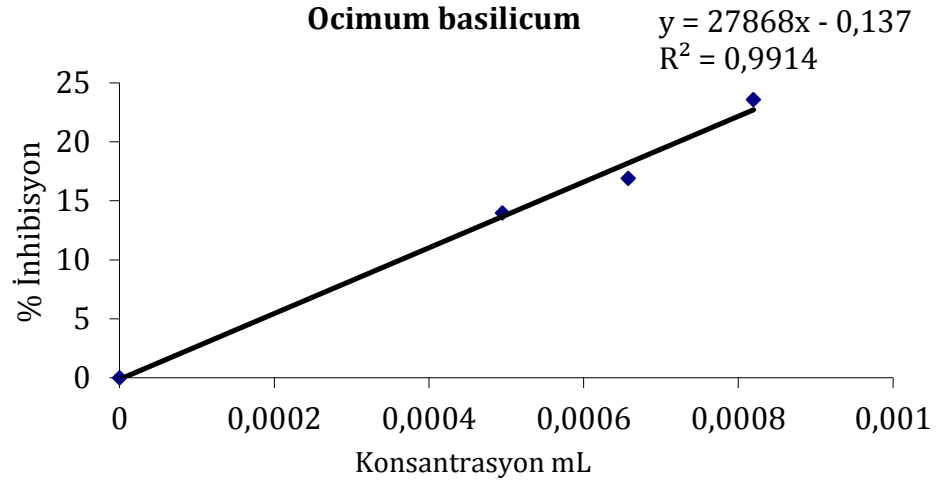
Etanol ile elde edilen baharat özütlerinin antioksidan aktivitesi özütlerin içerisinde bulunan ve antioksidan aktivite gösteren bileşenlerin ABTS⁺ radikalini indirgeyerek UV-spektrofotometre ile 6 dakika içerisinde bir dakikalık aralıklarda oluşan absorbans kaybının kaydedilmesiyle belirlenmiştir. Tüm deneyler farklı özüt konsantrasyonlarında paralel olarak yapılmış ve konsantrasyona karşı absorbans grafiği çizilerek grafiğin eğimi hesaplanmıştır. Grafiğin eğiminin troloksun % inhibisyon grafiğinin eğimine oranıyla baharatın antioksidan aktivitesi TEAK cinsinden ifade edilmiştir. Baharat ztlerine ait % inhibisyon grafikleri Şekil 14-18'de verilmiştir.



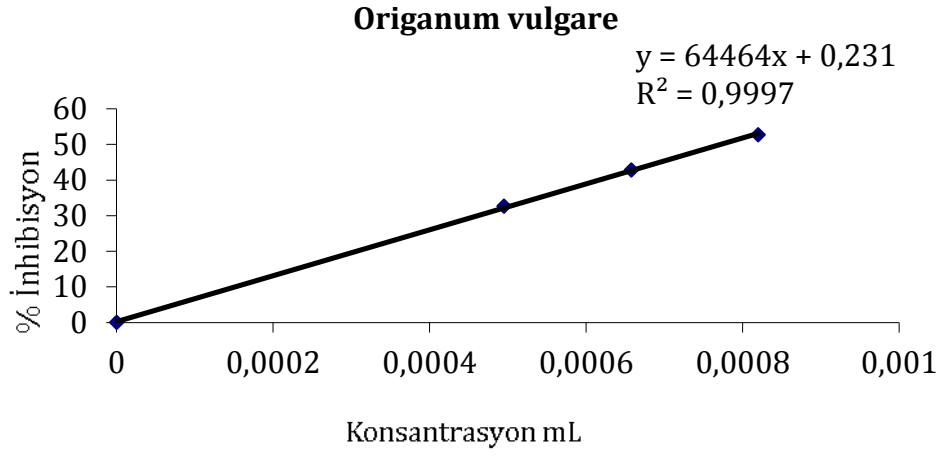
Şekil 14: Rhus coriaria absorbans kaybı



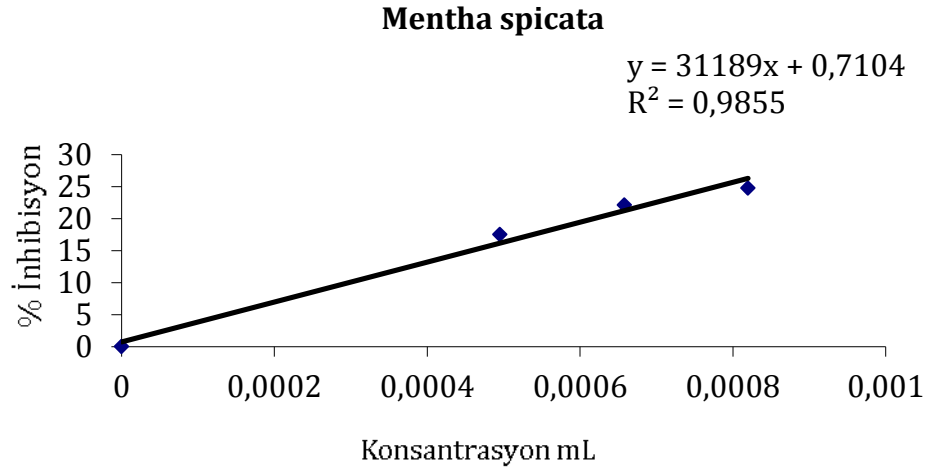
Şekil 15: Thymbra spicata absorbans kaybı



Şekil 16: Ocimum basilicum absorbans kaybı

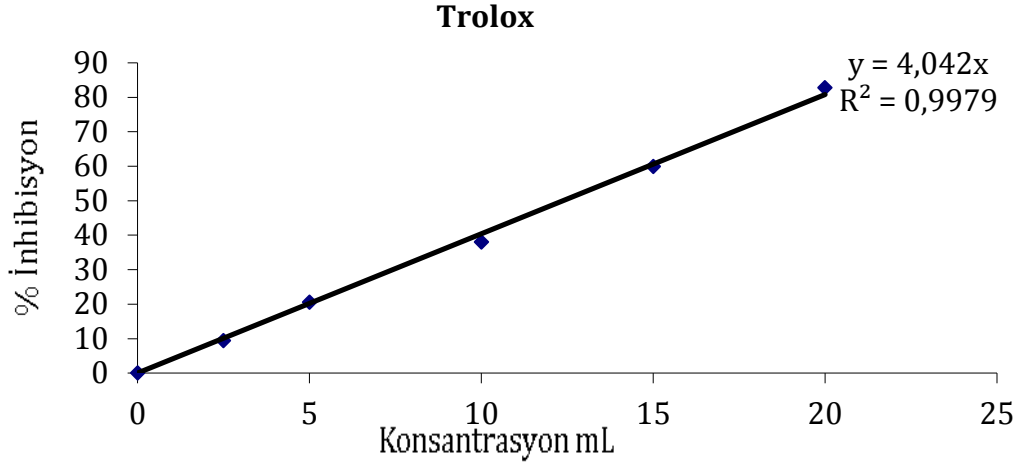


Şekil 137: Origanum vulgare absorbans kaybı



Şekil 148: Mentha spicata absorbans kaybı

Troloks eşdeğer antioksidan kapasite (TEAK) değerleri farklı konsantrasyonda test edilmiş baharat etanol özütleri oranları aynı konsantrasyonda Troloks inhibisyon oranlarıyla (Vit. E analog bir antioksidan) ilişkilendirerek elde edilmiştir. Troloks standart inhibisyonu eğimi ise Şekil 19 'de gösterilmiştir, nihai TEAK değerleri Tablo 5 ve Şekil 20'de gösterilmiştir:



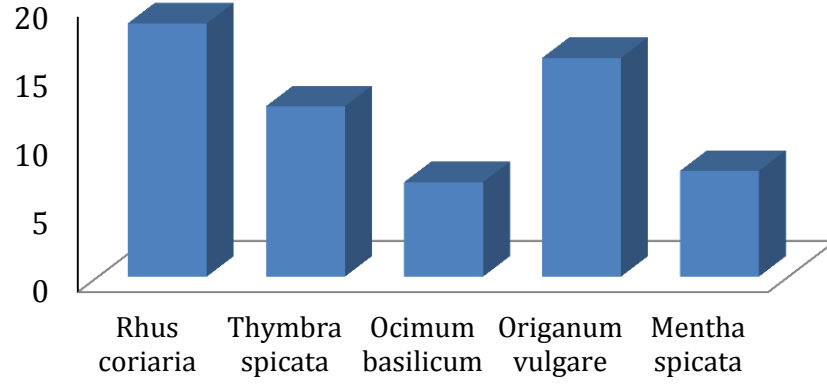
Şekil 19: Troloks absorbans standart eğim

Tablo 5: TEAK değerleri

**Troloks Eşdeğeri Antioksidan
Kapasite değerleri (TEAK)**

<i>R. coriaria</i>	18,50
<i>T. spicata</i>	12,45
<i>O. basilicum</i>	6,90
<i>O. vulgare</i>	15,95
<i>M. spicata</i>	7,80

Trolox Eşdeğeri Antioksidan Kapasite



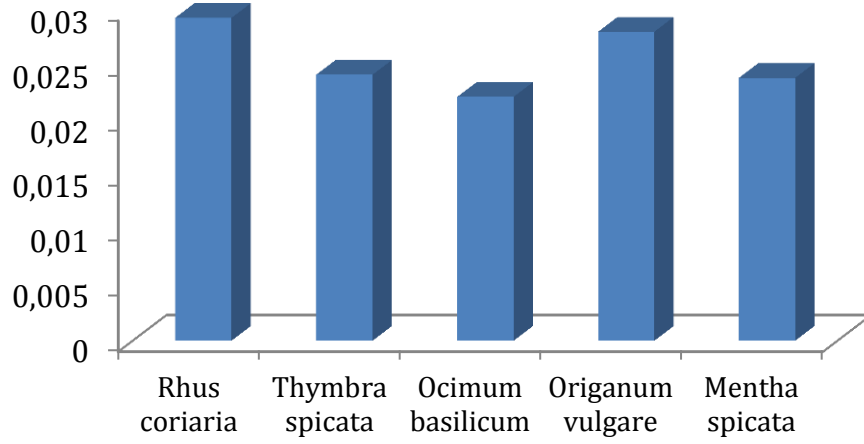
Şekil 20: Baharat özleri için Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite değerleri (µL Troloks Eşdeğeri /100 g kuru ağırlık)

4.3.2 Toplam fenol içeriği

Galik asit standart absorbans eğrisi standart olarak alınarak aynı konsantrasyonda okunmuş baharat özütlerinin absorbansına bölünüp galik asit eşdeğeri cinsinden baharat özütlerinin toplam fenol içeriği hesaplanmıştır. Baharat özütlerinin troloks eşdeğeri antioksidan kapasite değerleri ile bir denge bulunmuştur ve bunlarda görülen aktivitenin fenolik bileşenleri dolayısıyla gerçekleştiği ispatlanmıştır. Araştırmada kullanılan baharatdan en aktif olanların *Sumak* ve *Kekik* olduğu kanıtlanmıştır.

Baharat ekstrelerinin toplam fenolik değerlendirmesinin sonuçları Galik asit eşdeğeri olarak Şekil 21’de gösterilmiştir:

Gallik Asit Eşdeğeri Toplam Fenol



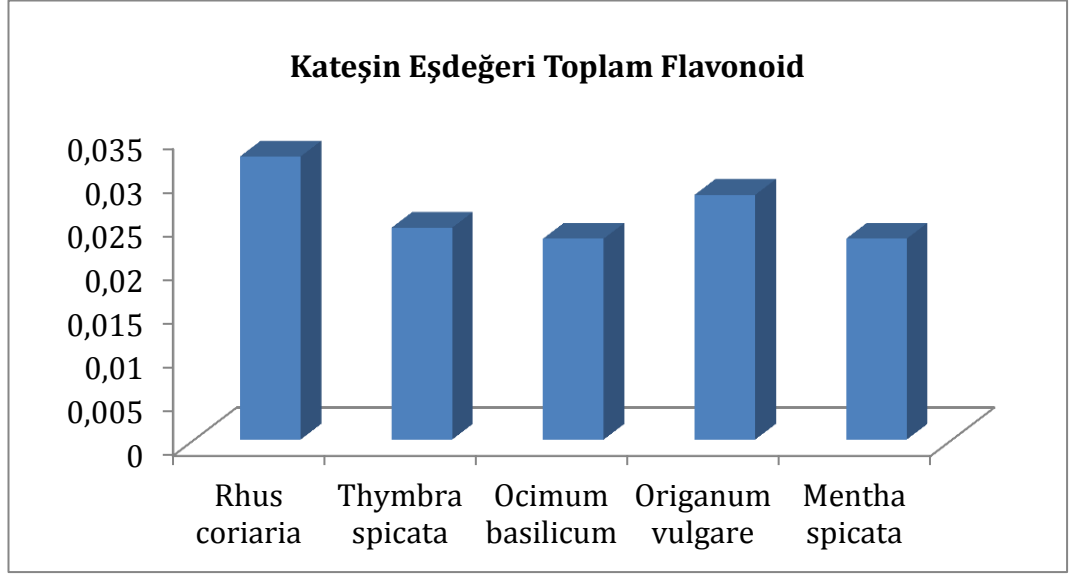
Şekil 21: Bitki özleri için Galik Asit Eşdeğeri Toplam Fenol değerleri

(mg Gallik Asit Eşdeğeri /100 g kuru ağırlık)

4.3.3 Toplam flavonoid içeriği

Baharat özütlerinin galik asit eşdeğeri toplam fenolik değerlendirilmesinin sonuçlarının altını çizmek için aynı konsantrasyondaki özüt ile kateşin standart absorbans değerleri karşılaştırılarak toplam flavonoidler içeriğini saptamak için bu metot kullanılmıştır.

Bir önceki galik asit eşdeğeri saptamasında olduğu gibi en yüksek flavonoid bileşenleri içeren *Sumak* ve *Kekik* baharatının sırasıyla sayısal değerleri 0.032 mg/100 gr ve 0.027 mg/ 100 gr olarak belirlenmiştir. Kateşin standart absorbans eğrisi standart olarak alınarak aynı konsantrasyonda okunmuş baharat özütlerinin absorbansına bölünüp kateşin eşdeğeri cinsinden baharat özütlerinin toplam flavonoid içeriği hesaplanmıştır ve Şekil 22’de gösterilmiştir:



Şekil 152: Bitki özleri için Kateşin Eşdeğeri Toplam Flavonoid değerleri (mg KE/100 g kuru ağırlık)

Baharat özütlerinin antioksidan aktivitesine ilişkin bütün saptamalara göre fenolik bileşenlerinin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerinin sorumluluğunda olduğunu kanıtlamaktadır çünkü troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi değerleri aynı baharat numunesinde elde edilmiştir ve aynı zamanda bunların en güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu görülmüştür.

5. SONUÇLAR

Son yıllarda sağlık ve beslenme konularında tüketicilerin farkındalığı artmıştır. Bu da bilim adamlarını doğal gıda koruyucuları üzerine çalışmaya sevk etmiştir. Baharatın antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerinin uygun önlemler alınarak mikrobiyolojik kaliteyi sağlamak için gıda koruma sistemlerine dâhil edilmesi önemli bir faktör olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte, baharatın ve diğer antimikrobiyal bileşenlerin kombinasyonu, gıda raf ömrünü ve gıda güvenliğini arttırabilir. Baharatın GRAS olarak kabul edilmesi nedeniyle onların antimikrobiyal özellikleri gıda koruma sistemlerine eklenebilecek uygun alternatifler olabilir. Fakat baharatın veya türevlerinin gıdalar için koruyucu madde olarak kullanılmadan önce mikrobiyolojik kalitesinin, ekonomik fizibilitesinin, antimikrobiyal, antioksidan ve toksik etkilerinin değerlendirilmesi gerekmektedir.

Bu çalışma ile bazı baharat çeşitlerinin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerinin toplam fenol ve flavonoid bileşen miktarıyla ilişkisi ortaya konulmuştur. Ancak ülkemizde yetişen diğer baharat türlerinin de bu özelliklerinin ve kombine kullanımlarının getirebileceği potansiyel sinerjistik etkinin incelenmesi baharatın daha bilinçli tüketimini ve yeni fonksiyonel gıdaların geliştirilebilmesini sağlayacaktır.

REFERANSLAR

- Aflatuni, A.; Uusitalo, J.; Ek, S.; Hohtola, A. Variation In The Amount Of Yield And In The Extract Composition Between Conventionally Produced And Micropropagated Peppermint And Spearmint. *Journal Of Essential Oil Res.*, **2005**, 17(1), 66-70.
- Ahmad, I.; Beg, A.Z. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. *Journal of Ethnopharmacology*, **2001**, 74, 113–123.
- Akgul, A.; Kivanc, M. Inhibitory Effects Of Selected Turkish Spices And Oregano Components On Some Foodborne Fungi. *International Journal Of Food Microbiology*, **1988** 6(3), 263-268.
- Arora, D.S.; Kaur, G.J. Antibacterial Activity Of Some Indian Medicinal Plants. *Journal Of Natural Medicine*, **2007**, 61, 313-317.
- Balentine, D.A.; Albano, M.C.; Nair, M.G. Role Of Medicinal Plants, Herbs And Spices In Protecting Human Health. *Nutrition Review*, **1999**, 57(9), 541-545.
- Baydar, H.; Sagdic, O.; Ozkan, G.; Karadogan, T. Antibacterial Activity And Composition Of Essential Oils From Origanum, Thymbra And Satureja Species With Commercial Importance In Turkey. *Food Control.*, **2004**, 9(3), 169-174.
- Baytop, T. Türkiye'de Bitkilerle Tedavi, Geçmişte Ve Bugün. *Nobel TIP Kitabevleri*, **1999**, pp. 480.
- Billing, J.; Sherman, P.W. Antimicrobial Functions Of Spices: Why Some Like It Hot. *The Quarterly Review of Biology*, **1998**, 73(1), 3-49.

- Bremmess, L. **2002**. *Erbe. Fabbri Editori*, Milano.
- Burt, S. Essential Oils: Their Antibacterial Properties And Potential Applications In Foods - A Review. *International Journal Of Food Microbiology*, **2004**, 94(3), 223-258.
- Capone, W.; Mascia, C.; Spanedda, L.; Chiappini, M. Chemical Composition And Antibacterial Activity Of The Essential Oil From Sardinian Satureja Thymbra. *Fitoterapia*, **2009**, 51(1), 10-12.
- Chakraborty, A.; Ferk, F.; Simic, T.; Brantner, A.; Dusinska, M.; Kundi, M.; Hoelzl, C.; Nersesyan, A.; Knasmuller, S. DNA-Protective Effects Of Sumak (*Rhus coriaria* L.), A Common Spice: Results Of Human And Animal Studies. *Mutation Research*, **2009**, 661(1-2), 10-17.
- Digrak, M.; Almaz, M.H.; Icimi, A. Antibacterial And Antifungal Activities Of Turkish Medicinal Plants. *Journal Of Pharmaceutical Biology*, **2001**, 39(5), 346-350.
- Draughton, F.A. The Use Of Botanicals As Bioactive Protectants For Foods. Dept. Of Food Science & Technology, University Of Tennessee. *IFT Annual Meeting*, **2003**, Chicago.
- Erdogan, C.; Fung, D.Y. Antimicrobial Activity Of Spices. *Journal Of Rapid Methods & Automation In Microbiology*, **2007**, 12(1), 1-55.
- Faleiro, L.; Miguel, G.; Gomes, S.; Costa, S.; Venancio, F.; Teixeira, A.; Figueredo, A.C.; Barroso, J.G.; Pedro, L.G. Antibacterial And Antioxidant Activities Of Essential Oils Isolated From *Thymbra capitata* L. (Cav.) And *Origanum vulgare* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2005**, 200553(21), 8162–8168.

- Galvez, H.; Abriouel, R.L.; López, N.B. Bacteriocin-Based Strategies For Food Biopreservation. *International Journal Of Food Microbiology*, **2007**, 120(1-2), 51-70.
- Guenther, E. The Essential Oils. *Krieger Publishing Company*, **1975**, 3, 12-13.
- Harpaz, S.; Glatman, L.; Drabkin, V.; Gelman, A. Effects Of Herbal Essential Oils Used To Extend The Shelf Life Of Freshwater-Reared Asian Sea Bass Fish (*Lates Calcarifer*). *Journal Of Food Protection*, **2003**, 66(3), 410-417(8).
- Hashim, H.; Kamali, E.L.; Mohammed, Y. Antibacterial Activity And Phytochemical Screening Of Ethanolic Extracts Obtained From Selected Sudanese Medicinal Plants. *Current Research Journal Of Biological Science*, **2010**, 2(2), 143-146.
- Hudzicki, J. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. *American Society For Microbiology*, **2009**.
- Jorgensen, J.H.; Turnidge, J.D. Susceptibility Test Methods: Dilution And Disk Diffusion Methods. In P.R. Murray, E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.L. Landry, M.A. Tenover (Ed.), *Manual Of Clinical Microbiology*, 9th Ed. ASM Press, **2007**, Washington, D.C.
- Kim, H.Y.; Lee, Y.J.; Hong, K.H.; Kwon, Y.K.; Sim, K.C.; Lee, J.Y.; Cho, H.Y.; Kim, I.S.; Han, S.B.; Lee, C.W.; Shin, I.S.; Cho, J.S. Isolation Of Antimicrobial Substances From Natural Products And Their Preservative Effects. *Food Science And Biotechnology*, **2001**, 10(1), 59-71.
- Kiskò, G.; Roller, S. Carvacrol And P-Cymene Inactivate *Escherichia coli* O157:H7 In Apple Juice. *BMC Microbiology*, **2005**, 5, 36.
- Lawrence, B.M. A Further Examination Of The Variation Of *Ocimum basilicum* L.

In: Lawrence, B.M.; Mookherjee, B.D.; Willis, B.J. eds. Flavors and fragrances: a world perspective. Proceedings of the 10th International Congress of Essential Oils, Washington DC. *Elsevier Science Publishers*, **1988**, pp. 161-170.

Madsen, M.G.; Grypa, R.D. Spices, Flavour Systems, The Electronic Nose. *Food Technology*, **2000**, 54(3), 44-46.

Nasar-Abbas, S.M.; Halkman, A.K.; Al-Haq, M.I. Inhibition of some food-borne bacteria by alcohol extract of sumac (*Rhus coriaria* L.). *Journal of Food Safety*, **2004**, 24, 257-267.

Oke, F.; Aslim, B.; Ozturk, S.; Altundag, S. Essential Oil Composition, Antimicrobial And Antioxidant Activities Of *Satureja cuneifolia* Ten. *Food Chemistry*, **2009**, 112(4), 874-879.

Ortiz, E. The Encyclopedia Of Herbs, Spices & Flavorings. London, *Dorling Kindersley*. **1992**, pp. 36-37.

Özkan, G.; Sağdıç, O.; Özcan, M. Inhibition Of Pathogenic Bacteria By Essential Oils At Different Concentrations. *Food Science and Technology*, **2003**, 9(2), 85-88.

Paton, A. A Synopsis Of *Ocimum* L. (Labiatae) In Africa. *Kew Bulletin*, **1992**, 47(3), 404-435.

Periyasamy, A.; Mahalingam, K. Phytochemical Screening And Antimicrobial Activity From Five Indian Medicinal Plants Against Human Pathogens. *Middle-East Journal Of Science Research*, **2010**, 5(6), 477-482.

Peter, K.V. Growth Habit of Wild Oregano Populations. In: Peter, K.V.; Handbook of

Herbs and Spices, Vol. 2, (Ed). *Woodhead Publishing*, Abington, USA. **2004**, pp. 219.

Pourahmad, J.; Eskandari, M.R.; Shakibaei, R.; Kamalinejad, M. A Search For Hepatoprotective Activity Of Aqueous Extract Of *Rhus coriaria* L. Against Oxidative Stress Cytotoxicity. *Food and Chemical Toxicology*, **2010**, 48(3), 854-858.

Sagdic, O.; Ozcan, M. Antibacterial Activity Of Turkish Spice Hydrosols. *Food Control*, **2004**, 14, 141-143.

Scott, K.P.; Duncan, S.H.; Flint, H.J. Dietary Fibre And The Gut Microbiota. *Nutrition Bulletin*, **2008**, 33(3), 201-211.

Seydim, A.C.; Saricus, G. Antimicrobial Activity Of Whey Protein Based Edible Films Incorporated With Oregano, Rosemary And Garlic Essential Oils. *Food Research International*, **2006**, 39(5), 639-644.

Sezik, E.; Tabata, M.; Yesilada, E. Traditional Medicine In Turkey. 1. Folk Medicine In Northeast Anatolia. *Journal of Ethnopharmacology*, **1991**, 35(2), 191-196.

Shabbir, A. *Rhus coriaria* L. A Plant Of Medicinal, Nutritional And Industrial Importance: A Review. *Journal of Animal and Plant Science*, **2012**, 22(2), 505.

Shelef, L.A. Antimicrobial Effects Of Spices. *Journal Of Food Safety*, **1983**, 6(1), 29-44.

Simon, J.E.; Morales, M.R.; Phippen, W.B.; Vieira, R.F.; Hao, Z. Basil: A Source Of Aroma Compounds And A Popular Culinary And Ornamental Herb. Perspectives On New Crops And New Uses. Alexandria, VA. *ASHS Press*,

1999, pp. 499-505.

Smid, E.J.; Gorris, L.G.M. Natural Antimicrobials For Food Preservation. In: Rahman M.S.; (Ed) *Handbook Of Food Preservation*, New York, 1999, pp. 285-308.

Sokovic, M.; Tzakou, O.; Pitarokili, D.; Couladis, M. Antifungal Activities Of Selected Aromatic Plants Growing Wild In Greece. *Food/Nahrung*, 2002, 46(5), 317-320.

Starling, S. Fruit Dons 'Healthy' Halo. *Functional Foods & Nutraceuticals*, 2005, 6, 6.

Tayel, A.A.; El-Tras, W.E. Plant Extracts As Potent Biopreservatives For Salmonella Thyphimurium Control And Quality Enhancement In Ground Beef. *Journal Of Food Safety*, 2012, 32(1), 115-121.

Tucker, A.O.; Naczi, R.F.C. Mentha: An Overview Of Its Classification And Relationships. In Lawrence, B.M.; Mint: The Genus Mentha. *Taylor And Francis Group*, Boca Raton, FL. 2007, Cap. 1, pp. 3-41.

Uniyal, S.K.; Singh, K.N.; Jamwal, P.; Lal, B. Traditional Use Of Medicinal Plants Among The Tribal Communities Of Chhota Bhangal. *Western Himalayan Journal Of Ethnobiology And Ethnomedicine*, 2006, 10, 2-14.

Vattem, D.A.; Ghaedian, R.; Shetty, K. Enhancing Health Benefits Of Berries Through Phenolic Antioxidant Enrichment: Focus On Cranberry. *Asia Pac Journal of Clinical Nutrition*, 2005, 14(2) 120-130.

Wang, M.; Kikizaki, H.; Zhu, N.; Sang, S.; Nakatani, N.; HO, C. Isolation And Structural Elucidation Of Two New Glycosides From Sage (*Salvia officinalis*

L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2000**, 48(2), 235-238.

WHO, Food Safety And Food Borne Illness. *World Health Organization*, **2002a**, Fact Sheet 237, Geneva.

WHO, World Health Report: Reducing Risks, Promoting Healthy Life. *World Health Organization*, **2002b**, Geneva.

Wojdylo, A.; Oszmianski J.; Czemeryz, R. Antioxidant Activity And Phenolic Compounds In 32 Selected Herbs. *Food Chemistry*, **2007**, 105(3), 940–949.

Zhao, H.; Xie, J. Application Of Bio-Preservative On Preservation For Aquatic Products. *Journal Of Jilin Agricultural Science*, **2009**.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Ad / Soyad	Gioacchino dell'AQUILA
Adres	Aşıklar Meydanı Sok. Yahyakahya Mah. Beyoğlu - İstanbul
Telefon	0536 975 34 77
E-posta	desigiste@gmail.com
Uyruk	İtalyan
Doğum tarihi	20.11.1984
Cinsiyet	Erkek



İŞ DENEYİMİ

Tarihler	2010 – 2011
Meslek veya konum	Öğretim Görevlisi
Ana faaliyetler	Mutfak laboratuvarı aktiviteleri yönetimi, Gıda kalite kontrol
İşverenin adı ve adresi	IPSSAR Pietro d'Abano, (PD) İtalya
Sektörün türü	İtalya Devlet Lisesi
Tarihler	2008 - 2010
Meslek veya konum	Proje Yöneticisi, etnobotanik uzmanı, etkinlik yöneticisi
Ana faaliyetler	Yenilebilir yabancı bitkilerin etnobotanik araştırması
İşverenin adı ve adresi	National Research Council (CNR-ISPA); Università degli Studi di Bari, İtalya
Sektörün türü	Devlet araştırma merkezi, STK (Sivil toplum kuruluşu)

Tarihler	2007 – 2008
Meslek veya konum	Öğretim Görevlisi
Ana faaliyetler	Mutfak laboratuvarı aktiviteleri yönetimi; Gıda kalite kontrol
İşverenin adı ve adresi	IPSSAR Jacopo da Montagnanana, (PD) İtalya
Sektörün türü	İtalya Devlet Lisesi

Tarihler	2001 - 2006
Meslek veya konum	Chef de partie
Ana faaliyetler	Mutfak laboratuvarı aktiviteleri yönetimi;
İşverenin adı ve adresi	HCA - Harley Street Clinic; Londra - İngiltere
Sektörün türü	Catering

EĞİTİM VE ÖĞRETİM

Tarihler	2011 – 2013
Kazanılan yeterlilik	Gıda Mühendisi
Temel konular	Kimya, beslenme, mikrobiyoloji, gıda işleme,
Kurumun adı ve türü	İstanbul Aydın Üniversitesi, İstanbul, Türkiye
Düzy	MSc Gıda Mühendisliği (Yüksek Lisans)
Tarihler	2008 – 2010
Kazanılan yeterlilik	Gıda Lojistiği Uzmanlığı
Temel konular	Gıda tedarik zinciri yönetimi, , gıda lojistiği, şirket yönetimi
Kurumun adı ve türü	National Research Council (CNR-ISPA); Politecnico di Bari, İtalya

Düzy	Sertifika Kursu
Tarihler	2007 – 2009
Kazanılan yeterlilik	Sera Üretimi Gıdaların Kalite Control Uzmanı
Temel konular	Mikrobiyoloji, agronomi, gıda kalite kontrol, entomoloji
Kurumun adı ve türü	National Research Council (ISPA); Università Studi di Bari, İtalya
Düzy	Sertifika Kursu
Tarihler	2003 – 2007
Kazanılan yeterlilik	Eczacı, Şifalı Bitkiler Uzmanı
Temel konular	Mikrobiyoloji, biyoloji, farmakoloji, toksikoloji, farmakognozi
Kurumun adı ve türü	Università degli Studi di Bari, Faculty of Pharmacy, İtalya
Düzy	Lisans
Tarihler	1998 – 2003
Kazanılan yeterlilik	Catering ve Konaklama Hizmetleri Uzmanı
Temel konular	Gıda bilimi, beslenme, şirket yönetimi, Fransızca, İngilizce
Kurumun adı ve türü	IPSSAR Molfetta (BA) İtalya
Düzy	Lise

ÇALIŞMALAR

Tarih	2012
Konu	Bilimsel Gıda Araştırmaları Paylaşımı
Organizasyonun Adı	Tübitak MAM, Türkiye
Tarih	2010
Konu	Yabani Gastronomi

Organizasyonun Adı	Ecole Superieure d'Ethnobotanique, Fransa
Tarih	2009
Konu	Gıda Kalite Kontrol
Organizasyonun Adı	National Research Council (CNR-ISPA), İtalya
Tarih	2008
Konu	Puglia Bölgesinin Yenilebilir Yabani Bitkilerinin Listelenmesi
Organizasyonun Adı	Università degli Studi di Bari, İtalya
Tarih	2007
Konu	Bitki Kalite Kontrol
Organizasyonun Adı	Specchiasol, (Le), İtalya

KİŞİSEL BECERİ VE YETERLİLİKLER

Ana dil İTALYANCA

Diğer dil(ler)

Kişisel değerlendirme	Anlama		Konuşma		Yazma
	Dinleme	Okuma	Karşılıklı konuşma	Sözlü anlatım	Yazılı anlatım
İngilizce	C2	C2	C2	C2	C2
Fransızca	C2	C2	C2	C2	C2
Türkçe	C1	C1	C1	C1	C1
İspanyolca	A2	A2	A2	A2	A1

**ORGANİZASYONEL
BECERİ VE
YETERLİLİKLER**

- Puglia Bölgesi'nin Gıda Biyolojik Çeşitliliği - (İtalya) 2011
- Geleneksel Mutfakta Yabani Bitkiler Kullanımı – (İtalya) 2011
- Fiera del Levante: Yok Olma Tehlikesi İle Karşı Karşıya Olan Bitki Türleri - (İtalya) 2011
- Youth in Action: Pişirme Kültürü – (Slovenya) 2011
- ComeBioVuole: Yenilebilir Yabani Bitkiler – (İtalya) 2010
- Mediterre: Akdeniz Sit Alanları – (İtalya) 2010
- Youth in Action: Ekoloji Yaratımı – (Fransa) 2010
- Şifalı Flora Değerlendirmesi – (İtalya) 2007
- C.O.N.P.T.E.R. - (İtalya) 2006
- Agrimed – Fiera del Levante Bari (İtalya) 2010
- La Puglia Creativa – (İtalya) 2010
- Cutivar: Yabani Bitki Fuarı – (İtalya) 2009
- Öğrenci değişim programı, Thames Valley Üniversitesi, Londra, İngiltere
- Ziraat ve Gıda Sanayisinde Gıda Güvenliği Müfettişliği Sertifikası (2009)
- Nutrasötik Gıda İlaveleri Sertifikası (2006)
- Fitoterapi Sertifikası (2005)

**TAKIM ÇALIŞMASINA
DAYALI BECERİ VE
YETERLİLİKLER**

**DİĞER BECERİ VE
YETERLİLİKLER**

BURSLAR

- Lise başarı bursu
- Thames Valley University (UK): Yaşam Boyu Öğrenme Programı
- Lisans: Başarı bursu
- Principi attivi “giovani idee per una Puglia Migliore”: Avrupa Birliği Proje Sermayelendirmesi
- Ritorno al Futuro: Avrupa Birliği Yüksek Lisans Bursu

YAYINLARI

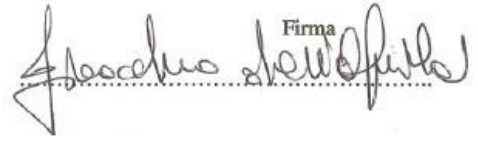
- dell'Aquila, G., Sicilia, S. (2010). *Flora spontanea a Cisternino: piante alimentari e officinali selvatiche*; SchenaEditore. (*Cisternino'nun Yabani Florası: Yenilebilir ve Şifalı Yabani Bitkiler*)
- dell'Aquila, G., Bianco, V.V., (2010). *Colture Protette: Biodiversity in Apulia Region*. Università degli Studi di Bari, Faculty of Agriculture. (*Colture Protette: Puglia Bölgesi'nin Biyolojik Çeşitliliği*)

BİLGİSAYAR BECERİ VE YETERLİLİKLERİ Microsoft Office programlarını etkin kullanım ve HTML tecrübesi

SÜRÜCÜ BELGESİ B sınıfı sürücü belgesi

İLAVE BİLGİLER

Etnobotani, gıda araştırma-geliştirme, biyolojik çeşitlilik, stratejik yönetim, sürdürülebilir gelişim, seyahat etmek ve yeni kültürlerle karşılaşmak, yiyecek-içecek kültürleri.

Firma