

**LİMON OTU (*Lippia citriodora*) EKSTRAKTI VE  
SİTRALİN *Escherichia coli* ÜZERİNE  
ANTİMİKROBİYEL ETKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Duygu BEKTAŞ**



T.C.

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**LİMON OTU (*Lippia citriodora*) EKSTRAKTI VE SİTRALİN *Escherichia coli*  
ÜZERİNE ANTİMİKROBİYEL ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Duygu BEKTAŞ**

**Prof. Dr. Mihriban KORUKLUOĞLU**

**(Danışman)**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**BURSA - 2014**

## TEZ ONAYI

Duygu BEKTAŞ tarafından hazırlanan “Limon Otu (*Lippia citriodora* L.) Ekstraktı ve Sitralin *Escherichia coli* Üzerine Antimikrobiyel Etkisinin Araştırılması” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Mihriban KORUKLUOĞLU

Başkan: Prof. Dr. Mihriban KORUKLUOĞLU

İmza

U.Ü. Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü

Üye : Doç. Dr. Oya KAÇAR

İmza

U.Ü. Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü

Üye : Yrd. Doç. Dr. Arzu AKPINAR-BAYİZİT

İmza

U.Ü. Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü

**Yukarıdaki sonucu onaylıyorum**

**Prof. Dr. Ali Osman DEMİR**

**Enstitü Müdürü**

**.../.../2014**

**U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;**

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

**beyan ederim.**

**29/01/2014**

**Duygu BEKTAŞ**

## ÖZET

### Yüksek Lisans Tezi

## LİMON OTU (*Lippia citriodora*) EKSTRAKTI VE SİTRALİN *Escherichia coli* ÜZERİNE ANTİMİKROBİYEL ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Duygu BEKTAŞ

Uludağ Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

**Danışman:** Prof. Dr. Mihriban KORUKLUOĞLU

Geçmiş yıllardan günümüze kadar halk arasında çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan tıbbi ve aromatik bitkiler sahip oldukları antimikrobiyel bileşenlerden dolayı gıdalarda da sentetik koruyuculara alternatif olarak tercih edilmektedir.

Bu çalışmada limon otu bitkisi (*Lippia citriodora* L. syn. *Lippia triphylla* (L'Her.) Kuntze, syn. *Aloysia triphylla* (L'Her.) Britton) ve içerisinde en fazla miktarda bulunan sitralin *Escherichia coli* üzerine antimikrobiyel etkisi araştırılmıştır. Materyal olarak limon otu bitkisinin ekstraktları, sitral ve *Escherichia coli* ATCC 25922 kullanılmıştır. Taze ve kuru bitki örnekleri ayrı ayrı maserasyon ve ekstraksiyon işlemlerine tabi tutulmuş ve bitkinin tazeliğine göre antimikrobiyel etkide değişiklik gözlemlenmiştir. Elde edilen ekstraktlardan maserasyon işlemi uygulanmış taze limon otu örneğinde minimum bakterisidal konsantrasyon çapı 0,9 mm, sitralde 5,3 mm olarak tespit edilmiş olup, diğer örneklerde zon ölçülememiştir. Tüp dilüsyon metoduna göre yapılan ekimlerde minimum inhibisyon konsantrasyonu maserasyon işlemi uygulanmış taze bitkide ve sitralde sırasıyla 100 mg/µL ile 1 µL olarak belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** *Lippia citriodora* L., sitral, *Escherichia coli*, antimikrobiyel.

2014, viii + 31 sayfa

**ABSTRACT**  
**MSc Thesis**

**THE INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL EFFECT OF LEMON  
VERBANA (*Lippia citriodora*) EXTRACT AND CİTRAL ON *Escherichia coli***

**Duygu BEKTAŞ**

Uludağ University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Food Engineering

**Supervisor:** Prof. Dr. Mihriban KORUKLUOĞLU

Medical and aromatic plants, which are common used for treatment of different diseases from past to present, have been preferred comparing with other synthetic preservatives because of having some antimicrobial compounds.

In this study, the antimicrobial effects of both lemon verbana (*Lippia citriodora* L. syn. *Lippia triphylla* (L'Her.) Kuntze, syn. *Aloysia triphylla* (L'Her.) Britton) and citral - which is the most found component in the plant- on *Escherichia coli* was researched. Lemon verbana extracts and citral were used as materials in the study and also *Escherichia coli* ATCC 25922 was obtained for the research. Fresh and dried plant samples were subjected individually to maceration and extraction processes. No-difference in the antimicrobial efficiency of neither fresh nor dried plant extract was determined. The bactericidal zone size in the minimum concentration of macerated lemon verbana (fresh) extracts was found as 0,9 mm whereas the zone size of citral in the minimum concentrate was 5,3 mm according to the disc diffusion method. Besides, zone occurrence was not seen around any of the other sample extracts. On the other hand, minimum inhibition concentrations of macerated plant (fresh) and citral were found as 100 mg/ $\mu$ L and 1  $\mu$ L respectively according to the tube dilution method.

**Key words:** *Lippia citriodora* L., citral, *Escherichia coli*, antimicrobial.

**2014, viii + 31 pages**

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimin boyunca bana yol gösteren, araştırmamın düzenlenmesi sırasında yardımlarını esirgemeyen fikir ve katkılarıyla çalışmalarına ışık tutan ve yönlendiren, sadece eğitim hayatı değil gerçek hayata dair aktardığı deneyimlerle hayatımın hemen hemen her aşamasında yer alan danışman hocam, Sayın Prof. Dr. Mihriban KORUKLUOĞLU'na teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışmalarım başlangıcında yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Oya KAÇAR'a (Uludağ Üniversitesi) sadece çalışmalarım sırasında değil, tanıştığımız günden bu yana her zaman olduğu gibi bu konuda da hiçbir desteğini esirgemeyen takım arkadaşım ve dostum Araş. Gör. Gökşen GÜLGÖR'e (Uludağ Üniversitesi), bugünlere gelmemde her türlü desteği sağlayan aileme teşekkür, saygı ve sevgilerimi sunarım.

**Duygu BEKTAŞ**

**Ziraat Mühendisi**

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
İÇİNDEKİLER .....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	vi
ŞEKİL DİZİNİ .....	vii
ÇİZELGE DİZİNİ .....	viii
1. GİRİŞ .....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ .....	4
2. 1. Limon Otu .....	5
2. 2. <i>Escherichia coli</i> .....	8
2. 3. Sitral .....	10
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	12
3. 1. Materyal .....	12
3. 1. 1. Bitki Materyali .....	12
3. 1. 2. Mikroorganizma .....	12
3. 1. 3. Sitral .....	12
3.1.4. Antibiyotikler .....	12
3. 2. Yöntem .....	12
3. 2. 1. Bitki Ekstraksiyonu .....	12
3. 2. 2. Antimikrobiyel Aktivitenin İncelenmesi .....	13
3. 2. 2. 1. Disk Difüzyon Metodu .....	13



3. 2. 2. 2. Tüp Dilüsyon Meotodu.....	13
3. 2. 2. 3. Antibiyotiklerin Hazırlanışı ve Uygulanışı.....	14
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....	15
4. 1. Taze Bitki Ekstraktlarının Deneme Materyali Olan Bakteri Üzerine Etkileri .....	14
4. 1. 1. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonunun Belirlenmesi .....	14
4. 1. 2. Minimum Bakterisidal Konsantrasyonun Belirlenmesi .....	16
4. 2. Kuru Bitki Ekstraktlarının Deneme Materyali Olan Bakteri Üzerine Etkileri.....	17
4. 2. 1. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonunun Belirlenmesi .....	17
4. 2. 2. Minimum Bakterisidal Konsantrasyonun Belirlenmesi .....	17
4. 3. Sitrilin Deneme Materyali Olan Bakteri Üzerine Etkileri.....	17
4. 3. 1. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonunun Belirlenmesi .....	17
4. 3. 2. Minimum Bakterisidal Konsantrasyonun Belirlenmesi .....	18
4. 4. Referans Antibiyotiklerin ve Antibiyotik Disklerin Deneme Materyali Üzerine Etkisi .....	20
5. TARTIŞMA .....	23
KAYNAKLAR .....	25
ÖZGEÇMİŞ .....	31

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

### Simgeler

### Açıklamalar

°C	Santigrat Derece
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
G	Gram
Mg	Miligram
mL	Mililitre
Mm	Milimetre

### Kısaltmalar

### Açıklamalar

MİK	Minimum inhibisyon konsantrasyonu
MBC	Minimum bakterisidal konsantrasyon
VRBA	Violet Red Bile Agar
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
DMSO	Dimetilsülfoksit
KOB	Koloni oluşturan birim

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Şekil 2.1. Limon otu.....	5
Şekil 2.2. Sitral, mentol, sitronellol ve limonen bileşenlerinin kimyasal yapısı.....	7
Şekil 2.3. Sitral'in kimyasal yapısı.....	10
Şekil 4.1. Maserasyon yöntemi ile hazırlanmış 10 g taze limon otu ekstraktının uygulanma dozunun <i>E. coli</i> ATCC 25922 üzerine inhibisyon etkisinin zon çapı büyüklüğü ile ilişkisi.....	17
Şekil 4.2. Sitralin uygulama dozları ile elde edilen zon çaplarının karşılaştırması.....	20
Şekil 4.3. Ampisilin ve Gentamisin uygulama dozları ( $\mu$ L) ile zon çapları (mm) arasındaki ilişki .....	21
Şekil 4.4. Antibiyotik emdirilmiş hazır disklerin <i>E. coli</i> ATCC 25922 bulunan petri kaplarında agar üzerinde oluşturdukları zon çapları (mm).....	22

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Çizelge 4.1. Taze limon otu ekstraktının minimum inhibisyon konsantrasyonu değerleri (MİK).....	15
Çizelge 4.2. Taze limon otu ekstraktının minimum bakterisidal konsantrasyon değerleri(MBK) (mm).....	16
Çizelge 4.3. Sitralin minimum inhibisyon konsantrasyon değerleri (MİK).....	18
Çizelge 4.4. Sitralin minimum bakterisidal konsantrasyonu değerleri (MBK)(mm).....	19
Çizelge 4.5. Uygulanan antibiyotikler ve zon çapları (mm).....	21

## 1. GİRİŞ

İnsanoğlunun temel fiziksel ihtiyacı olan beslenme; büyüme, yaşamın sürdürülmesi ve sağlığın korunması için gereklidir. Ancak giderek artan dünya nüfusu ile mevcut gıda kaynaklarının birbirini dengeleyememesi sonucu birçok ülkede büyük sorunlar ortaya çıkmaktadır. Yetersiz ve dengesiz gıda tüketimi; malnütrisyon, obezite, kalp-damar hastalıkları, anemi, vitamin ve mineral yetersizlikleri, büyüme ve gelişme geriliklerine neden olabilmektedir (Kapil ve Bhavna 2002).

Gıda üretim tekniklerinde modern gelişmeler olmasına rağmen, toplum sağlığı açısından gıda güvenliği kavramı giderek daha önemli hale gelmektedir(Burt 2004). Gıda güvenliği sağlıklı gıda üretimini sağlamak amacıyla gıdaların üretim, işleme, saklama, taşıma ve dağıtım aşamalarında gerekli kurallara uyulması ve önlemlerin alınması olarak tanımlanmakta ve sağlıklı, sağlığa yararlı ve sağlıklı durumu korunmuş gıda kavramlarını içermektedir (Giray ve Soysal 2007). Gıda güvenliği sorunları her toplumda yaygındır ve gıda kaynaklı patojenler yıllardır pek çok ülkede önemli bir halk sağlığı sorunu olarak kabul edilmiştir (Pires ve ark. 2012, Xue ve Zhang 2013). Hastalıkların tedavisinde antibiyotiklerin yaygın kullanımı sonucu genetik yapısı değişen mikroorganizmalar ve özellikle patojenler antibiyotiğe dirençli hale gelmektedir. Bunun sonucunda ise mikroorganizmaların gelişimini engellemek amacı ile atılan adım, kazandıkları direnç nedeniyle tedavisi mümkün olmayan hastalıkların ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Dolayısıyla yanlış antibiyotik kullanımı ile mikroorganizmanın antibiyotik direnci arasında doğrusal bir ilişki olduğu belirtilmektedir (Kumar ve Schweizer 2005, Levy 2005). Mikrobiyel gelişim ve antibiyotiğe dayanıklılığın, 21. yüzyılda dünya çapında anti enfeksiyon ilaç kullanımı ile artması Dünya Sağlık Örgütü'nü de harekete geçirmiş ve antibiyotiklerin kontrolsüz kullanımının halk sağlığı için büyük bir tehdit oluşturduğu bildirilmiştir (WHO 2007, Syed ve ark. 2010).

Genel olarak bakterilerin, tedavi amacıyla kullanılan ilaçlara dayanıklılık kazanmaya karşı genetik bir yatkınlığı olup bunu gelecek jenerasyonlarına aktarma yeteneği de bulunmaktadır (Tekwu ve ark. 2012). Son yıllarda antibiyotiklere dirençli mikroorganizmalardan kaynaklanan enfeksiyon riskinin artışı, hastalıklara karşı sentetik yapıları ilaçların yetersiz kalması ve yan etkilerinin yaygın olarak gözlenmesi, doğal

ürünlerin kullanma zorunluluğunu arttırmıştır. Bunun dışında, başta sentetik yapıdakiler olmak üzere, gıdalara koruyucu amaçlarla eklenen çoğu katkı maddesinin, alerjik bünyeye sahip tüketicilerde ileriye dönük endişeler oluşturması, bu alanda hizmet veren kuruluşları da doğal koruyucular kullanmaya teşvik etmiştir (Sağdıç ve ark. 2003). Bu nedenle ilaçlara alternatif olarak tıbbi bitkilerin kullanılması önerilmiş ve bazı geleneksel bitkilerin antimikrobiyel ajan ve katkı maddesi olarak da kullanılmıştır (Ferreira Junior ve ark. 2013).

Yapılan araştırmalarda antimikrobiyel aktivitenin çok çeşitli kullanım alanlarının bulunduğu belirlenmiştir. Bitkilerden elde edilen antimikrobiyel ikincil metabolitlerin kullanım alanları oldukça geniş olup, ham veya işlenmiş gıdaların korunmasından ilaç hammaddesi olarak kullanılmalarına, alternatif tıptan doğal terapilere kadar pek çok alanda yararlanılmaktadır (Abuo Zeid ve ark. 2010). Ayrıca, tüketicilerin sentetik katkı maddeleri hakkındaki önyargıları, minimum işlem uygulanmış güvenli ve uzun raf ömrüne sahip gıda ürünlerine olan taleplerini artırmış ve gıdaların muhafazasında alternatif yöntem arayışlarına neden olmuştur (Bagamboula ve ark. 2003). Bu nedenle, yeni antimikrobiyel ajanların tanımlanması için yoğun çalışmalar yürütülmüştür (Altuner ve Canlı 2012). Araştırmalar sonucu pek çok bitki, antibiyotiklere alternatif olarak bulunarak bu bitkilerin etkisi bilimsel olarak kanıtlanmıştır (Babacan ve ark. 2012).

Antimikrobiyel maddeler etkisini koruyucu genetik materyalin ve protein sentez mekanizmasının bozulması, enzimlerin bloke edilmesi ve hücre duvarının degradesyonu olmak üzere farklı şekillerde göstermektedir. Bunun sonucu olarak da mikroorganizmalarda çoğalma durdurmakta veya hücre ölmektedir. Antimikrobiyel maddelerin hangi oranda etkili olacağı ortamın pH'sına, bileşimine ve su aktivitesine bağlı olmakla birlikte kullanılan doz da oldukça önemlidir. Mikroorganizmaların olumsuz ve toksik etkilerini önlemek için, kullanılan gıda katkı maddesinin seçimi kadar, bu maddelerin belli bir saflıkta, basit yapıda, ucuz ve geniş bir spektrumda etkili olması gerekmektedir. Ayrıca, kullanılan maddenin tüketiminden dolayı meydana gelebilecek sakıncaların da en düşük düzeyde olması, toksik olmaması ya da yağ dokusunda birikme göstermemesi gerekmektedir (Ersoy ve ark. 2011).

Yapılan bu çalışmada ülkemizde de son yllarda tanınmaya ve uygun ekolojilerde yetiştiriciliği ile ilgili çalışmalara başlanmış olan kimyasal koruyuculara alternatif olabileceği dūřnlen limon otu (*Lippia citriodora* L. syn. *Lippia triphylla* (L'Her.) Kuntze, syn. *Aloysia triphylla* (L'Her.) Britton) bitkisinin yapraklarından elde edilen ekstraktların ve bitkinin önemli bir bileşeni olan sitralin *Escherichia coli* ATCC 25922 zerine antimikrobiyel etkisi incelenmiştir.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Bitkiler, sahip oldukları bileşenlerden dolayı insan ve hayvanların beslenmesinde önemli yere sahiptir. Gıdalara tat ve aroma kazandırmanın yanı sıra muhafaza süresini uzatmak amacıyla et ve balık gibi ürünlere ilave edilmekte, bununla birlikte bazı hastalıkların tedavisinde kullanımları antik çağlara kadar uzanmaktadır (Sağdıç ve ark. 2003). Şifalı bitkiler, otlar ve baharatta doğal olarak oluşan bileşenlerin gıda kaynaklı patojenlere karşı antimikrobiyel özelliğe sahip olduğu gösterilmiş olup gıdalardaki kullanımları da sağlık üzerinde potansiyel faydalarından dolayı tercih edilmektedir (Hameş-Kocabaş 2008). Bunlar patojen mikroorganizmaları inhibe edebilmekte, konakçı hücrelere karşı toksik etki meydana getirebilmekte ve yeni antimikrobiyel ilaçların geliştirilmesinde öncü olarak kabul edilebilmektedir (Jaberian ve ark. 2013). Dünya çapında özellikle gıda kaynaklı ve hastane enfeksiyonları bakımından antibiyotiğe dayanıklılık giderek artış gösterdiğinden dolayı da bitkilerde bulunan doğal antimikrobiyel bileşenler ilgi odağı haline gelmiştir (Ye ve ark. 2013).

Son yıllarda bazı mikroorganizmaların antibiyotiklere direnç kazanması ve sentetik katkı maddelerinin insan sağlığı üzerindeki potansiyel istenmeyen etkilerinden dolayı bitkilerin çeşitli ekstraktları ve esansiyel yağları üzerine yapılan araştırmalarda ciddi bir artış olmuştur (Özkan ve ark. 2009, Akthar ve ark. 2014). Bu araştırmalar, yeni kimyasal bileşiklerin elde edilmesinde tedavi edici özelliğe sahip tıbbi ve aromatik bitkilerin önemli birer doğal kaynak olduğunu göstermektedir. Bitkilerden ekstrakte edilen biyolojik olarak aktif bileşenler üzerine yapılan araştırmalar enfeksiyon hastalıkları için yararlı yeni ilaç kaynakları arayan bilim adamlarının her zaman ilgisini çekmiştir (Sarkhail ve ark. 2003, Chanda ve ark. 2011). Bitkilerin mikroorganizmalar üzerinde engelleyici veya öldürücü etkisi ile insan sağlığı bakımından önemli özellikleri 1926 yılından bu yana laboratuvar şartlarında araştırılmaktadır (Vanderbank 1949). Hastalıkların tedavisi için kullanılacak yeni etken maddeleri keşfetmek amacıyla bilim insanları; bitkilerin antimikrobiyel, antitümoral gibi tıbbi kullanım alanlarını sürekli incelemektedirler (Rajakaruna ve ark. 2002, Birinci-Yıldırım ve ark. 2013). Bitkisel kaynaklı antimikrobiyel bileşikler bitkilerin gövde, kök, yaprak, kabuk, çiçek, meyve ve tohum gibi çeşitli organlarında bulunmaktadır (Cutter 2000). Tıbbi bileşenlerden en önemlilerini sekonder bileşikler olan alkaloidler, terpenoitler ve fenolik bileşikler, tanenler, flavonlar ve fenolik bileşenler oluşturmakta olup miktarlarının



kullanılan bitkinin bölümüne ve ekstraksiyon metoduna göre değiştiği bilinmektedir. Sıklıkla farklı bitki bölümleri için spesifik medikal uygulamalar bulunmaktadır (Borchardt ve ark. 2008, Choudhury ve ark. 2013).

### 2.1. Limon Otu

şekil 2.1’de görölen Limon otu (*Lippia citriodora* L. syn. *Lippia triphylla* (L’Her.) Kuntze, syn. *Aloysia triphylla* (L’Her.) Britton) *Verbenaceae* familyasına ait olup bu familya Dünya’da 175 cins ve 2300 tür ile temsil edilmekte genellikle subtropik ve tropik alanlarda dağılım göstermektedir. *Lippia* cinsine ait otsu, çalı ve küçük ağaç formunda yaklaşık 200 kadar tür bulunmaktadır. Bu türler Güney ve Orta Amerika ile Güney Afrika’nın bazı bölgelerinde dağılış göstermektedir.

Çok yıllık çalımsı formda bir bitki olan limon otu 3 metreye kadar boylanabilmektedir. Dallar dört köşeli ve yarı odunumsu olup üzerinde bulunan gözlerden yapraklar çıkmaktadır. Dallar ve yapraklar kuvvetli limon kokuludur. Çiçekleri açık krem renkte ve hoş kokuludur (Brown 1996, Ceylan 1996).

Limon otu (*Lippia citriodora*) bitkisel çay olarak rahatlatıcı ve uyutucu, sinirleri yatıştırıcı etkilere sahiptir. Uçucu yağı ise kolonya ve parfüm sanayi, kokulu mumlar, şekerleme, tatlı yapımı, alkollü içkiler ve meşrubat sanayinde kullanılmaktadır.



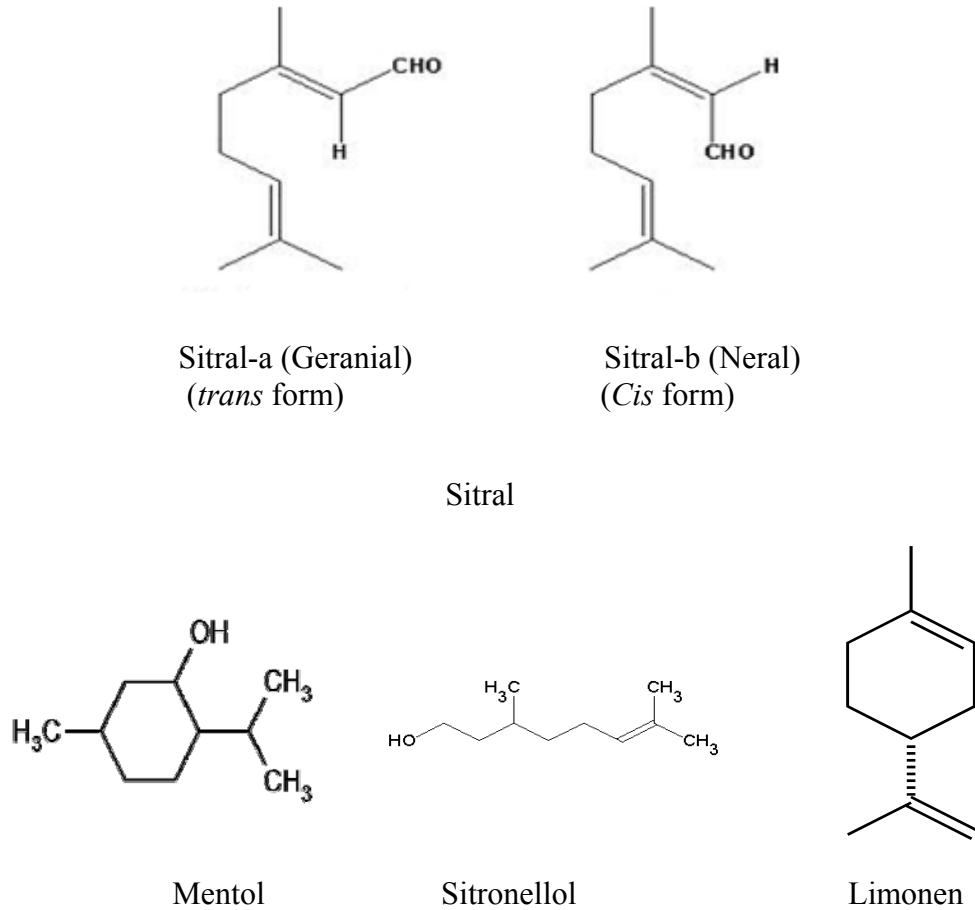
şekil 2.1. Limon otu

Bazı içecek, puding, reçel, salata sosu, sebze salamuraları, tavuk yemekleri ve balık gibi yiyeceklerin hazırlanması esnasında ekşi tat vermesi sebebiyle limon otunun yapraklarından faydalanılmaktadır. Ayrıca ferahlatıcı meyve şerbetleri ve bitki çaylarında kullanıldığında içeceğe hoş bir aroma kazandırmaktadır. Bu nedenle limon otu ürünleri ve onun bileşenleri gıda kategorisi sınıfı içerisinde değerlendirilmektedir. Bitki yapraklarının astım, spazmlar, soğuk algınlığı, mide ağrısı, bağırsak iltihabı, diyare, sindirim güçlüğü, uykusuzluk ve anksiyete gibi hastalıkların tedavisinde özellikle halk tarafından çok uzun yıllardır kullanıldığı bilinmektedir (Carnat ve ark. 1999, Santos-Gomes ve ark. 2005, Funes ve ark. 2009).

Limon otunun bazı türleri antimalarial (sıtma), antiviral ve hücre gelişimini durdurucu özelliğe sahiptir. Yapısında bulunan esansiyel yağların ve fenolik bileşenlerin bu özelliklerden sorumlu olduğu düşünülmektedir (Karik ve Azkan 2011). Bileşiminde ana bileşen olarak sitral (%14,21) ve buna ek olarak 7 bileşen daha tanımlanmıştır. Bu bileşenlerden oranı % 4'den fazla olanlardan  $\beta$ -karyofilen(caryophyllene) (%10,71), sineol(cineole) (%9,1), sitronellol(citronellol) (%8,87), izomenton(isomenthone) (%6,43),  $\alpha$ -bergamont(bergamotene) (%5,53), mentanol(menthanol) (%5,51) ve *p*-simen(cymene) (%4,23) de önemlidir (Ali ve ark. 2008). Hudaib ve ark. (2013) Jordan'da yetiştirilen limon otundan hidrolizasyon yöntemiyle elde edilen uçucu yağda yaptıkları çalışmanın GC-MS sonuçlarında esas bileşen olarak %17,7 oranında limonen ile birlikte sitralin izomeri olan geranial ve nerali de sırasıyla %10,1 ve %9,8 oranında tespit etmişler ve Jordan'da yetişen türlerin tat ve aromasında bu bileşenlerin rol oynadığını belirtmişlerdir. Bunlar dışında da %11,7 1,8 sineol, %3,4  $\gamma$ -terpeniol, %2,6  $\beta$ -karyofilen, %6,3  $\alpha$ -kumen, %4,6 spatulanol ve %1,8 karofilen oksiti bileşenlerini belirlemişlerdir.

Birçok bitkinin ekstrakt bileşiminde yer alan alkaloid, flavonoid, seskoterpen, lakton, diterpen, triterpenel, naftokinon gibi maddelerin antimikrobiyel aktiviteye katkı sağladığı tespit edilmiştir (Rios ve Recio 2005). Limon otunun antimikrobiyel etkisi bileşimindeki uzun alkol ve aldehitlerin, özellikle de sitral (%14,21), sitronellol (%8,67) ve mentol (%5,1) gibi maddelerin katkısıyla gerçekleştiği bildirilmektedir. Antibakteriyel etki ayrıca  $\beta$ -karyofilenlerin varlığına da bağlı olduğu ifade edilmektedir. Bu bileşen *Escherichia coli*, *P.aeuri* ve *S.aureus* üzerine *in vitro* aktivite

gösterdiği yapılan bazı çalışmalarda belirlenmiştir. Bazı çalışmalar uçucu bileşenlerin ana bileşenlere göre daha iyi antibakteriyel etkisi olduğunu kanıtlamaktadır. Limon otu bileşiminde az miktarda bulunan öjanol, linalool, karvakrol, ve T-kadinol gibi uçucu bileşenlerin antibakteriyel etkiyi artırdığı ifade edilmiştir (Sartoratto ve ark. 2004). Khani ve ark. (2012) yaptıkları bir başka çalışmada da limon otunun esansiyel yağından GC-MS yöntemiyle major bileşenler olarak sitral %11,3, limonen %10,6, neral %7,9, 4-fenil undekan-4-ol % 7,7,  $\alpha$ -kumen %6,5,  $\alpha$ -sedrol %4,5 ve %4,5 karyofilen oksiti belirlemişlerdir. Bunlar dışında da daha az oranlarda karvakrol %3,7, linalool %3,5, karyofilen %2,8 ve geranil asetat'ın %1,8 esansiyel yağ içerisinde bulunduğunu tespit etmişlerdir. Şekil 2.2'de sırasıyla sitral, mentol, sitranellol ve limonen bileşenlerinin kimyasal yapısı gösterilmektedir.



**Şekil 2.2.** Sitral, mentol, sitranellol ve limonen bileşenlerinin kimyasal yapısı

Bir çalışmada 6'şar adet Gr-(+) ve Gr-(-) bakteri ile 4 fitopatojenik fungi üzerine limon otundan elde edilen esansiyel yağın etkisi incelenmiş ve sonuçta *Bacillus subtilis* ve *Staphylococcus aureus* (Gr-negatif)'un inhibe olduğu gözlenirken; *Escherichia coli*,

*Salmonella spp.*(Gr-negatif) ile *Listeria monocytogenes* (Gr-pozitif)'in etkilenmediği saptanmıştır. Ayrıca Gr-(+) bakterilerin limon otundan elde edilen esansiyel yağa karşı Gr-(-) olanlarına kıyasla daha duyarlı olduğu gözlenmiştir (Ali ve ark. 2008). Bu durumun sebebi tam olarak bilinmemekte, fakat Gr-(-) bakterilerin dış membranının yapısal özelliği ile ilişkilendirilmektedir. Bu dış membran güçlü bir geçirgen bariyer gibi davranmakta ve hidrofilik bir bakteriyel yüzey oluşturmaktadır (Smith-Palmer ve ark. 2001).

Sitralin yüksek konsantrasyonları (%14,21) ile çalışıldığında gözlenen inhibisyon etkisi, (özellikle Gr-(+) bakteriler üzerine) tek başına oldukça az olup antimikrobiyel özellik gösteren menthol, sitronellol, uzun zincirli alkoller ve aldehytler ile birlikte kullanımı sonucunda artmaktadır. Bu şekilde sinerjik etki yaratmak koşulu ile daha az etkili bileşenlerin sitral ile birlikte kullanımının yüksek oranda antimikrobiyel etki oluşumuna katkı sağladığı tespit edilmiştir (Ali ve ark. 2008).

Ali ve ark. (2011) limon otunun esansiyel yağının 6 adet Gram-(+) ve Gram-(-) bakteri, fitopatojenik küf ve patojenik mayaya karşı antimikrobiyel ve antioksidan aktivitesi üzerine yaptıkları bir başka çalışmada da *Bacillus subtilis*'a karşı oldukça güçlü, *Staphylococcus aureus* üzerinde ise orta düzeyde etki belirlemelerine karşın *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli*'ye karşı engelleyici bir etki tespit etmemişlerdir. Patojenik mayalardan da *Phanerochaete chrysosporium*, *Trichoderma reesei* ve *Candida albicans*'a karşı etki gözlenirken, *Trichoderma viride*'a karşı da bir engelleme saptamamışlardır.

## **2.2. *Escherichia coli***

İlk defa 1885'te Dr. Theodor Escherich tarafından tanımlanan *Escherichia coli*, 1950 yılına kadar insan ve hayvanların bağırsak sisteminde normal florada bulunan, patojen olmayan bir mikroorganizma olarak kabul edilmiştir. 1982 yılından sonraki çalışmalarda ise *E.coli*'nin, dışkı bulaşmış su ve gıdalar yoluyla vücuda girdiğinde zehirlenmelere, böbrek ve beyinde hasara yol açtığı, hatta ölüme neden olduğu belirlenmiştir (Riley ve ark. 1983). Bir gıda ürününde *E. coli*'nin varlığı doğrudan veya dolaylı bir fekal kontaminasyonun ve gıdanın üretim ve depolama aşamalarındaki yetersiz hijyen uygulamalarının bir göstergesidir (Gonzales ve ark. 2002).

*Escherichia coli*, Gram-negatif, fakültatif anaerob *Enterobacteriaceae* familyasına ait bir bakteridir. Hücreleri çubuk şeklinde ve yaklaşık 2 µm uzunluğunda ve 0,5 µm çapındadır, bazı suşları ise flagellaya sahiptir. Optimal gelişim sıcaklığı 37°C'dir ve gelişimi hem aerobik, hem de anarobik koşullarda gerçekleşebilmektedir (Xia 2010).

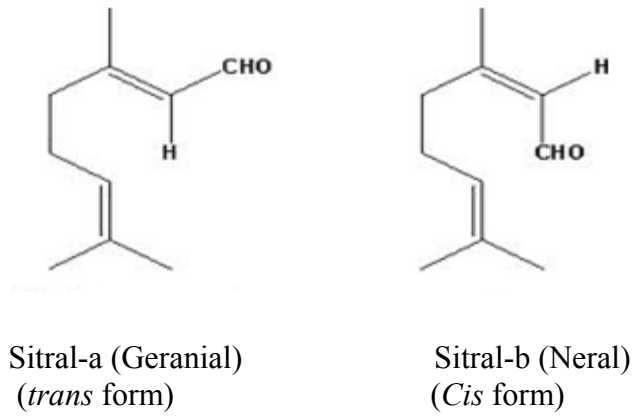
Diyareye sebep olan *E.coli* enfeksiyonu hem gelişmiş, hem de gelişmekte olan ülkelerde ortaya çıkabilen ciddi bir problemdir (Radu ve ark. 2001). İnsan ve hayvanların bağırsak florasında patojenik olmayan kommensal temsilcileri bulunmasına rağmen, belirli suşları yüksek patojenite göstermektedir (Duarte ve ark. 2007). Bu patojenler, virülans özelliklerine göre enterotoksijenik *E.coli* (ETEC), enteropatojenik *E.coli* (EPEC), enterohemorajik *E.coli* (EHEC), enteroinvasiv *E.coli* (EIEC) ve enteroaggregatif *E.coli* (EAEC) olmak üzere 5 farklı yapıda sınıflandırılmışlardır. Hem ısıya duyarlı (LT), hem de ısıya dayanıklı (ST) toksinler üretebilen ETEC, bebeklerde ve turistlerde önemli bir diyare sebebidir. EHEC suşları Shigella benzeri toksin üretmesi ile EPEC suşlarından ayırt edilebilmektedir (Lee ve ark. 2009).

Sundaram ve ark. (2011) Asya ve Afrika'da yetişen ve halk arasında tedavi amaçla kullanılan, Dünya çapında da safed müslü olarak adlandırılan *Chlorophytum borivillianum* bitkisinin *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ve *Basillus subtilis* üzerinde antimikrobiyel etkisini araştırmışlardır. Çalışmada bitkinin *Escherichia coli* üzerine 10 g/mL asetik asit, etanol, aseton ekstarklarında sırasıyla 18,10 ve 2 mm engelleme çapı tespit etmişlerdir.

Voravuthikunchai ve ark.'nın (2004) yapmış olduğu bir başka çalışmada da Tayland Bölgesi'nde yetişen ve gastrointestinal hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan 38 farklı bitkinin su ve etanol ekstraktları elde edilerek, sığırdan izole edilmiş 5 suş *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli* O26:H11, *Escherichia coli* O111:NM, *Escherichia coli* O22 ve *Escherichia coli* ATCC 25922 üzerinde antimikrobiyel etkisi araştırılmıştır. Bunlardan 8 bitkinin (*Acacia catechu*, *Holarrhena antidysenterica*, *Peltophorum pterocarpum*, *Psidium guajava*, *Punica granatum*, *Quercus infectoria*, *Uncaria gambir* ve *Walsura robusta*) *Escherichia coli* O157:H7 üzerinde 7-17 mm arasında değişen çaplarda engelleme gösterdiği tespit edilmiştir.

### 2.3. Sitral

Limon otu bitkisinin en önemli bileşenlerinden olan sitral [cis- ve trans-3,7-dimetil-2,6-Oktadienal] güçlü limon aromasına sahip olması ile değerlendirilen hoş kokulu önemli bir bileşendir ve sayısız ürünün formülasyonları içerisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Arctander 1969). İki asiklik monoterpen olan geranial (trans-sitral veya sitral A) ve neral (cis-sitral veya sitral B)'in bir karışımı olup (Şekil 2.4), hava ile temas ettiğinde oksidasyona uğramakta, oksidasyon, sıcaklık ve ışık ile artmaktadır (Saddiq ve Khayyat 2010).



**Şekil 2.3.** Sitral'in kimyasal yapısı

Bergamut, portakal, limon çimi, lime, limon, Afrika reyhanı, oğul otu ve mersin ağacı gibi çok çeşitli bitkilerin yaprak, meyve ve esansiyel yağı içerisinde de sitral doğal olarak bulunmaktadır. Doğal yağlardan elde edilmesinin yanı sıra sentetik olarak da üretilmektedir. Sitral, genellikle güvenli bir gıda katkı maddesi olarak kabul edilmiş ve gıdalarda kullanımı FDA (Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından uygun bulunmuştur (Lalko ve Api 2008). Ayrıca gıda maddelerinde lezzet verici özelliği sebebiyle kullanımı, üretici sağlığı açısından risk oluşturmadığı için Avrupa Komisyonu tarafından da kabul edilmiştir (Burt 2004).

Bitki esansiyel yağları antimikrobiyel etkisi olan çok çeşitli bileşenleri içermektedir (Naveed ve ark. 2013). Sitralin, antispazmodik, analjezik, anti-inflamatuvar, antipiretik, idrar söktürücü ve sakinleştirici olarak geleneksel tıpta kullanımının yanı sıra bazı önemli patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyel aktiviteye sahip olduğu da belirtilmiştir (Maswal ve Dar 2014).

Sitralin antimikrobiyel etkisi çok iyi bilinmesine rağmen gelişimi inhibe etme, hücreye zarar verme ve inaktivasyon mekanizması tam olarak bilinmemektedir (Onawunmi 1989, Friedman ve ark. 2002). Spesifik iyonların hücre membranı içine sızması sonucunda proton kuvveti, hücre içi ATP içeriği ve hücrenin boydan boya önemli ölçüde etkilendiği belirtilmektedir (Somolinos 2009).

Onawunmi ve ark. (1989)'nın sitralin *Escherichia coli* üzerine antimikrobiyel etkisini belirlemek için yapmış oldukları bir çalışmada besiyeri içeriği ve inokülüm miktarının sitralin aktivitesi üzerinde hiçbir etkisi olmazken alkali pH değerinin etkinliği arttırdığı tespit edilmiştir. *E.coli* kültürünün gelişme hızının  $\geq 0,01$  üzerindeki sitral konsantrasyonunda belirgin bir azalma gösterdiğini,  $\geq 0,03$ 'ün üzerine çıktığında ise hücrenin kendini onararak yeniden gelişmesinin engellendiği ve canlı hücre sayısında da hızlı bir azalma meydana geldiğini bildirmişlerdir. Hiçbir gelişim gözlenmeyen besiyerinde de sitralin %0,08 ve %0,1 konsantrasyonlarında hızlı bakterisidal etkisi olduğunu belirlenmiştir.

Sitralin *E.coli* K12 suşu üzerinde 30 ve 37°C'de antimikrobiyel aktivitesini belirlemek amacıyla gerçekleştirilen bir araştırmada da sıcaklık derecesine bakılmaksızın 0,325 µL/mL sitral varlığında gelişimin olmadığı gözlemlenmiştir. Engelleme olmayan dozlarda da, lag fazının sıcaklığın düşmesi ile azalma gösterdiği, ayrıca sabit sıcaklıkta, lag fazı ve maksimum spesifik gelişim oranının sitral konsantrasyonlarına bağlı olduğunu belirlenmiştir. Aynı zamanda sitral konsantrasyonları arttırıldığında maksimum spesifik gelişim oranı azalırken, lag fazı süresinin de uzadığı tespit edilmiştir (Belda-Galbis ve ark. 2012).

Bu çalışmada limon otu ekstraktı bileşenleri içerisinde en yoğun oranda bulunması ve antimikrobiyel olması sebebiyle sitral ve bitkinin metanol ekstraktları ile denemeler yapılarak, *E.coli* ATCC 25922 üzerine inhibisyon etkileri araştırılmıştır.

### **3. MATERYAL VE YÖNTEM**

#### **3.1. Materyal**

##### **3.1.1. Bitki Materyali**

Antimikrobiyel etkinin araştırılmasında kullanılacak olan limon otu (*Lippia citriodora* L. syn. *Lippia triphylla* (L'Her.) Kuntze, syn. *Aloysia triphylla* (L'Her.) Britton) bitkisi Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Anabilim Dalı'ndan temin edilmiştir.

##### **3.1.2. Mikroorganizma**

Çalışmada mikroorganizma olarak *Escherichia coli* ATCC 25922 suşu kullanılmıştır.

##### **3.1.3. Sitral**

Çalışmada sitral olarak Citral (cis+trans  $\geq$  95) (Fluka) kullanılmıştır.

##### **3.1.4. Antibiyotikler**

Bu çalışmada pozitif kontrol grubu olarak disklere belirlenmiş dozlarda ampisilin (Actavis) ile gentamisin (Genta) uygulanmış, içerdiği antibiyotik miktarları bilinen nalidiksik asit, trimetoprim, polimiksin B, vankomisin ve cefazolin (Oxoid) hazır diskler şeklinde kullanılmıştır.

#### **3.2. Yöntem**

##### **3.2.1. Bitki Ekstraksiyonu**

Bitki materyalinin ekstraksiyonu soxhlet ekstraksiyon ve maserasyon yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Maserasyon yöntemi Salazar-Aranda ve ark. (2011)'in kullanmış olduğu yöntem modifiye edilerek uygulanmıştır. 10 ve 15 g taze bitki örnekleri kapaklı 1 L hacminde şişeler içerisinde sırasıyla 400 ve 340 mL metanol ilave edilerek çalkalayıcıda (Yellow Line OS 5) 4 saat maserasyona bırakılmıştır. Ekstraksiyon yönteminde ise 10 ve 20 g kuru, 10 ve 15 g taze bitki örnekleri Mothana ve ark. (2010)'nın kullanmış olduğu yöntem modifiye edilerek 200 mL metanol içerisinde 4 saat süre ile soxhlet cihazında ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon ve maserasyon sonrası örnekler çözgen madde 2-2,5 mL ekstrakt kalıncaya kadar rotary evaporatörde (Heidolph) buharlaştırılmıştır (Uğuz 2011). Limon otunun hasat zamanı dikkate alınmış olup bu hasat işlemi çiçeklenme dönemi sonrasında gerçekleştirilmiş,



taze bitkiye maserasyon, kuru örneklere ise ekstraksiyon işlemleri uygulanmıştır. Daha sonra örnekler soğuk sterilizasyon tekniği ile sterilize edilerek çalışma boyunca +4°C’de muhafaza edilmiştir.

### **3.2.2. Antimikrobiyel Aktivitenin İncelenmesi**

#### **3.2.2.1. Disk Difüzyon Metodu:**

Ekstraktların ve sitralin *Escherichia coli* ATCC 25922 üzerinde antimikrobiyel etkisinin belirlenmesi için Quaralleh ve ark. (2010)’nın kullanmış olduğu metod modifiye edilerek uygulama yapılmıştır. Test mikroorganizmasının stok kültürü Muller-Hinton broth (Difco) içerisinde 37°C’de 18 saat geliştirilmiş, ekim öncesi dilüsyon yapılarak ve son bakteri sayısı 10<sup>9</sup> KOB/mL olarak belirlenmiştir. İnokülümden 100 µL petri kapları içerisine aşılınmış ve üzerine dökme plak yöntemi kullanılarak VRB (violet red bile-Difco) agar ilave edilmiştir. Petri kapları oda sıcaklığında kurutulmuştur. Steril penset kullanılarak diskler (6 mm çapta) petrilerin merkezine yerleştirilmiş ve diskler üzerine belirlenmiş olan dozlarda bitki ekstraktı ve sitral inoküle edilmiştir. Petri kapları 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Her ekim 4 paralel olarak gerçekleştirilmiş ve engelleme bölge çapları milimetre olarak ölçülmüştür. Pozitif kontrol için referans antibiyotikler(gentamisin ve ampisilin) ile antibiyotik emdirilmiş diskler(nalidiksik asit, trimetoprim, polimiksin B, vankomisin ve cefazolin), negatif kontrol için steril metanol ve saf su kullanılmıştır.

#### **3.2.2.2. Tüp Dilüsyon Yöntemi**

Tüp dilüsyon yöntemi daha önce Koochak ve ark. (2010) tarafından açıklandığı yöntem modifiye edilerek uygulanmıştır. Metanol içeren ekstraktlar ile sitral içerisinde 1 mL Mueller-Hinton broth besiyeri içeren tüpler içerisine belirlenen dozlarda inoküle edilmiştir. Test suşu bu tüpler içerisine 20 µL olarak ilave edilmiş, bütün tüpler değerlendirilme öncesi 24 saat 37°C’de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda her tüp örneğinden içerisinde VRB agar bulunan petri kaplarına bir öze dolusu alınarak sürme yapılmış 24 saat inkübasyona bırakılan petri kaplarından minimum inhibisyon konsantrasyonu değerleri gelişmenin engellendiği en düşük konsantrasyon şeklinde belirlenmiştir.

### **3.2.2.3. Antibiyotiklerin Hazırlanışı ve Uygulanışı**

500 mg ampisilin kapsül 5 mL saf su içerisinde çözdürülerek diskler üzerine uygulanmıştır. Gentamisin ise sıvı halde temin edilmiş olup 120 mg/mL dozu üzerinden belirlenen miktarlarda uygulama yapılmıştır. Ampisilin sırasıyla 1, 2, 3, 4 mg/ $\mu$ L dozlarında, gentamisin de sırasıyla 0,6, 1,2, 1,8, 2,4, 3,0 mg/ $\mu$ L dozlarında diskler üzerine emdirilmiş ve bu diskler mikroorganizma aşılama agarlı petri üzerine yerleştirilerek, antibiyotiklerin etkisi gözlenmiştir. Antibiyotik emdirilmiş olarak vankomisin, polimiksin B, cefazolin, nalidiksik asit 30  $\mu$ g, trimetoprim 15  $\mu$ g dozlarında etken madde içeren hazır diskler mikroorganizma aşılama agarlı petri üzerine yerleştirilerek, etkileri gözlenmiştir.

#### 4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI

Taze ve kuru bitki örnekleri kullanılarak iki farklı yöntemle elde edilen bitki ekstraktlarının, sitralin ve referans antibiyotiklerin deneme materyali olan *Escherichia coli* ATCC 25922 suşu üzerinde antibakteriyel etkisi araştırılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda antibakteriyel etkinin bitki materyalinin taze veya kuru olmasına göre değişiklik gösterdiği belirlenmiştir. Sitral ve antibiyotik disklerde engelleme tespit edilmiştir.

#### 4.1. Taze Bitki Ekstraktlarının Deneme Materyali Olan Bakteri Üzerine Etkileri

##### 4.1.1. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Maserasyon ve ekstraksiyon işlemi uygulanmış taze limon otu yaprağı ekstraktlarının deneme materyali üzerine etkisi belirlemek amacıyla 1 mL Mueller-Hinton broth içeren tüpler içerisine aşılana dozlar ve denemeye ait tüm sonuçlar Çizelge 4.1’de verilmiştir. Minimum inhibisyon konsantrasyonu maserasyon işlemi uygulanmış 10 g’lık taze bitki örneğinde 100 mg/µL olarak tespit edilmiştir. Diğer taze bitki örneklerinde ise inhibisyon gözlenmemiştir.

**Çizelge 4.1.** Taze limon otu ekstraktının minimum inhibisyon konsantrasyonu değerleri (MİK)

Doz (µL)	Taze Limon Otu Ekstraktları			
	TM (10 g)	TE (10 g)	TM (15 g)	TE (15 g)
10	+	+	+	+
50	+	+	+	+
75	+	+	+	+
100	-	+	+	+
125	-	+	+	+
150	-	+	+	+

(+): Tüplerde mikroorganizma gelişimi gözlenmiştir.  
(-): Tüplerde mikroorganizma gelişimi gözlenmemiştir.

TM: Taze Maserasyon  
TE: Taze Ekstraksiyon

#### 4.1.2. Minimum Bakterisidal Konsantrasyonun Belirlenmesi

Maserasyon ve ekstraksiyon işlemi uygulanmış taze limon otu yaprağı ekstraktlarının deneme materyali üzerine etkisini belirlemek amacıyla steril diskler üzerine uygulanan dozlar Çizelge 4.2’de verilmiştir. Minimum bakterisidal konsantrasyon maserasyon işlemi uygulanmış 10 g’lık taze bitki örneğinde 10 mg/µL tespit edilmiş olup engelleme zonu petri kabına yerleştirilmiş olan disklerin çevresinde 6 mm disk çapıyla birlikte 7,9 mm olarak ölçülmüştür. Denemeye ait tüm sonuçlar Çizelge 4.2’de gösterilmiştir.

**Çizelge 4.2.** Taze limon otu ekstraktının minimum bakterisidal konsantrasyon değerleri (MBK) (mm)

Doz (µL)	Taze Limon Otu Ekstraktı			
	TM (10 g)	TE (10 g)	TM (15 g)	TE (15 g)
10	7,9±0,35	-	-	-
15	11,5±0,50	-	-	-
20	12,1±0,85	-	-	-
25	12,1±1,2	-	-	-

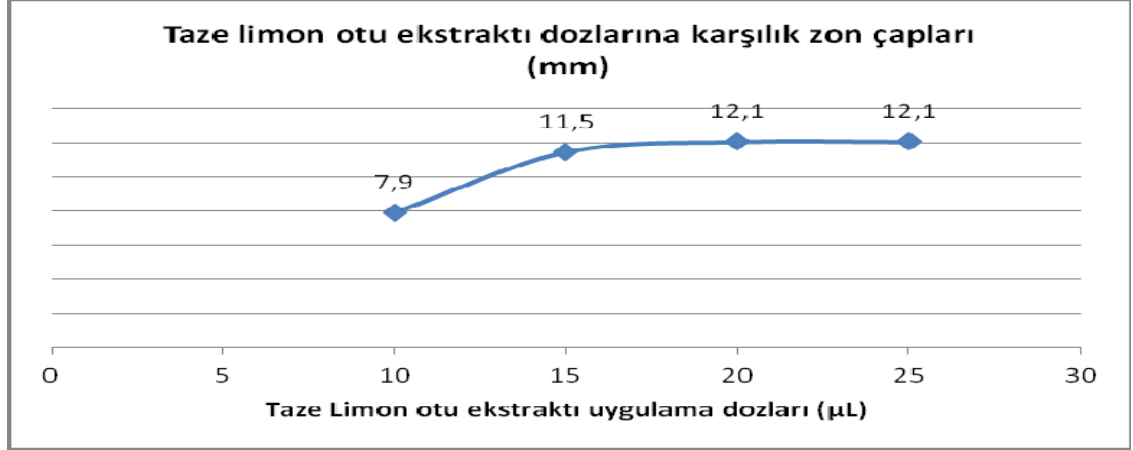
TM: Taze maserasyon;

TE: Taze ekstraksiyon;

(-): Engelleme tespit edilmemiştir. \*6 mm çapındaki disk çevresi çap uzunluğuna dahil edilmiştir.

Çizelge 4.1’de görüldüğü gibi 10 g taze bitkinin maserasyonu ile elde edilen ekstraktın *E. coli* ATCC 25922 üzerine inhibisyon etkisi gözlenirken, diğer örneklerin inhibisyon etkisi gözlenmemiştir.

Maserasyon yöntemi ile hazırlanan 10 g taze bitki örneğinin uygulanan dozlara karşılık *E. coli* ATCC 25922 üzerine inhibisyon etkisi zon çapı büyüklüğü ile doğru orantılı olup Şekil 4.1’ de gösterilmektedir.



**Şekil 4.1.** Maserasyon yöntemi ile hazırlanmış 10 g taze limon otu ekstraktının uygulanma dozunun *E. coli* ATCC 25922 üzerine inhibisyon etkisinin zon çapı büyüklüğü ile ilişkisi

Uygulanan konsantrasyon artarken zon çaplarının da büyüdüğü görülmekte, ancak son iki konsantrasyonda (20 ve 25 µL) aynı zon çapının olduğu saptanmıştır.

## **4.2. Kuru Bitki Ekstraktlarının Deneme Materyali Olan Bakteri Üzerine Etkileri**

### **4.2.1. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonunun Belirlenmesi**

Ekstraksiyon işlemi uygulanmış kurutulmuş limon otu yaprağı örneklerinin deneme mikroorganizması üzerine etkisi belirlemek amacıyla 1 mL Mueller-Hinton broth içeren tüpler içerisine 10, 50, 75, 100, 125 ve 150 mg/µL dozlarında uygulama yapılmış ve inhibisyon etki tespit edilmemiştir.

### **4.2.2. Minimum Bakterisidal Konsantrasyonunun Belirlenmesi**

Ekstraksiyon işlemi uygulanmış kurutulmuş limon otu yaprağı ekstraktlarının deneme materyali üzerine etkisi belirlemek amacıyla steril diskler üzerine 10, 15, 20 ve 25 µL dozlarında uygulama yapılmış ve minimum bakterisidal konsantrasyon hiçbirinde tespit edilmemiştir.

## **4.3. Sitralin Deneme Materyali Olan Bakteri Üzerine Etkileri**

### **4.3.1. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonunun Belirlenmesi**

Sitralin deneme materyali üzerine antimikrobiyel etkisi araştırılmış ve 1 mL Mueller-Hinton besiyeri içeren tüpler içerisine yapılan inokülasyonda minimum inhibisyon konsantrasyonu 1 µL olarak belirlenmiştir. Denemelerde, 0,25, 0,50 ve 0,75 µL

miktarları uygulanan tüplerde ve kontrol grubunda gelişme gözlenirken, ve 1, 2, 3, 4, 5, 8, 10, 15, 20, 25 ve 30 µL konsantrasyonundaki tüplerde gelişme gözlenmemiştir.

10 µL'nin altındaki düşük hacimlerdeki dozları elde edebilmek için sitral, dimetil sülfoksit (DMSO) içerisinde çözülerek stok çözelti hazırlanarak kullanılmıştır. Bu sebeple 10 µL'nin altındaki hacimlerde çözücü olarak kullanılan DMSO, aynı zamanda ekim yapılırken de kontrol olarak kullanılmıştır. Ancak 10 µL üzerindeki hacimlerde herhangi bir çözücüye ihtiyaç duyulmadığı için kontrol olarak saf su kullanılmıştır. Her iki kontrol grubunda da gelişme gözlenmiştir. Denemelere ait sonuçlar Çizelge 4.3'te gösterilmiştir.

**Çizelge 4.3.** Sitralin minimum inhibisyon konsantrasyon değerleri (MİK)

Sitralin Uygulanma Dozları (µL)	Mikroorganizma Gelişimi
0,25	+
0,50	+
0,75	+
1	-
2	-
3	-
4	-
5	-
8	-
Kontrol (DMSO)	+
10	-
15	-
20	-
25	-
30	-
Kontrol (Saf Su)	+

(+): Tüplerde mikroorganizma gelişimi gözlenmiştir.

(-): Tüplerde mikroorganizma gelişimi gözlenmemiştir.

#### 4.3.2. Minimum Bakterisidal Konsantrasyonun Belirlenmesi

Limon otunun önemli bileşenlerinden olan sitralin *E.coli* ATCC 25922 üzerine etkisini belirlemek amacıyla disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır. En düşük dozun belirlenmesinde sitral DMSO (dimetilsülfoksit) ile seyreltilerek stok çözelti hazırlanmış ve kontrol içinse steril DMSO kullanılmıştır. Seyreltme yapılmayan örneklerdeki

kontrol gruplarında steril saf su kullanılmıştır. Sitralle ait tüm denemeler Çizelge 4.4'te gösterilmiştir.

**Çizelge 4.4.** Sitralin minimum bakterisidal konsantrasyonu değerleri (MBK)(mm)

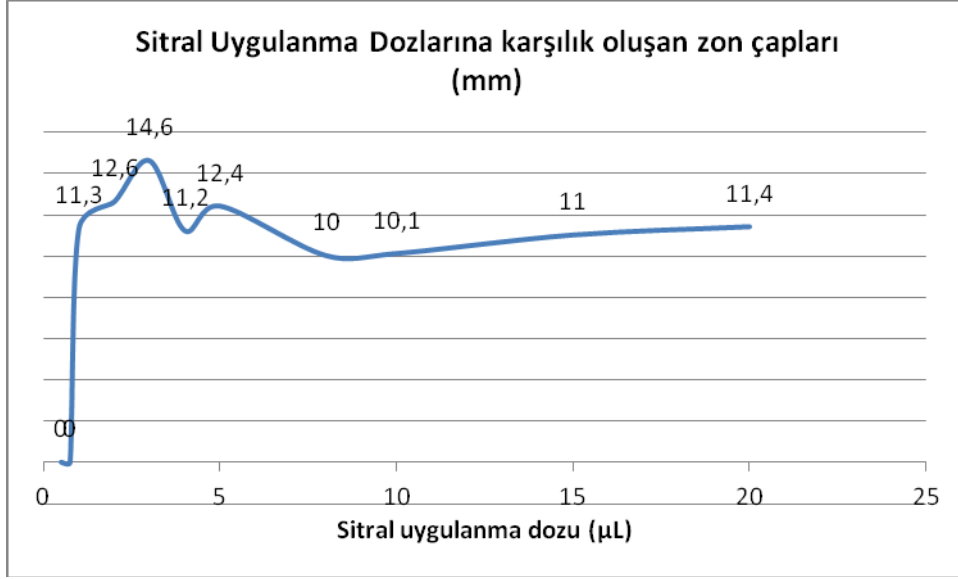
Sitral Dozu ( $\mu\text{L}$ )	Zon çapı (mm)
0,50	-
0,75	-
1	11,3 $\pm$ 0,3
2	12,6 $\pm$ 0,4
3	14,6 $\pm$ 1,6
4	11,2 $\pm$ 0,8
5	12,4 $\pm$ 0,2
8	10,0 $\pm$ 0,6
Kontrol (DMSO)	-
10	10,1 $\pm$ 0,1
15	11,0 $\pm$ 1,0
20	11,4 $\pm$ 0,3
Kontrol (Saf su)	-

(-): Engelleme tespit edilmemiştir.

\* 6 mm çapındaki disk çevresi çap uzunluğuna dahil edilmiştir.

Deneme yapılan dozlar içerisinde engelleme tespit edildiği minimum bakterisidal konsantrasyonu 1  $\mu\text{L}$  olup petri kabı içerisinde disk etrafında oluşan zon disk çapıyla birlikte 11,3 mm olarak ölçülmüştür. 10  $\mu\text{L}$ 'nin altındaki düşük hacimlerdeki dozları elde edebilmek için sitral, dimetil sülfoksit (DMSO) içerisinde çözülerek stok çözelti hazırlanarak kullanılmıştır. Bu sebeple 10  $\mu\text{L}$ 'nin altındaki hacimlerde çözücü olarak kullanılan DMSO, aynı zamanda ekim yapılırken de kontrol olarak kullanılmıştır (Çizelge 4.4). Ancak 10  $\mu\text{L}$  üzerindeki hacimlerde herhangi bir çözücüye ihtiyaç duyulmadığı için kontrol olarak saf su kullanılmıştır (Çizelge 4.4). Her iki kontrol grubunda da inhibisyon zonu gözlenmemiştir.

Şekil 4.2'de görüldüğü gibi uygulamada kullanılan sitral dozları ile elde edilen zon çapları arasında doğrusal bir ilişki olmadığı, zon çaplarının dalgalanma gösterdiği göze çarpmaktadır.



**Şekil 4.2.** Sitralin uygulama dozları ile elde edilen zon çaplarının karşılaştırması

En büyük zon çapı 3 µL'de  $14,6 \pm 1,6$  mm ve 8 µL'de  $10,0 \pm 0,6$  mm konsantrasyonlarındaki sitral uygulamasında gözlenirken, en küçük zon çapının ise 10 µL'de  $10,1 \pm 0,1$  mm ve 15 µL'de  $11,0 \pm 1,0$  mm konsantrasyonlarında olduğu saptanmıştır. Değişkenlik gösteren zon çapları ve uygulanan tüm dozlar dikkate alındığında ise Çizelge 4.3 ve Şekil 4.2'de de görüldüğü gibi minimum inhibisyon konsantrasyonu 1 µL olarak belirlenmiştir.

#### **4.4.1. Referans Antibiyotiklerin ve Antibiyotik Disklerin Deneme Materyali Üzerine Etkisi**

Çalışmada referans antibiyotikler pozitif kontrol grubu olarak kullanılmış belirlenen dozlarda ampisilin ve gentamisin diskler üzerine uygulanırken, disklere emdirilmiş olarak da cephazolin, vankomisin, nalidiksik asit, polimiksin B ve trimetoprim kullanılmıştır. Denemeye ait sonuçlar Çizelge 4.5'te gösterilmiştir.



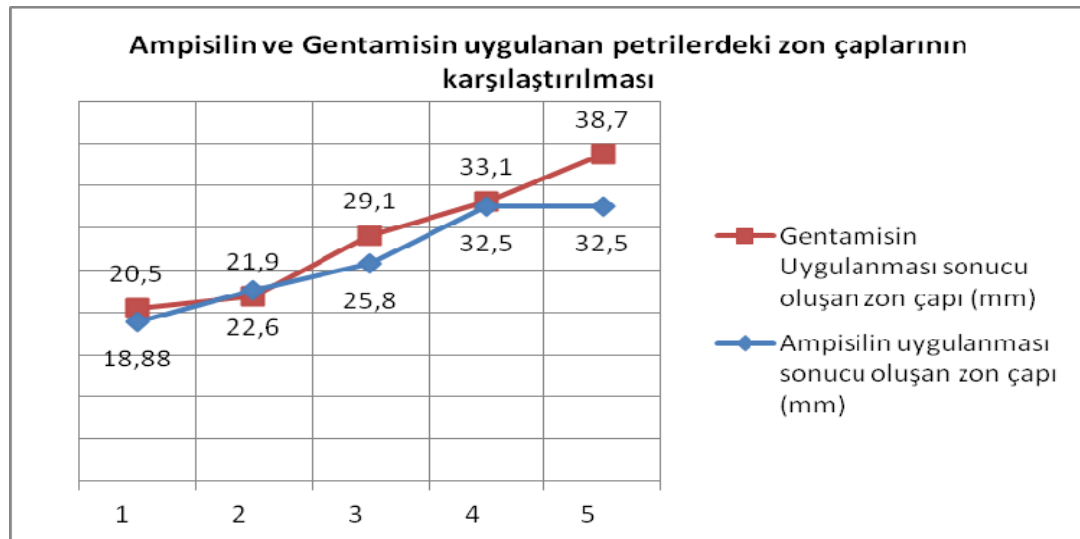
**Çizelge 4.5.** Uygulanan antibiyotikler ve zon çapları (mm)

Nalidiksikasıit Zon (mm)	Trimetoprin Zon (mm)	PolimiksinB Zon (mm)	Vankomisin Zon (mm)	Cefazolin Zon (mm)
11,5±0,5	16,3±2	8,1±0,3	-	-
Ampisilin Dozları	Zon Çapı (mm)	Gentamisin Dozları	Zon Çapı (mm)	
1	18,8±0,5	0,6	20,5±0,5	
2	22,6±0,3	1,2	21,9±0,4	
3	25,8±0,5	1,8	29,1±0,5	
4	32,5±0,5	2,4	33,1±1,8	
5	35,5±3,5	3	38,7±0,3	

\* 6 mm çapındaki disk çevresi çap uzunluğuna dâhil edilmiştir.

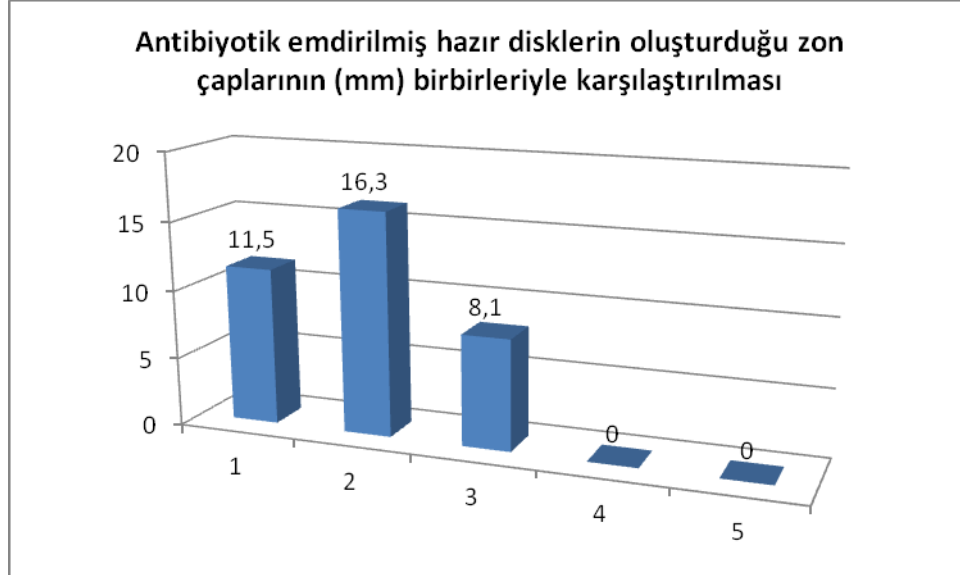
Antibiyotik uygulaması üzerinden 2 saat geçtikten sonra vankomisin ve cefazolin diskleri içeren petripler hariç olmak üzere diğer tüm petri kapları içerisinde engelleme zonları tespit edilmiştir. 24 saat sonrasında yapılan 2. ölçümlerde zon çaplarında değişim gözlenmemiştir.

Belirli konsantrasyonda hazırlanarak steril disklerle emdirilmiş antibiyotikler olan ampisilin ve gentamisin *E. coli* ATCC 25922 üzerine minimum inhibisyon konsantrasyonları sırasıyla 1,0 ve 0,6 µL olup, dozların artışı ile meydana gelen zon çaplarındaki büyüme Şekil 4.3'te gösterilmektedir.



**Şekil 4.3.** Ampisilin ve Gentamisin uygulama dozları (µL) ile zon çapları (mm) arasındaki ilişki

Antibiyotikleri steril ortamda emdirilmiş disklerin *E. coli* ATCC 25922 bulunan petri kaplarında agar üzerinde oluşturdıkları zon çapları ve etkinliklerinin oranları Şekil 4.4'te gösterilmektedir.



**1: Nalidiksik asit 2: Trimetoprim 3: Polimiksin B 4: Vankomisin 5: Cefazolin**

**Şekil 4.4.** Antibiyotik emdirilmiş hazır disklerin *E. coli* ATCC 25922 bulunan petri kaplarında agar üzerinde oluşturdıkları zon çapları (mm)

Trimetropimin *E. coli* ATCC 25922 inhibisyonu için en etkili antibiyotik olduğu ve onu takiben sırasıyla nalidiksik asit ve polimiksin B antibiyotiklerinin geldiği saptanmıştır. Vankomisin ve cefazolin uygulamalarında ise inhibisyon gözlenmemiştir.

## 5. TARTIŞMA

Çizelge 4.1 ve 4.2’de görüldüğü gibi 10 g taze bitkinin maserasyonu ile elde edilen ekstraktın *E. coli* ATCC 25922 üzerine inhibisyon etkisi gözlenirken, 10 g taze örneğin ekstraksiyonu ile 15 g taze örneğin maserasyon ve ekstraksiyonu sonucunda elde edilen ekstraktın inhibisyon etkisi gözlenmemiştir. Bunun sebebinin ise maserasyon yönteminde çözen yardımcı ile elde edilen ekstraktın, limon otunda bulunan uçucu ve diğer antimikrobiyel bileşenlerin daha yoğun olarak kazanılmasına bağlı olduğu düşünülmektedir. Aynı yöntemin uygulanması ile elde edilen 15 g taze bitki örneğinde herhangi bir inhibisyonun gözlenememiş olması ise bütün örneklerin 4 saat maserasyona tabi tutulması sonucu miktarın artışına bağlı olarak sürenin yetersiz gelmiş olabileceği ve bundan dolayı engellenmenin meydana gelmediği düşünülmektedir.

Ekstraksiyon işlemi uygulanmış kuru limon otu yaprağı ekstraktlarının deneme materyali üzerine etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Minimum bakterisidal konsantrasyon, uygulanan dozların hiçbirinde tespit edilememiştir. Denemelerde 10 ve 20 g tartılarak hazırlanan bitki ekstraktlarından disk difüzyon yöntemi ile uygulanan 10, 15, 20, 25 µL ve tüp dilüsyon yönteminde 20 µL’den 150 µL’ye kadar uygulanan konsantrasyonlarından hiç birinde *E. coli*’nin inhibe edilememesi, örneğin oda koşullarında kurutulması aşamasında uçucu bileşenlerin özellikle de limon otu içerisinde yüksek oranda bulunan sitralin ortamdan uzaklaşmış olabileceği düşüncesini ortaya çıkarmıştır. Uçucu olmayan antimikrobiyel bileşenlerin kurutma ile ortamda daha konsantre hale gelmesi beklenen bir sonuç iken, uçucu antimikrobiyel bileşenlerde ise bu durumun tersi söz konusu olabilmektedir.

Şekil 4.2’te görüldüğü gibi uygulamada kullanılan sitral dozları ile elde edilen zon çapları arasında doğrusal bir ilişkinin bulunmaması ve dolayısıyla zon çaplarının dalgalanma göstermesine sebep olarak ise bakterinin küçük oranlarda artan sitral dozuna zamanla adapte olarak gelişmeye devam etmesi gösterilebilir.

Bu çalışmada denenen dozlar ve konsantrasyonlar kapsamında özellikle kuru bitki ekstraktının *E. coli* ATCC 25922 üzerine hiçbir inhibisyon etkisi olmadığı, ancak 10 g taze limon otu yapraklarının maserasyon yöntemi ile elde edilen ekstraktının inhibisyon etkisi olduğu gözlenmiştir. Antibiyotik denemelerinde ise vankomisin ve cefazolin diskleri içeren petri kapları hariç olmak üzere diğer tüm petri kapları içerisinde engelleme

zonları tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, *in vitro* koşullarda *E. coli* ATCC 25922'nin, hazır antibiyotik emdirilmiş olarak temin edilen disklerde Nalidiksik asit ve Polimiksin B'de 30µg, Trimetoprimin'in de 15 µg dozu ile engellenebileceğini ortaya koymuştur. Gentamisin ve ampisilinin uygulanan dozlar arasında minimum inhibisyon konsantrasyonları sırasıyla 0,6 ve 1,0 mg/µL olarak tespit edilmiştir.

Bundan sonraki çalışmalarda taze limon otunun farklı gramajlarda hazırlanmış örneklerinin doz denemeleri ve özellikle kuru limon otunun farklı çözen maddelerle elde edilen ekstraktlarının *E. coli* ATCC 25922 ve diğer patojen mikroorganizmalar üzerine inhibisyon etkisinin araştırılması önerilebilir. Buna bağlı olarak limon otunun bazı gıdalarda ve özellikle tat ve aromasının etkilenmeyeceği içeceklerde *E.coli* ATCC 25922 gelişimini engelleme amacıyla belirlenen dozlarda kullanımı önerilebilir. Ayrıca bilinen konsantrasyonlardaki antibiyotiklerin *E. coli* üzerine minimum inhibisyon konsantrasyonu üzerine çalışmalar yapılabileceği gibi özellikle gentamisin ve ampisilin'in bu çalışmada denenilen en düşük dozları (0,6 ve 1,0 mg/µL), daha düşük dozlara doğru sabit bir oran ile azaltılarak gerçek minimum inhibisyon değerleri elde edilebilir.

## KAYNAKLAR

- Abou Zeid, A.A., Shalaby M.A., Abdel-Aziz, M.İ.M. 2010.** Control Of some multi-resistant bacteria Infecting upper respiratory system using certain essential oils and plant extracts. *Proceeding of Fifth Scientific Environmental Conference, Zagazig Uni., Egypt* 87-105.
- Akthar, M.S., Degaga, B., Azam T. 2014.** Antimicrobial activity of essential oils extracted from medicinal plants against the pathogenic microorganisms: A review. *Issues in Biological Sciences and Pharmaceutical Research*, 2(1):1-7.
- Ali, H.F.M., El-Beltagi, H.S., Nasr, N.F. 2008.** Assessment of volatile Components, Free Radical-Scavenging Capacity and Anti-Microbial Activity of Lemon Verbena Leaves. *Research Journal of Phytochemistry*, 2(2): 84-92.
- Ali, H.F.M., El-Beltagi, H.S., Nasr, N.F. 2011.** Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activity of *Aloysia Triphylla*. *Journal Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 10(8): 2689-2699.
- Altuner, E.M., Canlı, K. 2012.** In vitro Antimicrobial Screening of *Hypnum andoi* A.J.E. Sm. *Kastamonu Üni., Orman Fakültesi Dergisi*, 12 (1): 97-101.
- Arctander, S. 1969.** In: Perfume and Flavor Chemicals (Aroma Chemicals) vol. I (A–J). Allured Pub., Cor., USA, 1790 pp.
- Babacan, O., Cengiz, Ş., Akan, M. 2012.** Oregano bitkisinin bazı *Salmonella* serotipleri üzerine antibakteriyel etkinliğinin belirlenmesi. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Dergisi*, 59: 103-106.
- Bagamboula, C.F., Uyttendaele, M., Debevere, J. 2003.** Antimicrobial effect of spices and herbs on *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri*. *Journal of Food Protection*, 66(4): 668-673.
- Baytop, T. 1999.** Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. Nobel Tıp Kitapevleri. ISBN. 975-420-021-1. S. 287.
- Belda-Galbis, C.M., Martinez, A., Rodrigo, D. 2012.** Effect of citral concentration and temperature on *Escherichia coli* K12 growth. International conference of food engineering, 8-12 July, 2012, Valencia, Spain.
- Birinci-Yildirim A., Pehlivan Karakas F., Ucar Turker A. 2013.** In vitro antibacterial and antitumor activities of some medicinal plant extracts, growing in Turkey. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicin*, 2012: 616-624.
- Borchardt, J.R., Wyse, D.L., Sheaffer, C.C., Kauppi, K.L., Fulcher, R.G., Ehlke, N.J., Biesboer, D.D., Bey, R.F. 2008.** Antimicrobial activity of native and naturalized plants of Minnesota and Wisconsin. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2 (5): 98-110.

**Brown, D. 1996.** Encyclopedia of Herbs and Their Uses. Dorling Kindersely Limited. 9 Henrietta Street London. WC2 8PS ISBN 07513-020-31. 153 p.

**Burt, S. 2004.** Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods-A review. *International Journal of Food Microbiology*, 94: 223-253.

**Carnat, A., Carnat, A.P., Fraisse, D., Lamaison, J.L. 1999.** The aromatic and polyphenolic composition of lemon verbena tea. *Fitoterapia*, 70: 44-49.

**Ceylan, A. 1996.** Tıbbi Bitkiler 2. Uçucu Yağlar İçerenler. Ege Üniversitesi Ofset Basımevi, Bornova-İzmir, s. 287-291.

**Chanda, S., Kaneria, M., Vaghasiya, Y.K. 2011.** Evaluation of antimicrobial potential of some Indian medicinal plants against some pathogenic microbes. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 2(2): 225-228.

**Choudhury, S., Sharan, L., Sinha, M. P. 2013.** Harmacological efficacy of some medicinal plants used for treatment of gastrointestinal diseases. *An International Quarterly Journal Of Environmental Sciences*, 3: 111-116.

**Cutter, C.N. 2000.** Antimicrobial effect of herb extracts against *Eshericia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella typhimurium* associated with beef. *Journal of Food Protection*, 63(5): 601-607.

**Duarte, M.C.T., Leme, E.E., Delarmelina, C., Soares, A.A., Figueira, G.M., Sartoratto, A. 2007.** Activity of essential oils from Brazilian medicinal plants on *Escherichia coli*. *Journal of Ethnopharmacology*, 111: 197-201.

**Ersoy, E., Çoşkun, A., Günel, N. 2011.** *Pelargonium graveolens*'un Farklı Eksplant Özütlerinin Antimikrobiyal Etkisi. Tübitak-Bideb Projesi, Proje Raporu, Proje Danışmanlığı Eğitimi Çalıştayı, Gebze, Kocaeli.

**Ferreira Junior, W.S., Santoro, F.R., Borba Nascimento, A.L., Ladio, A.H., Albuquerque, U.P. 2013.** The role of individuals in the resilience of local medical systems based on the use of medicinal plants – a hypothesis. *Ethnobia. and Conser.*, 2:1.

**Friedman, M., Henika, P.R., Mandrell, R.E. 2002.** Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica*. *J. Food Prot.* 65: 1545-1560.

**Funes, L., Fernandez-Arroyo, S., Laporta, O., Pons, A., Roche, E. et al. 2009.** Correlation between plasma antioxidant capacity and verbascoside levels in rats after oral administration of lemon verbena extract. *Food Chem.*, 117: 589-598.

**Giray H., Soysal A. 2007.** Türkiye’de Gıda Güvenliği ve Mevzuatı. TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni, 6(6): 485-490.

**Gonzales, R.D., Tamagnini, L.M., Olmos, P.D., de Sousa, G.B. 2002.** Evaluation of a chromogenic medium for total coliforms and *Escherichia coli* determination in ready-to-eat foods. *Food Microbiol*, 20: 601-4.

**Hameş-Kocabaş, E.E., Yeşil-Çelikleş, Ö., İşleten, M., Vardar-Sukan, F. 2008.** Antimicrobial Activity of Pine Bark Extract And Assessment of Potential Application In Cooked Red Meat. *Gıda*, 33(3): 123-127.

**Hudaib, M., Tawaha, K., Bustanji, Y. 2013.** Chemical Profile of the Volatile Oil of Lemon verbena (*Aloysia citriodora* Paláu) Growing in Jordan. *TEOP*. 16 (5): 568 – 574.

**Jaberian, H., Piri, K., Nazari, J. 2013.** Phytochemical composition and in vitro antimicrobial and antioxidant activities of some medicinal plants. *Food Chemistry*, 136: 237–244.

**Kapil, U., Bhavna, A. 2002.** Adverse effects of poor micronutrient status during childhood and adolescence. *Nutr Rev.*, 60: 84-90.

**Karik, Ü., Azkan, N. 2011.** Farklı Dikim Aralıklarının Limon Otu (*Lippia citriodora* L.) Bitkisinde Herba ve Uçucu Yağ Verimi İle Uçucu Yağın Kalite Özelliklerine Etkisi. *Bahçe*, 40(1): 23-34.

**Khani, A., Basavand, F., Rakhshani, E. 2012.** Chemical composition and insecticide activity of lemon verbena essential oil. *J. Crop Prot.*, 1(4): 313-320.

**Koochak, H., Seyyednejad, S.M., Motamedi, H. 2010.** Preliminary study on the antibacterial activity of some medicinal plants of Khuzestan (Iran). *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 3(3): 180-184.

**Kumar, A., Schhweizer, H.P. 2005.** Bacterial resistance to antibiotics: active efflux and reduced uptake, *Adv. Drug Deliv Res*, 57: 1486-1513.

**Lalko, J., Api, A. M. 2008.** Citral: Identifying a threshold for induction of dermal sensitization. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 52(1): 62-73.

**Lee, G.Y., Jang, H.I., Hwang, I.G., Rhee, M.S. 2009.** Prevalence and classification of pathogenic *Escherichia coli* isolated from fresh beef, poultry, and pork in Korea. *International Journal of Food Microbiology*, 134: 196-200.

**Levy, S.B. 2005.** Antibiotics Resistance- The Problem Intensifies. *Adv. Drug Deliv. Res.*, 57(2): 1446-1450.

**Maswal, M., Dar, A. A. 2014.** Formulation challenges in encapsulation and delivery of citral for improved food quality. *Food Hydrocolloids*, 37: 182-195.

**Mothana, R.A.A., Abdo, S.A.A., Hasson, S., Althawab, F.M.N., Alaghbari, S.A.Z., Lindequist, U. 2010.** Antimicrobial, Antioxidant and Cytotoxic Activities and Phytochemical Screening of Some Yemeni Medicinal Plants. *eCAM*, 7(3)323–330.

**Naveed, R., Hussain, I., Tawab, A., Tariq, M., Rahman, M., Hameed, S., Mahmood, M.S., Siddique, A.B., Iqbal, M. 2013.** Antimicrobial activity of the bioactive components of essential oils from Pakistani spices against *Salmonella* and other multi-drug resistant bacteria. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13:265.

**Onawunmi, G.O. 1989.** Evaluation of the antimicrobial activity of citral. *Lett. Appl. Microbiol.* 9: 105-108.

**Özkan, O., Aydın, H., Bağcıgil, A.F. 2009.** *Salvia verticillata* ve *Phlomis pungens*'in in vitro Antibakteriyel Etkinliğinin Değerlendirilmesi. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 15 (4): 587-590.

**Pires, S.M., Vieira, A.R., Perez, E., Lo Fo Wong, D., Hald, T. 2012.** Attributing human foodborne illness to food sources and water in Latin America and the Caribbean using data from outbreak investigations. *International Journal of Food Microbiology*, 152: 129-138.

**Qaralleh, H., Idid, S., Saad, S., Susanti, D., Taher M., Khleifat, K. 2010.** Antifungal and Antibacterial Activities of Four Malaysian Sponge Species (Petrosiidae). *Journal de Mycologie Médicale*, 20: 315-320.

**Radu, S., Ling, O.W., Rusul, G., Karin, M.I.A., Nishibuchi, M. 2001.** Detection of *Escherichia coli* O157:H7 by multiplex PCR and their characterization by plasmid profiling, antimicrobial resistance, RAPD and PFGE analyses. *Journal of Microbiology Methods*, 46: 131-139.

**Rajakaruna, N., Harris, C.S., Towers, G.H.N. 2002.** Antimicrobial Activity of Plants Collected from Serpentine Outcrops in Sri Lanka. *Pharmaceutical Biology*, 40(3):235-244.

**Riley, L.W., Remis, R.S., Helgerson, S.D., McGee, H.B., Wells, J.G., Davis, B.R., Herbert, R.J., Olcott, E.S., Johnson, L.M., Hargrett, N.T., Blake, P.A., Cohen, M.L. 1983.** Haemorrhagic colitis associated with a rare *E. coli* serotype. *New Eng. J. Med.*, 308: 681-685.

**Rios, J.L., Recio, M.C. 2005.** Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 100: 80-84.

**Saddiq, A.A., Khayyat, S.A. 2010.** Chemical and antimicrobial studies of monoterpene: Citral. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 98: 89–93.

**Sağdıç, O., Karahan, A.G. , Özcan, M., Özkan, G. 2003.** Effect of some spice extracts on bacterial inhibition. *Food Science and Technology International*, 9(5): 353-356.



**Salazar-Aranda, R., Perez-Lopez, L.A., Lopez-Arroyo, J., Alanis-Garza, B.A., de Torres, N. W. 2011.** Antimicrobial and Antioxidant Activities of Plants from Northeast of Mexico. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011-6p.

**Santos-Gomes, P.C., Fernandes-Ferreira, M., Vicente, A.M.S. 2005.** Composition of the essential oils from flowers and leaves of Vervain (*Aloysia triphylla* (L'Herit.) Britton) grown in Portugal. *J. Essent. Oil Res.*, 17 (1): 73-78.

**Sarkhail, P., Abdollahi, M., Shafiee, A. 2003.** Antinociceptive effect of *Phlomis olivieri* Benth., *Phlomis anisodonta* Boiss. and *Phlomis persica* Boiss. total extracts. *Pharm. Res.*, 48: 263-266.

**Sartoratto, A., Machado, A.L.M., Delarmelina, C., Figueira, G.M., Duarte, M.C.T., Rehder, V.L.G. 2004.** Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Braz. J. Microbiol.*, 35: 275-280.

**Smith-Palmer, A., Stewart, J., Fyfe, L. 2001.** The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *Food Microbiology*, 18: 463-470.

**Somolinos, M., Garcia, D., Condon, S., Mackey, B., Pagan, R. 2009.** Inactivation of *Escherichia coli* by citral. *Journal of Applied Microbiology.*, 108: 1928-1939.

**Sundaram, S., Dwivedi, P., Purwar, S. 2011.** Antibacterial activities of crude extracts of *Chlorophytum borivilianum* to bacterial pathogens. *Reseach journal of medicinal plant*, 5(3): 343-347.

**Syed, G.W., Syed, A.S., Oh, L.A. 2010.** Risk Evaluation Under Various Speculations of Antibiotic Usage; A Cohort Survey Among Outpatients of Pinang, Malaysia. *Eur. J. Gen. Med.*, 7: 303-309.

**Tekwu, E. M., Pieme, A.C., Beng, V. P. 2012.** Investigations of antimicrobial activity of some Cameroonian medicinal plant extracts against bacteria and yeast with gastrointestinal relevance. *Journal of Ethnopharmacology*, 142: 265-273.

**Uğuz, M.T. 2011.** Bazı Aromatik Bitki Türlerinin Metanol Ekstrelerinin Antibakteriyal Aktiviteleri. *Bingöl Üniv. Fen. Bil. Dergisi*, 1(2): 1-4.

**Vanderbank, H. 1949.** Ergebnisse der Chemotropie der Tuberculose. *Pharmazie*, 4:198-207.

**Voravuthikunchai, S., Lortheeranuwat, A., Jeeju, W., Sririrak, T., Phongpaichit, S., Supawita, T. 2004.** Effective medicinal plants against enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Journal of Ethnopharmacology*, 94: 49-54.

**WHO (World Health Organization),** The world health report 2007: A safer future: global public health security in the 21st century, 2007, <http://www.who.int/whr/2007> (Erişim tarihi:10.08.2013)

**Xia, X. 2010.** Pathogenic *Escherichia coli* in retail meats. *Ph. D. Thesis*, Faculty of the Graduate School, University of Maryland, USA.

**Xue, J., Zhang, W. 2013.** Understanding China's food safety problem: An analysis of 2387 incidents of acute foodborne illness. *Food Control*, 30(1): 311-317.

**Ye, C.L., Dai, D.H., Hu, W.L. 2013.** Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil from onion (*Allium cepa* L.). *Food Control*, 30: 48-53.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Duygu BEKTAŞ  
Doğum Yeri ve Tarihi : Bursa / 12.01.1985  
Yabancı Dili : İngilizce  
Eğitim Durumu  
Lise : Bursa Erkek Lisesi (1999-2003)  
Lisans : Ankara Üniversitesi (2004-2009)  
Yüksek Lisans : Uludağ Üniversitesi (2009-2014)  
Çalıştığı Kurum : Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı  
Dursunbey İlçe Müdürlüğü  
İletişim : [duygubektas85@gmail.com](mailto:duygubektas85@gmail.com)  
Yayımlar :

**Bektaş, D., Korukluoğlu, M. 2012.** Limon Otu Ekstraktı (*Lippia citriodora*) ve Sitralin *Escherichia coli* Üzerine Antimikrobiyel Etkisinin Araştırılması. 11. Gıda Kongresi, 10-12 Ekim 2012, Mustafa Kemal Üni., Hatay.

**Gülgör, G., Bektaş, D., Korukluoğlu, M., Kumral, A. 2012.** Bisfenol A İçerikli Gıda Ambalajlarına Güncel Yaklaşım. 11. Gıda Kongresi, 10-12 Ekim 2012, Mustafa Kemal Üni., Hatay.

**Kumral, A., Bektaş, D., Gülgör, G., Korukluoğlu, M. 2012.** Gemlik Çeşidi Olarak Satışa Sunulan Sofralık Zeytinlerin Bazı Özellikleri. 3. Ulusal Zeytin Öğrenci Kongresi, 16-18 Mayıs 2012, Adnan Menderes Üni., Aydın.

**Bektaş, D., Gülgör, G., Korukluoğlu, M. 2012.** Akıllı Etiketleme Teknolojisi ve Kullanılabilirliği. 3. Gıda Güvenliği Kongresi, 3-4 Mayıs 2012, İstanbul Harbiye Askeri Müze ve Kültür Sitesi, İstanbul.

**Gülgör, G., Bektaş, D., Korukluoğlu, M. 2012.** Nutrigenetik. 3. Gıda Güvenliği Kongresi, 3-4 Mayıs 2012, İstanbul Harbiye Askeri Müze ve Kültür Sitesi, İstanbul.

**Bektaş, D., Korukluoğlu, M. 2011.** Laktik Asit Bakterilerinin Küf gelişimi Üzerine Etkileri. 7. Gıda Mühendisliği Kongresi, 24-26 Kasım 2011, Başkent Öğretmenevi, Ankara.

**Bektaş, D., Yavuz, M. 2010.** Zeytinyağının Sağlık Üzerine Etkileri. II. Ulusal Öğrenci Zeytin Kongresi, 20-22 Mayıs 2010, Gemlik/Bursa.

**Yavuz, M., Bektaş, D. 2010.** Sofralık Zeytin Fermentasyonu ve Mikroflorası. II. Ulusal Öğrenci Zeytin Kongresi, 20-22 Mayıs 2010, Gemlik/Bursa.