

PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***ALLIUM SATIVUM* L. (KASTAMONU VE DENİZLİ YEREL) BİTKİSİNİN
UÇUCU YAĞLARININ KİMYASAL BİLEŞİMİ, ANTİBAKTERİYEL VE
ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Gülay KOZAN**

Anabilim Dalı : Biyoloji

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Gürkan SEMİZ

HAZİRAN 2012

YÜKSEK LİSANS TEZ ONAY FORMU

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü 081461008 nolu öğrencisi Gülay KOZAN tarafından hazırlanan “*ALLIUM SATIVUM L. (KAŞTAMONU VE DENİZLİ YEREL) BİTKİSİNİN UÇUCU YAĞLARININ KİMYASAL BİLEŞİMİ, ANTİBAKTERİYEL VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİNİN KARŞILAŞTIRILMASI*” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Gürkan SEMİZ (PAÜ)

II. Danışman : Prof. Dr. Ali ÇELİK (PAÜ)
(Jüri Başkanı)

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Ramazan MAMMADOV (PAÜ)

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Mehmet ÇİÇEK (PAÜ)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Ekrem DÜNDAR (BALIKESİR ÜNİ.)

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 04/07/2012 tarih ve ...17/09..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü
Prof. Dr. NURİ KOLSUZ

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğini beyan ederim.

İmza

: 

Öğrenci Adı Soyadı : Gülay KOZAN

ÖNSÖZ

Danışmanlığımı üstlenen, çalışmalarımda maddi ve manevi hiçbir desteğini, yardımını esirgemeyen, her zaman yanımda olan ve değerli zamanını ayıran Sayın Yrd. Doç. Dr. Gürkan Semiz ve Prof. Dr. Ali Çelik'e; çalışmalarım esnasında araştırma laboratuvarını kullandığım Sayın Yrd. Doç. Dr. Ramazan Donat'a; antioksidan çalışmamıza yardımcı olan Sayın Yrd. Doç. Dr. Emine Nur Herken'e; çalışmalarımı gerçekleştirirken yardımlarını esirgemeyen Sayın Araş. Gör. Aslı Semiz'e; mikroorganizmaları temin eden Prof. Dr. Nevzat ŞAHİN hocama; maddi ve manevi destekleri ile her zaman yanımda olan aileme ve nişanlım Mahir Kaya'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Haziran 2012

Gülay KOZAN

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	viii
SUMMARY	ix
1.GİRİŞ	1
1.1. Uçucu Yağlar	2
1.1.1. Buhar distilasyonu (Steam distillation).....	3
1.2. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar.....	4
1.3. <i>Allium sativum</i> L. Bitkisinin Botanik Özellikleri ve Kullanımı.....	6
1.3.1. <i>Allium</i> cinsi	6
1.3.2. <i>Allium sativum</i> L. genel özellikleri ve sistematikteki yeri	7
1.4. Tezin Amacı	10
1.5. Literatür Özeti	11
2. MATERYAL METOT	17
2.1. Materyaller	17
2.1.1. Kullanılan bitki materyalleri	17
2.1.2. Antibakteriyel aktivite çalışmasında kullanılan mikroorganizmalar ve özellikleri.....	18
2.2. Yöntemler.....	20
2.2.1. Bitki ekstraktlarının hazırlanması	20
2.2.1.1. Uçucu yağın elde edilmesi	20
2.2.1.2. Sulu Sarımsak Ekstraktı	21
2.2.2. Gaz kromatografisi kütle spektrometresi	21
2.2.3. Mikroorganizma kültürlerinin hazırlanması	22
2.2.4. Antibakteriyel aktivite çalışmaları	22
2.2.5. Toplam fenolik bileşik tayini	23
2.2.6. Toplam antioksidan kapasite tayini.....	23
3. BULGULAR	25
3.1. Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi Yöntemi ile Sarımsak Yağının Analiz Sonuçları	25
3.2. Antibakteriyel Aktivite Sonuçları	26
3.3 Toplam Antioksidan Kapasite ve Toplam Fenolik Bileşik Sonuçları.....	30
4. SONUÇ VE TARTIŞMA	31
5. KAYNAKLAR	35

KISALTMALAR

ABTS	: 2,2'- Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline- sulfonic acid)
BHA	: Bütillendirilmiş hidroksi anisol
BHT	: Bütillendirilmiş hidroksi toluen
B1	: Tiamin
B2	: Riboflavin
B6	: Pridoksin
C	: Askorbik asit
DAS	: Diallyl sülfid
DADS	: Diallyl disülfid
DATS	: Diallyl trisülfid
DATTS	: Diallyl tetrasülfid
DAPS	: Diallyl pentasülfid
DAHS	: Diallyl hexasülfid
E	: α -tokoferoller
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
FDA	: Amerika Gıda ve İlaç Dairesi
GC-MS	: Gaz Kromatografisi – Kütle Spektroskopisi
GC-FTIR	: Fourier Transform İnfrared Spectroscopy
HS-SPME	: Headspace Solid-Phase Microextraction
PG	: Propil gallat
SD	: Buhar distilasyonu
SDE	: Simultaneous Distillation and Solvent Extraction
SPTE	: Solid-Phase Trapping Solvent Extraction
TAC	: Toplam antioksidan kapasite

TABLO LİSTESİ

Tablolar

1.1 : <i>A. sativum</i> 'un sistematikteki yeri.....	8
3.1 : Kastamonu ve Denizli bölgelerinden toplanan <i>A. sativum</i> bitkisinin uçucu yağının GC-MS analizi sonuçları.....	26
3.2 : Kastamonu ve Denizli bölgelerinden toplanan <i>A. sativum</i> bitkisinin uçucu yağının antibakteriyel aktiviteleri	27
3.3 : Kastamonu ve Denizli bölgelerinden toplanan <i>A. sativum</i> bitkisinin toplam fenolik bileşik ve toplam antioksidan aktiviteleri	29

ŞEKİL LİSTESİ

Şekiller

1.1 : <i>Allium sativum</i> L. (sarımsak) bitkisinden genel bir görüntü.....	9
1.2 : Alliin metabolizması	12
2.1 : Kastamonu sarımsağı	18
2.2 : Denizli sarımsağı	18
2.3 : Su buhar distilasyon yöntemi ile sarımsak uçucu yağının elde edilmesi....	22
3.1 : Sarımsak uçucu yağının <i>Citrobacter freundii</i> NRRL-B 2643 ve <i>Escherichia coli</i> MC.4100 üzerine etkisi.....	28
3.2 : Sarımsak uçucu yağının <i>Bacillus cereus</i> NRRL-B-3711 ve <i>Bacillus licheniformis</i> NRRL-B- 1001 ve üzerine etkisi.....	28
3.3 : Sarımsak uçucu yağının <i>Enterobacter aerogenes</i> NRRL-B- 3567 ve <i>Pseudomonas aeruginosa</i> NRRL-B-2679 üzerine etkisi.....	28
3.4 : Sarımsak uçucu yağının <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 33862 üzerine etkisi.....	29

ÖZET

***ALLIUM SATIVUM* L. (KASTAMONU VE DENİZLİ YEREL) BİTKİSİNİN UÇUCU YAĞLARININ KİMYASAL BİLEŞİMİ, ANTİBAKTERİYEL VE ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Allium, Amaryllidaceae familyasında yer alan, kuzey yarım kürede doğal olarak dağılım gösteren ve 15 alt cins ve 56 bölüm ile 800'ün üzerinde türü bulunan bir cinstir. Türkiye'de *Allium* cinsine ait 168 tür ve alt birimlerle birlikte toplam 188 takson bulunmaktadır. Bu çalışmada *Allium sativum* L. (sarımsak) bitkisi Kastamonu'nun Taşköprü ilçesinden ve Denizli'nin Bekilli ilçesinden toplanmıştır. Örneklerin uçucu yağları su buharı distilasyon yöntemi ile elde edilmiştir ve kimyasal bileşenleri GC-MS ile belirlenmiştir. Kastamonu ve Denizli sarımsağının uçucu yağının ana bileşenleri allil trisülfid (sırasıyla %42.52 ve %45.22) ve allil disülfid (sırasıyla %24.48 ve %32.60) olarak bulunmuştur. Sarımsak uçucu yağının, *Staphylococcus aureus* ATCC 33862, *Bacillus licheniformis* NRRL-B- 1001, *Bacillus cereus* NRRL-B-3711, *Escherichia coli* MC 4100, *Pseudomonas aeruginosa* NRRL-B-2679, *Enterobacter aerogenes* NRRL-B- 3567, *Citrobacter freundii* NRRL-B 2643 ve *Providencia stuartii* suşları üzerinde antibakteriyel etkisine disk difüzyon metodu ile bakılmıştır. Her iki bitki örneğinde yüksek oranda antibakteriyel aktivitesi vardır ve en yüksek antibakteriyel aktiviteyi *Bacillus licheniformis* NRRL-B-1001 üzerinde Kastamonu sarımsağı (17 mm) göstermiştir. Bitkilerin toplam antioksidan kapasitesine ABTS metodu ile toplam fenolik içeriğine ise folin-ciocalteu metodu ile bakılmıştır. Bu tezdin elde edilen sonuçlara göre, Kastamonu sarımsağının toplam antioksidan kapasitesi (0,551 mM/g) ve toplam fenolik madde içeriği (5,418 mM/g), Denizli sarımsağının toplam antioksidan kapasitesi (0,513 mM/g) ve toplam fenolik madde içeriğinden (4,499 mM/g) yüksek çıkmıştır.

Anahtar Kelimeler: Sarımsak, *Allium sativum*, GC-MS, antibakteriyel aktivite, antioksidan kapasitesi

SUMMARY

COMPARISON OF CHEMICAL CONSTITUENTS, ANTIBACTERIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF ESSENTIAL OIL FROM *ALLIUM SATIVUM* L. (KASTAMONU AND DENİZLİ LOCAL)

Allium, located within the Amaryllidaceae family, which is distributed naturally in the Northern hemisphere and accepted 800 species belonging to 15 subgenera and 56 sections. With 168 species and subspecies, *Allium* genera has 188 taxa in Turkey. In this study, *Allium sativum* (garlic) was collected in Taşköprü town of Kastamonu and Bekilli town of Denizli. The essential oils obtained from samples by steam distillation method and were analyzed by GC-MS. The major flavour compounds of Kastamonu and Denizli garlic have identified which were allyl trisulfide (42.52% and 45.22%, respectively) and allyl disulfide (24.48% and 32.60%, respectively). The antibacterial activities of essential oils were examined on *Staphylococcus aureus* ATCC 33862, *Bacillus licheniformis* NRRL-B-1001, *Bacillus cereus* NRRL-B-3711, *Escherichia coli* MC.4100, *Pseudomonas aeruginosa* NRRL-B-2679, *Enterobacter aerogenes* NRRL-B- 3567, *Citrobacter freundii* NRRL-B 2643 and *Providencia stuartii* strains using the disc diffusion method. There is a high antibacterial activity of each two plants and Kastamonu garlic has the highest antibacterial activity (17 mm) on the *Bacillus licheniformis* NRRL-B-1001. Total antioxidant activity was performed by ABTS method and total phenolic content was performed by folin-Ciocalteu method. As a conclusion, total antioxidant capacity (0,551 mM/g) and total phenolic content (5,418 mM/g) of Kastamonu garlic is higher than total antioxidant capacity (0,513 mM/g) and total phenolic content (4,499 mM/g) of Denizli garlic.

Key Words: Garlic, *Allium sativum*, GC-MS, antibacterial activity, antioxidant capacity

1.GİRİŞ

İnsanoğlu, insanlık tarihinin en eski medeniyetlerinden bugüne kadar çevrelerinde bulunan bitkilerden ihtiyaçları doğrultusunda çeşitli Őekillerde faydalanmıştır (Baytop, 1999). Zamanla bitkilerin tedavi edici özellikleri keşfedilmiş ve kazanılan deneyimler sonucu elde edilen bilgiler, bilinçli ve sistemli bir Şekilde gün geçtikçe artmış ve önem kazanmıştır (Ceylan, 1995). Altmış bin yıl öncesine ait Kuzey Irak'ta Őanidar Mağarası'nda 1957 yılında yapılan kazılarda bulunan Neandertal adam mezarındaki bitki rnekleri, Anadolu insanının yontma taş devrinden beri bitkileri kullandığını ve önem verdiğini göstermektedir (Kendir ve Güvenç, 2010).

Eski ağlardan günümüze gelen kitaplar ve belgeler tıbbi bitkilerin hastalıklara karşı kullanımı ile ilgili bilgiler taşımaktadır. Tıbbi ilk yazılı belgelerden olan Hitit yazıtlarında ve Antik Mısır papirüslerinde, ilkçağlardan kalan kitaplarda hep bitkilerin yerel adları ve kullanım özellikleri belirtilmiştir (Kendir ve Güvenç, 2010). Bitkilerden sadece gıda ve tedavi edici olarak yararlanılmamakta, bunun yanında yakıt, yapı malzemesi, ss eşyası yapımı, boyar madde ve inançsal amaçlı vb. kullanımlar da yaygındır (Baytop, 1999).

Türkiye, barındırdığı bitki türleri bakımından dünyanın en zengin ülkelerinden biridir. Farklı iklim koşulları, yer Őekilleri ve zengin toprak özellikleri bakımından birçok bitkinin yetişmesi için uygun Őartlara sahip olan ülkemiz 174 familyaya ait 1251 cins ve 12.000'den fazla tür ve tür altı taksonu (alt tür ve varyete) ile oldukça zengin bir bitki örtüsüne sahiptir (Erik ve Tarıkahya, 2004). Türkiye'de tıbbi olarak kullanılan bitkilerin sayısı kesin olarak bilinmemekle birlikte, 500 civarında olduğu tahmin edilmekte; yaklaşık 200 tıbbi ve aromatik bitkinin ihraç potansiyelinin olduğu belirtilmektedir (Kendir ve Güvenç, 2010).

Son yıllarda, bilim adamlarının hastalıklara karşı tedavi edici ya da koruyucu olarak etki edebilecek doğal bileşiklere olan merakı giderek artmaktadır. Dünya Sağlık rgt (WHO) kayıtlarına göre dünya nüfusunun %70-80' i tedavi veya korunmak amacıyla alternatif tıptan faydalanmaktadır. Bu amaçla kullanılan tıbbi bitki türünün sayısının 70.000 kadar olduğu belirtilmiştir (Leaman, 2006). Dünya Sağlık rgt tarafından

21.000 bitki türünün ilaç hazırlamak için uygun olduğu ifade edilmiştir (Ersöz, 2011). WHO, modern tıbbı destek olması için, gelişmekte olan ülkelerin geleneksel tedavi yöntemlerinin kullanımının yaygınlaşması ve belli bir standarda ulaştırılması için “2001–2005 yılı Geleneksel Tıp Stratejileri” programını başlatmıştır (Kendir ve Güvenç, 2010).

Bitkiler üzerine yapılan çalışmaların artmasının bir çok nedeni vardır. Bu nedenler; antibiyotiklerin sıkça kullanımı ve buna bağlı olarak patojen mikroorganizmaların direnç kazanmasına ve antibiyotiklerin etkilerinin giderek azalması, yeterli düzeyde bir kimya endüstrisine sahip olmayan gelişmekte olan ülkelerin, kolay ve ucuz bir tedavi olanağı elde etmek istemeleri, tedavi amaçlı kullanılan sentetik bileşiklerin neden olduğu tehlikeli yan etkiler, bitkisel droglardan elde edilen bazı maddelerinin sentetik olanlardan daha ucuza ve daha kolaylıkla elde edilebilir olması ve drogların birkaç etkiye birden sahip olmasıdır (Baytop, 1999). Bu durum, bitkisel ilaçların organizma üzerinde toksik ve pahalı olan sentetik ilaçlarla birlikte kullanımlarında tamamlayıcı olmasının yanında alternatif terapi aracı olarak kullanılmalarını desteklemektedir.

Yaygın olarak kullanılan antibiyotiklere karşı direnç geliştiren organizma türlerini kontrol altına alabilme konusunda antimikrobiyal etkiye sahip olan bitkiler, büyük önem arz eder. Besinlerin bozulması ve besin değerlerini kaybetmesine neden olan birincil etken mikrobiyal aktivitedir. Besinlerin bozulmasını önlemede ve infeksiyonal hastalıklara çözüm olması için doğal antimikrobiyallerin keşfi önemlidir. Bu nedenle bitkiler tedavi edici etkilerinin yanı sıra yeni antibakteriyel ilaçların geliştirilmesi için yapılan araştırmalarda kullanılabilirler.

1.1 Uçucu Yağlar

Aromatik bitkiler, antik çağlardan bu yana tadı ve kokusunu gibi özelliklerinin yanı sıra, koruyucu ve tedavi edici özellikleri nedeniyle de sıklıkla kullanılmaktadırlar. Bu bitkilerin tıbbi etkilerinin en önemli nedenlerinden biride içerdikleri eterik yağlardır.

Aromatik bitkilere tadını ve kokusunu veren uçucu yağların gıda, parfüm ve kozmetik gibi birçok alanda kullanımının yanı sıra 20. yy ortalarından itibaren farmasötik alanda da kullanımına yönelik araştırmaların önemi gittikçe artmıştır. Uçucu yağların antibakteriyel, antiviral, antioksidant ve antidiabetik aktivitelerinden

kaynaklanan koruyucu ve tedavi edici birçok özelliğinin olduğu kanıtlanmıştır. (Edris, 2007).

Doğal antimikrobiyal bileşiklerin kaynağı olan bitki uçucu yağları, mikrobiyal bitki ve insan hastalıklarının kontrolünde kullanılmalarının yanı sıra gıda sanayinde kullanılan doğal olmayan koruyucu maddelere alternatif olup gıdaları bozan ve gıda zehirlenmelerine neden olan mikroorganizmalara karşıda kullanılabilir. (Uçan, 2008). Uçucu yağlar, doğal, kompleks ve genellikle terpenlerden ve bazı terpen olmayan bileşiklerden oluşan çoklu bileşenlerdir (Edris, 2007). Uçucu yağlar, genellikle buhar ya da hidrodistilasyon yöntemi ile bitkilerden elde edilen oda sıcaklığında sıvı halde olan, bazen donabilen, genellikle renksiz veya açık sarı renkli, uçucu, kuvvetli kokulu, yağimsı karışımlardır. Oda sıcaklığında bile buharlaşabildiklerinden uçucu yağ; güzel kokulu olmaları ve parfümeride kullanılmaları nedeniyle esansiyel yağ da denilmektedir (Grassmann ve Elstner, 2003).

Uçucu yağ eldesinde en çok buhar distilasyonu yöntemi kullanılmakla beraber, bitkinin kullanılan kısımlarına, içerdiği uçucu yağ miktarına ve hassasiyetine göre farklı yöntemlerde geliştirilmiştir. Bu yöntemler; su distilasyonu (hydrodistillation), buhar distilasyonu (steam distillation), vakum distilasyonu (vacuum distillation), çözücü ekstraksiyonu (solvent extraction), süperkritik sıvı ekstraksiyonu (supercritical fluid extraction), mikrodalgayla ekstraksiyonu (microwave-assisted extraction), sıkıştırılmış çözücü ekstraksiyonu (pressurised solvent- extraction), katı-faz mikroekstraksiyon (solid phase microextraction), çok yönlü ekstraksiyon yöntemleri (simultaneous distilasyon ekstraksiyon) ve mekanik yöntemdir (Kılıç, 2008).

1.1.1 Buhar distilasyonu (Steam distillation)

En çok kullanılan buhar distilasyonu yönteminde, taze bitki cam kap ya da fanus içerisine yerleştirilir. Bir ayırma çemberinde basınçlı su buharı oluşturulur ve bitki örneğine doğru dağıtılır. Kullanılan buharın ısısı ile serbest hale gelen uçucu yağ damlaları buharlaşır ve su buharı ile birlikte düzeneğin kondenzasyon çemberine doğru yol alır. Soğutucu yardımıyla yoğunlaşan buhar ve uçucu yağ karışımı toplama haznesinde birikir. Uçucu yağ suyun üzerinde ince bir yüzey oluşturur. Uçucu yağ, bir pipet ile üst fazdan alınarak sudan ayrılır.

1.2 Serbest Radikaller ve Antioksidanlar

Serbest radikal molekülleri dış orbitallerinde bir veya daha fazla paylaşılmamış elektron içeren, çok kararsız, diğer moleküllerle çok hızlı reaksiyona giren ve kimyasal olarak kararlı hale gelebilmek için elektron almaya gereksinim duyan moleküllerdir. Radikaller başka bir molekülün elektronunu çalarak okside eder ve bu molekülün serbest radikal haline dönüşmesine neden olur (Gökpınar ve diğ.2006). Radikaller, metabolizmanın işleyişi sırasında doğal bir süreç olan oksidasyon sonucunda oluşabilir ve organizmada çeşitli hasarlara neden olabilir. Bu hasarlar, radikallerin hücre membranı proteinlerini yıkarak hücre ölümlerine neden olmak, membran lipid ve proteinlerini yok ederek hücre membranını sertleştirip hücre fonksiyonunu engellemek, çekirdek membranını yararak çekirdekdeki DNA'yı kırılma ve mutasyonlara açık hale getirmek, bağışıklık sistemindeki hücreleri yok ederek bağışıklık sisteminin etkisini azaltmak şeklinde gerçekleşebilir (Serteser ve Gök, 2003).

Oksijen kaynaklı olan reaktif radikallerin hücrede aşırı miktarda oluşması ve hücrede tahribata yol açması oksidatif stres olarak tanımlanır. Oksidatif stresin insanlarda çeşitli kalp damar rahatsızlıklarına (arterioskleroz ve hipertansiyon), diyabet, nörodejeneratif hastalıklar (özellikle Alzheimer ve Parkinson hastalıkları), yaşlanma, kıkırdak iltihabı, solunum yolu hastalıkları (sistik fibroz ve astım), Down sendromu ve kanser gibi hastalıkların oluşumuna katkı yaptığı bilinmektedir (Edris, 2007).

Serbest radikaller, hem vücudumuzun normal metabolik faaliyetleri sırasında, hem de kimyasal ajanlar, radyasyon, alkol, sigara, ağır metaller gibi pek çok dış kaynaklı etkenlerle oluşabilen moleküllerdir. Radikallerin üç oluşum mekanizması vardır:

- 1) Kovalent Bağların Homolitik Kırılması: Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık gibi etkenler moleküllerin kimyasal bağların kırılmasına neden olur. Kırılma sırasında bağ yapısında bulunan iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde kalırsa, paylaşılmamış elektron taşıyan bu moleküller radikalik özellik gösterirler.
- 2) Normal Bir Molekülün Elektron Kaybetmesi: Normalde radikal özellik göstermeyen bir molekülün elektron kaybetmesi sonucu dış orbitalinde paylaşılmamış elektron kalması durumunda bu molekülün radikal formu oluşmuş olur.

- 3) Normal Bir Moleküle Elektron Transferi: Normalde radikal özelliği taşımayan bir moleküle tek elektron transferi ile dış orbitalinde paylaşılmamış elektron oluşursa, bu tür indirgenme reaksiyonları radikal oluşumuna neden olabilir (Kılınç, 2002).

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijen ve azottan oluşan radikallerdir. Bunlar Reaktif Oksijen Türleri (ROS); Süperoksit ($O_2^{\bullet-}$), Hidroksil (OH^{\bullet}), Peroksil (RO_2^{\bullet}), Alkoksil (RO^{\bullet}), Hidroperoksil (HO_2^{\bullet}) ve Reaktif Azot Türleri (RNS); Nitrik oksit (NO^{\bullet}), Azot dioksittir (NO_2^{\bullet}) (Halliwell ve Auroma, 1998).

Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek veya mevcut radikalleri süpürerek hücrenin zarar görmesini engelleyen ve yapısında genellikle fenolik fonksiyon taşıyan moleküllerdir (Kahkönen ve diğ. 1999). Antioksidanlar, serbest radikaller için elektron kaynağı olarak işlev görürler. Eğer serbest radikaller almak istedikleri elektronu antioksidanlardan sağarlarsa organizmadaki diğer yapılara zarar vermezler. Antioksidanlar, organizma tarafından sentezlenen ya da dışarıdan besinlerle alınan maddelerdir.

Antioksidanlar başlıca dört yolla oksidanları etkisiz hale getirirler;

1. Süpürme etkisi: Oksidan molekülleri daha zayıf olan yeni bir moleküle dönüştürerek etkisizleştirilmesidir. Antioksidan enzimler ve moleküller bu yolla etki ederler.
2. Söndürme etkisi: Oksidan moleküllere bir hidrojen atomu aktararak inaktive etmesine denir. Vitaminler ve flavonoidler bu şekilde etki ederler.
3. Zincir reaksiyonlarını kırma etkisi: Hemoglobinin, serüloplazmin ve ağır metaller oksidanları kendilerine bağlayarak inaktive olmalarına neden olurlar.
4. Onarma etkisi: Antioksidanlar, oksidatif hasar görmüş biyomolekülü onarırlar (Gökpinar ve diğ. 2006).

Antioksidan savunma sistemleri enzimatik (Süperoksit dismutaz, Selenyum bağımlı glutatyon peroksidaz, Glutatyon-S-transferaz, Katalaz, Glutatyon redüktaz) ve enzimatik olmayanlar (doğal ve sentetik) olarak ikiye ayrılabilir (Rice-Evans ve Miller, 1997). Doğal antioksidanlar içerisinde α -tokoferoller (E vitamini), askorbik asit (C vitamini), karotenoidler ve polifenolik bileşikler yer almaktadır. Sentetik antioksidanlardan en bilinenleri de bütillendirilmiş hidroksi anisol (BHA),

bütillendirilmiş hidroksi tolüen (BHT) ve propil gallat (PG)'tir (Demiray ve Tülek, 2008). Sentetik antioksidanlar besin endüstrisinde gıdaların bozunmasını önlediği ve raf ömrünü uzattığı için katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Yiyeceklerdeki sentetik antioksidanlar içerdikleri kanserojen maddeler dolayısıyla, potansiyel sağlık tehlikesi oluşturduğu tespit edilmiştir (Lee ve diğ. 2002).

Bitkilerden elde edilen en önemli doğal antioksidanlardan biride fenolik maddelerdir. Bunlar bitkilerin tüm kısımlarında görülen polifenolik bileşenlerdir. Flavonoidler, sinamik asit türevleri, kumarinler, tokoferoller ve fenolik asitler bitkisel fenolik antioksidanlara örnektir. Bu bileşiklerin besinlerde bulunan ve kolaylıkla oksitlenebilen maddeleri oksidasyondan korudukları bilinmektedir (Tunalier ve diğ. 2002). Polifenollerin serbest radikal süpürücü aktivite için ideal kimyasal yapıya sahip oldukları ve derişim düzeyinde *in vitro* olarak yapılan çalışmalarda α -tokoferol ve askorbik asitten daha etkin antioksidan özelliğe sahip oldukları ispatlanmıştır. Fenolik bileşikler sahip oldukları -OH grubu sayesinde, peroksi radikali (RO₂') gibi reaktif radikalleri nötralize eder ve sistemin antioksidan etkisine doğrudan katkıda bulunurlar (Rice-Evans ve Miller, 1997).

Gıda ve ilaç endüstrisinde kullanılmakta olan sentetik koruyucu maddelerin kanserojen etkilerinden dolayı, son yıllarda doğal antioksidanların kullanımına yönelik araştırmalar artmıştır. En önemli doğal antioksidan kaynağı olarak bilinen tıbbi ve baharat bitkilerinin kullanımı önem kazanmıştır.

1.3 *Allium sativum* L. Bitkisinin Botanik Özellikleri ve Kullanımı

1.3.1 *Allium* cinsi

Allium cinsi, Türkiye Florası'na göre Liliaceae familyası içinde yer almaktadır (Davis, 1984). Daha sonraki yıllarda Alliaceae familyası içerisinde gösterilmiş ancak son yapılan çalışmalara göre Amaryllidaceae familyasında yer aldığı belirtilmiştir (Choi ve Oh, 2011). Kuzey yarım kürede doğal olarak dağılım gösteren *Allium* cinsinin, 15 alt cins ve 56 bölüm ile 800'ün üzerinde türü bulunur (Choi ve Oh, 2011). Türkiye'de *Allium* cinsine ait 168 tür ve diğer alt birimlerle birlikte toplam 188 takson bulunmaktadır (Eker ve Koyuncu, 2011). Ülkemizdeki *Allium* türlerinin yaklaşık %40'ının endemik olduğu bildirilmiştir (Özhatay, 2002).

Allium cinsinin üyeleri, soğanlı çok yıllık otsu bitkilerdir. Soğanlar kabuklu veya rizoma bağlı bir kluster içinde bulunur. Yapraklar tabanda sarıcı, filiform, linear veya eliptik, düz veya silindirik, çoğunlukla borumsu formdadır. Çiçekler terminal bir umbelde, tomurcukken genelde bir spat ile örtülüdür. Spat tam veya 2 ya da daha fazla valve bölünmüş olabilir. Pediseller genelde tabanda brakteollüdür. Periant stellat, dar kampanulat veya ovoid urseolat şeklinde olabilir. Segmentler devamlı, serbest ve tabanda hafifçe birleşmiş, 1 damarlıdır. Stamenler 6 adet, serbest ve tabanda birleşiktir. Periant segmentlerinin tabanında başlar ve bazen tabanlarına bağlıdır. Anterler elipsoid-oblong, dorsifiks, içe dönüktür. Ovaryum 3 lokuluslu, ovüller genelde lokul başına 2 tane, nadiren daha fazla olabilir. Stilus 1, filiform, gynobasik; stigma genellikle tam, kapitat nadiren kısa, 3 lobludur. Kapsül lokulusludur. Tohumlar çoğunlukla üç kenarlı veya yassı, nadiren globos şeklinde ve siyah renktedir (Davis, 1984; Seçmen ve diğ. 1998). *Allium* türlerinden bazıları beslenme amaçlı kullanılırken bazıları ise süs bitkisi ve tıbbi bitki olarak da kullanılmaktadır.

1.3.2 *Allium sativum* L. genel özellikleri ve sistematikteki yeri

Allium cinsi içerisinde yer alan ve antik çağlardan beri insanoğlunun yetiştirdiği en eski kültür bitkilerinden biri olan *Allium sativum* L. (sarımsak, Şekil 1.1), yemeklerde tatlandırıcı olarak kullanılmasının yanı sıra yaklaşık 4000 yıldır çeşitli birçok hastalığın tedavisinde kullanılan tıbbi bir bitkidir (Block, 1985; Rivlin, 2001).

Dünyadaki bitki gen merkezleri arasında ‘Küçük Asya’ olarak adlandırılan bölgenin içerisinde yer alan ülkemizde; ülkemiz genelini kapsayan bir çalışmada 36 değişik sarımsak popülasyonunun olduğu belirlenmiştir (Anonim, 2001).

Sarımsak, 25-100 cm yükseklikte, pembe veya morumsu renkte, dik çiçekli, otsu kök, gövde, yaprak ve diş kısımlarından meydana gelen bir kültür bitkisidir. Sarımsak soğanı, beyaz veya pembemsi renkli, az sayıda soğancıktan (diş) meydana gelir. 6–15 mm arasındaki dişlerin hepsi bir arada bir kabuk tarafından sarılmışlardır. Çok kuvvetli bir kokusu ve yakıcı bir lezzeti vardır (Baytop, 1999). *A. sativum*’un sistematikteki yeri Tablo 1.1.’de verilmiştir. Sarımsak tamamen kısırdır ve bu yüzden yalnızca eşeysiz olarak dişlerinden çoğaltılır.

Tablo 1.1. *Allium sativum* 'un sistematikteki yeri.

Kingdom: Plantae

Subkingdom: Tracheobionta

Division: Magnoliophyta

Class: Liliopsida

Subclass: Liliidae

Ordo: Asparagales

Familia: Amaryllidaceae

Genus: *Allium*

Species: *Allium sativum* L.



Şekil 1.1 : *Allium sativum* L. (sarımsak) bitkisinden genel bir görüntü

Sarımsağın anavatanının Orta Asya olduğu tahmin edilmektedir (Ensminger, 1994). Uzun süre saklanabilme ve kolay taşınabilme gibi özellikle ile antik çağlardan beri kültüre alınmış olan sarımsak yemeklerde aroma verici olarak kullanılmasının yanında birçok hastalığın tedavisinde halen kullanılan bir halk ilacıdır. Sarımsağın kullanımı ile ilgili en eski veri Sümerler tarafından M.Ö 2600- 2100 yılında yazılan taş tabletlerde bulunmaktadır. Bir başka tarihi bilgi ise M.Ö. 1550 yılında Antik Mısırda bulunan Ebers Tıp Yazmalarında bulunmuştur. İçeriğinde yaklaşık 800 tıbbi reçete bulunan bu yazmada kalp hastalıkları, baş ağrısı, yılan sokmaları, yaralar ve tümörler gibi birçok hastalığın tedavisinde sarımsak ile ilgili 22 formül bulunmaktadır. (Block, 1985, Harris ve diğ. 2001)

Antik Yunanistan'da olimpiyat oyunlarında atletlerin sarımsağı performans artırıcı olarak tükettiği (Lawson, 1998), Eski Hindistan'da ise sarımsağın yüzyıllar boyunca yara ve ülser tedavisinde antiseptik losyon olarak kullanıldığı bilinmektedir (Rahman, 2007). Çin İmparatorluğunda ise sarımsak ve soğan çayı, ateş, baş ağrısı, kolera ve dizanteri için tavsiye edilmiştir. Mısır'da Firavun döneminde özellikle piramitlerin yapımı sırasında işçilere ve kölelere hastalıklardan korunmaları, sağlıklı ve diri kalmaları için bol miktarda yedirdikleri kayıtlarda yer almaktadır (Rivlin, 2001). İkinci dünya savaşı sırasında sarımsak kangreni önlemek için antiseptik olarak kullanılmıştır (Rahman, 2007).

Dünya sarımsak üretim alanı yıllar itibariyle sürekli artarak 1.165.000 hektara ulaşmıştır. FAO (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü) 2010 yılı verilerine göre Çin, dünya sarımsak üretiminde 13.664.069 ton ile birinci sıradadır. Çin'i Hindistan, Kore, Mısır ve Rusya izlemekte olup, sarımsak üretimi açısından Türkiye 15. sırada yer almaktadır. FAO 2010 yılı verilerine göre Türkiye'nin sarımsak üretimi 76.936 tondur. Yıllara göre sarımsak üretimi incelendiğinde dünya genelinde sarımsak ihracatı artarken Türkiye'de belirgin bir düşüş söz konusudur (Url-1). Türkiye'de sarımsak üretiminde Kastamonu ili %12,7'lik pay ile birinci sıradadır. Kastamonu ilinde üretilen sarımsağın %85'i Taşköprü ilçesinde yetiştirilmektedir. Kastamonu, üretim miktarı olarak Türkiye toplamının önemli bir kısmını oluşturması yanında, kaliteli, ihracata elverişli sarımsak üretmesi bakımından da önemlidir (Taşkaya, 2003). Yeterince değerlendirilemeyen bu ürünün kalitesi ve kimyasal içeriğiyle yapılacak olan çalışmalar sonucunda önemi kanıtlanarak ihracat miktarı arttırılabilir.

Sarımsağın sağlık kaynağı olmasının ön önemli nedenleri içeriğinde bulunan kükürtlü bileşikler gibi biyoaktif bileşenleridir. Bunun yanında farmokolojik özellikleri olan ve sarımsakta bolca bulunan fenolik bileşiklerinde etkisi vardır (Lanzotti, 2006). Bitkilerde bulunan toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivite arasında doğru bir orantı vardır (Stratil ve diğ. 2006). Sarımsak çiğ ya da pişmiş olarak tüketilen bir bitki olmasının yanında, günlük beslenme programlarında kullanılması amacıyla sarımsaktan üretilen ve haplar, kapsüller ve ekstratlar da bulunmaktadır (Erol ve Alpsoy, 2007). Yıllardır araştırılan sarımsağın hem besin olarak hem de tıbbi açıdan bütün avantajlarının anlaşılabilmesi için çalışmalar halen devam etmektedir. Sarımsağın bu eşsiz faydalarının en önemli sorumlusu içeriğinde bulunan kimyasal bileşenlerdir (Block, 1992). Geleneksel tedavide kullanılmasının yanı sıra son yıllarda yapılan bilimsel araştırmalar sonucunda sarımsağın kalp damar hastalıklarının tedavisinde, kan basıncını düzenleyici, kan şekeri ve kolesterolü düşürücü, bakteriyel, viral, mantar ve paraziter enfeksiyonlara karşı etkili, immun sistemi güçlendirici, antitümör ve antioksidan özelliği olan bir tıbbi bitki olduğu bildirilmektedir (Ali ve diğ. 2000).

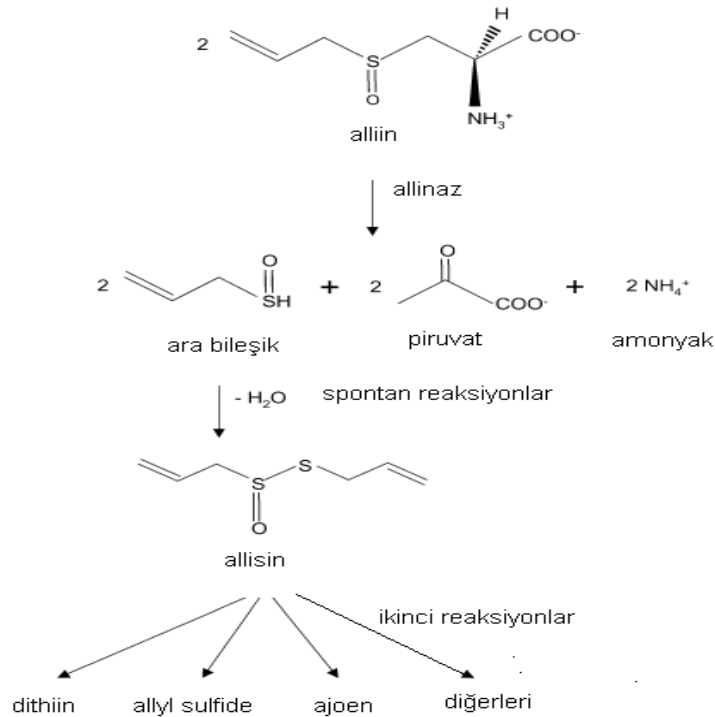
1.4 Tezin Amacı

Günümüzde hastalıkların tedavisinde doğal bitkilerin kullanımı gün geçtikçe önem kazanmaktadır. Tıbbi bitkilerin ve bu bitkilere ait uçucu yağların saf ve özellikle ana etken maddelerinin elde edilip değerlendirilmesi hem bilimsel hem de ekonomik yönden oldukça önemlidir. Sağlık açısından birçok özelliği bulunan sarımsak üzerinde uzun yıllardan beri birçok araştırma yapılmış ve hala yapılmaktadır. Bitkilerin yetiştikleri bölgedeki çevresel şartlar, tarımsal faktörler gibi dış etkenler ve genetik faktörler gibi iç etkenler bitkilerin kimyasal içerikleri üzerinde oldukça etkilidir. Bu nedenle, ülkemizde iki farklı bölgede (Kastamonu ve Denizli) yetiştirilmekte olan sarımsak bitkisinin uçucu yağlarının kimyasal içerikleri, antibakteriyel aktiviteleri, toplam antioksidan kapasiteleri ve toplam fenolik madde miktarı yönünden karşılaştırılmaları amaçlanmıştır. Bu çalışmanın bu konu ile ilgili mevcut literatüre bir katkı sağlamasını arzu etmemiz yanında, ileride yapılacak daha detaylı farmokolojik çalışmalara ışık tutmasını ve bitkilerin halk tarafından kullanılmasında bilinç kazanmasını sağlamayı planlamaktayız.

1.5 Literatür Özeti

Sarımsağın içeriğinde çok yüksek miktarda sülfürlü bileşikler mevcuttur. Bunun yanında sülfürlü olmayan bir çok bileşikte mevcuttur. Bunlar; steroidal glikositler, esansiyel yağlar, flavonoidler, anthosiyaninler, lektinler, prostaglandinler, fruktan, pektin, adozin, vitamin B1, B2, B6, C ve E, biotin, nikotinik asit, yağ asitleri, glikolipitler, fosfolipitler, esansiyel amino asitler (sistein, glutamin, izölösün ve metionin) ve selenyum gibi mineraller bulunmaktadır (Bozin ve diğ. 2008; Erol ve Alpsoy, 2007). Bu kimyasal bileşiklerin kolestrol düşürücü, kanserden koruyucu birçok biyolojik aktivitesinin olduğu ispatlanmıştır. Bu bileşiklerin kükürtlü bileşikler ile birlikte sinerjistik etki gösterdikleri düşünülmektedir (Amagase, 2006).

Sarımsağın antimikrobiyal özelliğinden sorumlu bileşikler sülfür içeren tiyosülfinatlardır. Bu bileşiklerin en önemlilerinden biri olan ve sarımsağa tipik kokusunu ve tadını veren allisin, bitkilerde bulunan diğer antimikrobiyal etki gösteren sekonder metabolitler (fenolikler, terpenoidler, alkaloidler, organik asit ve polipeptitler) gibi doğal olarak sarımsakta bulunmaz (Cowan, 1999). Sarımsağın ezilmesi, kesilmesi ya da çiğnenmesi sonucunda allinaz enziminin dokuda bulunan allini parçalaması ile oluşmaktadır (Şekil 1.2).



Şekil 1.2 : Alliin metabolizması.

Allisin stabil bir yapıya sahip olmadığından hazırlanma koşullarına bağlı olarak hızlıca diallil sülfid (DAS), diallil disülfid (DADS), diallil trisülfid (DATS), ajoen, metil allil di- ve trisülfid, vinil ditiin ve diğer sülfürlü bileşiklere dönüşebilir (Khanum ve diğ. 2004).

Sarımsağın antimikrobiyal özelliğinden sorumlu diğer önemli bir bileşiğide ajoendir. Isı yoluyla allisinden oluşan diallil disülfid ile allisin birleşince ajoen oluşur. (Mc Elnay ve Po, 1991).

Sarımsak uçucu yağının ana bileşenlerinden olan DATS, diallil tetrasülfid (DATTS), diallil pentasülfid (DAPS), ve diallil heksasülfid (DAHS) gibi sülfür atomu fazla olan bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesi DADS gibi daha az sülfür atomu içeren bileşikten daha yüksektir (Ross ve diğ. 2001).

Isı işleme görmüş sarımsak içerisinde allinaz enziminin aktivitesi yok olur bu da alliin molekülünün DATS'a dönüşmesine neden olur. Isıtılmış sarımsaktaki antimikrobiyal aktiviteden sorumlu birincil bileşiğin DATS olduğu düşünülmektedir (Kyung ve diğ. 2002).

Jirovetz ve diğ. (1992) yapmış oldukları çalışmada buhar distilasyonu yöntemi ile elde ettikleri Mısır sarımsağının uçucu yağını GC-MS ve GC-FTIR (Fourier Transform İnfrared Spectroscopy) yöntemi ile analizini yapmışlardır. Analiz sonuçlarına göre Mısır sarımsağının ana bileşeni dialliltrisülfid (%29.7) olarak bulunmuştur. Diğer başlıca bileşenler ise dialliltetrasülfid (%4.4), diallildisülfid (%3.2), diallilsülfid (%2.5), metilalliltrisülfid (%2.1), dipropilsülfid (%0,9), 3-vinil-4H-1,2-ditiin (%0,9), 2-vinil-4H-1,3-ditiin (%0,8) ve 2,5-dimetiltiyofen (%0,7)'dir.

Lee ve diğ. (2003) yapmış oldukları çalışmada sarımsak uçucu yağının elde edilme tekniklerine bağlı olarak bileşenler üzerindeki etkisini incelemek üzere dört farklı teknik kullanmıştır. Kullanılan yöntemler SD (Buhar distilasyonu), SDE (simultaneous distillation and solvent extraction), SPTE (solid-phase trapping solvent extraction), ve HS-SPME (headspace solid-phase microextraction)'dir. Kore sarımsağı üzerinde yapılan bu çalışmada uçucu yağ analizi GC-MS ile yapılmıştır. SDE yöntemi ile elde edilen başlıca bileşenler diallil disülfid (%57.88), allil sülfid (%23.59), ve diallil trisülfid (%11.40)'tir. SD yönteminin kullanıldığı uçucu yağın başlıca bileşenleri diallil disülfid (%89.77), allil sülfid (%2.43), ve diallil trisülfid (%3.89)'tir. SPTE yöntemi için bileşenler sırasıyla %97.77, %0.17, ve %0.10, HS-

SPME yöntemi için bileşenler sırasıyla %97.85, %0.01, ve %0.01'dir. termal parçalanma sonucu oluşan allil metil sülfid, dimetil disülfid ve thiirane gibi bileşenler SDE ve SD yöntemlerinde oluşurken SPTE ve HS-SPME yöntemlerinde bulunamamıştır.

Rohani ve diğ. (2011) İran sarımsağı ile yaptıkları çalışmada su distilasyon yöntemi ile elde edilen sarımsak esansiyel yağının GS-MS ile analizi yapılmıştır. Toplam yağın %89.98'ini oluşturan 14 bileşik tanımlanmıştır. Bu bileşiklerden miktarı %0.5'ten büyük olanlar; diallil trisülfid (%27.33), diallil disülfid (%24.67), metil allil trisülfid (%19.11), propenil dithiopropanoate (%8.59), dimetil trisülfid (%2.18), diallil tetrasülfid (%2.13), 3-vinil-[4H]-1,2-ditiin (%1.49) ve 2-vinil-[4H]-1,3-ditiin (%1.25)'dir.

Sarımsağın bakteriler üzerindeki inhibitör etkisinin allisinin –S(O)–S– grupları ile bakteri hücre proteinlerindeki –SH grupları ile yaptığı spesifik bağlarla olduğu kanıtlanmıştır (Kyung, 2011). Sarımsağın içeriğinde bulunan sülfürlü bileşiklerin antimikrobiyal etkilerine, bazı proteinler, saponinler ve fenolik bileşikler az da olsa bir katkıda bulunmaktadır. Antimikrobiyal aktivitesine bağlı olarak sarımsak, mikrobiyal üremenin kontrol altına alınmasında doğal bir koruyucu olarak kullanılmaktadır (Singh ve diğ. 2001). DADS ve DAS Amerika Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından gıdalarda kullanımına izin verilmiş, Avrupa Konseyi tarafından da insan sağlığına zararlı olmayan, gıdalara ilave edilebilen maddeler listesine ilave edilmiştir (Khanum ve diğ. 2004).

Bilimsel olarak sarımsağın antimikrobiyal özelliği ilk olarak 1858 yılında Louis Pasteur tarafından tespit edilmiştir (Hughes ve Lawson, 1991) ve 1932 yılında Albert Schweitzer, Afrika'da görülen amipli dizanteri hastalığının tedavisinde sarımsak kullanmıştır. Tifo, kolera, difteri ve tüberküloz gibi birçok bulaşıcı hastalığın tedavisinde de sarımsak kullanılmıştır (Lanzotti, 2006).

Yapılan bir çok çalışma sonucunda sarımsağın; *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* ve diğer bakterilere karşı penisilin, eritromisin, streptomisin ve tetrasilin gibi reçete ilaçlarının etkisini göstermiş olduğu bulunmuştur (Ankri ve Mirelman, 1999). Sarımsak ile doğal olarak yetişen diğer bazı *Allium* türlerinin (*A. tuncelianum*, *A. scabriflorum*, *A. viride*) su, etanol ve eterdeki 1/10'lük ekstraktlarının 68 mikroorganizma ve 5 referans suş üzerindeki

antimikrobiyal ve antikandidal etkisinin disk difüzyon metodu ile incelendiği çalışmada sarımsağın diğer *Allium* türlerinden daha etkili olduğu tespit edilmiştir (Taşkın ve diğ. 1997).

Sarımsaktaki bileşenler; antibakteriyel, antifungal, antiviral ve antiprotozoal aktivite göstermektedir (Harris ve ark. 2001). Bu bileşenlerin canlı dokular üzerinde antibiyotik etki, hipoglisemik etki, antitümör, antioksidan ve antitrombotik özelliklere sahip olduğu kanıtlanmıştır. Ayrıca sarımsağın serum kolesterolünü düşürücü etkisinden dolayı kardiyovasküler hastalıklar gibi çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde de etkili olduğu bildirilmiştir (Ali ve diğ. 2000).

Helicobacter pylori, kronik gastrit, mide ve onikiparmak bağırsağı ülserlerine neden olmaktadır. Sarımsak yağı, sarımsak unu ve diallil sulfur bileşiklerinin *in vitro H. pylori*'nin üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmada bütün sarımsak ürünlerinin bakteri üzerinde önemli bir etkisinin olduğu kanıtlanmış ve *H. pylori*'nin neden olduğu hastalıklara karşı *in vivo* kullanılabileceğini önermişlerdir (O'Gara ve diğ. 2000). Tsao ve Yin (2001), yaptıkları çalışmada sarımsak yağının ve bu yağın iki bileşeni olan diallil trisülfit ve diallil tetrasülfit'in *Pseudomonas aeruginosa* ve *Klebsiella pneumoniae*'ye karşı antibakteriyel aktivite gösterdiklerini yayınlamışlardır. Sasaki ve Kita (2003), agar difüzyon ve tüp dilüsyon metotlarını kullanarak sarımsak tozunun *Bacillus anthracis*'e karşı inhibisyon gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Sarımsak ve soğan uçucu yağlarının farklı konsantrasyonlarda (50, 100, 200, 300 ve 500 ml/l) iki bakteri (*Staphylococcus aureus*, *Salmomella enteritidis*) ve üç mantar (*Aspergillus niger*, *Penicillium cyclopium* ve *Fusarium oxysporum*) üzerindeki antimikrobiyal aktivitelerinin disk difüzyon yöntemi ile bakıldığı çalışmada sarımsak yağının her konsantrasyonda suşlar üzerinde inhibisyon etki gösterdiği bildirilmiştir (Benkeblia, 2004). Bakri ve Douglas (2005) diş ve diş eti hastalıklarının önemli nedenlerinden olan 13 gram pozitif ve 6 gram negatif bakteri, *Porphyromonas gingivalis* bakterisinin sistein proteazları ve bir maya üzerinde sulu sarımsak ekstresinin inhibitör etkisini araştırmışlardır. Yapılan çalışma sonucunda sarımsak ekstresinin tüm organizmalar ve proteaz enzimi üzerinde inhibe edici etkisinin olduğu yayınlanmıştır. Sarımsak, yüksek kan basıncı, yüksek kolesterol ve trigliserid seviyelerini düşürmek suretiyle kalp hastalıklarına karşı koruma sağladığı yapılan araştırmalarda ortaya konmuştur (Karasaki, 2001). Sarımsak, zararlı LDL

kolesterol'ün sentezini inhibe edip kandaki faydalı HDL kolesterol'ün miktarını arttırarak toplam kan kolesterolünü düşürdüğü tespit edilmiştir. Sarımsağın tüketimine bağlı olarak kolesterol düşürme etkisinin de arttığı görülmüştür. Dünyadaki çeşitli populasyonlarda yapılan epidemiyolojik çalışmalar sonucunda sarımsak tüketimi ile kalp-damar rahatsızlıkları arasında ters orantı olduğu gözlenmiştir (Berthold, 1998).

Sarımsağın antifungal (Yoshida ve diğ. 1987), antiviral (Weber ve diğ. 1992) ve antiprotozoal (Lun ve diğ. 1994) aktiviteye sahip oldukları gösterilmiştir. Cu^{+2} , *Saccharomyces cerevisiae'* ye karşı doza bağlı antifungal aktivite göstermiştir ve bu aktivitenin lethal etkisi allicin varlığında çok yüksek miktarda artmıştır (Ogital ve diğ. 2005). Sarımsak, antiviral aktiviteye sahiptir ve bu aktiviteden sorumlu bileşiklerin virüsidal aktiviteleri sırasıyla; ajoen > allisin > allimetil tiyosülfinat > metilallil tiyosülfinat şeklinde belirlenmiştir. Laboratuvar çalışmalarında sarımsağın gerek influenza B ve gerekse herpes simplex virüslerine karşı etkili olduğu gösterilmiştir (Weber ve diğ. 1992).

Giardiasis tedavisinde kullanılan ilaçların yan etkileri ve bu ilaçlara karşı kazanılan direnç tedaviyi zorlaştırmaktadır. Yapılan klinik araştırmalar sonucunda sarımsağın *Giardia lamblia* ve *Giardia intestinalis* üzerinde etkin bir etkisinin olduğu görülmüştür (Lun ve diğ. 1994). Konsantre sarımsak ekstraktı hem tek başına hemde amphotericin B ile birlikte kriptokokkal menenjit hastalığına neden olan *Cryptococcus neoformans* suşları üzerinde yapılan in vitro çalışmalar sonucu sarımsak ekstresi üç *C. neoformans* izolatları için fungisidal ve fungistatik etki göstermiştir. Kriptokokkal menenjit hastalığı tedavisinde kullanılan amphotericin-B antibiyotiği ile birlikte uygulanan sarımsak ekstresi tüm *C. neoformans* izolatları için fungistatik etki göstermiştir (Davis ve diğ. 1994).

In vitro yapılan bir çalışmada, allisinin serbest tiyol içeren enzimler gibi etkin radikal yakalama etki gösterdiği bildirilmiştir. Allisinin hidroksi radikallerini süpürücü etkisi vardır (Rabinkov ve diğ. 1998). Ayrıca allisin ve ajoen güçlü bir oksidan olan peroksinitritin öncüsü olan NO oluşumunu inhibe etmiştir (Dirsch ve diğ. 1998).

Bitkilerin yetiştikleri bölgedeki çevresel şartlar ve tarımsal faktörler gibi dış etkenler ve genetik faktörler gibi iç etkenler bitkilerin kimyasal içerikleri üzerinde oldukça etkilidir (Tomás-Barberán ve Espin, 2001). Beato ve diğ.(2011), sarımsakta bulunan

toplam fenolik miktarı ile genetik ve çevresel faktörlerin ilişkisini incelemek için İspanyanın dört farklı lokalitesinden çeşitli sarımsak bitkisi toplamışlardır. Toplam fenolik madde analizi folin-ciocalteu reaktifi yöntemi ile yapılmıştır. Örneklerin toplam fenolik içeriği 3,4 mg GAE/g ile 10,8 mg GAE/g arasında değişmektedir. Bu çalışmanın sonucunda çevresel faktörlerin fenolik içerik üzerinde ciddi bir değişim yaratmadığını fakat genetik faktörlerin fenolik madde içeriğini önemli derecede etkilediğini yayınlamışlardır.

2. MATERYAL METOT

2.1 Materyaller

2.1.1 Kullanılan bitki materyalleri

Bu çalışmada kullanılan Kastamonu sarımsağı (Şekil 2.1), 02.08.2011 tarihinde Kastamonu'nun Taşköprü ilçesinden toplanmış ve analizler için Denizli'ye getirilmiştir. Denizli sarımsağı (Şekil 2.2) ise 20.07.2011 örnekleri ise tarihinde Bekilli ilçesinden elde edilmiştir. Örnekler kuru, karanlık ve serin bir yerde kurutulduktan sonra analiz işlemlerine kadar açıkta, serin ve kuru bir ortamda bekletilmiştir.



Şekil 2.1 : Kastamonu sarımsağı.



Şekil 2.2 : Denizli sarımsağı.

2.1.2 Antibakteriyel aktivite çalışmasında kullanılan mikroorganizmalar ve özellikleri

Çalışmada, gram (+) bakterilerden *Staphylococcus aureus* ATCC 33862, *Bacillus licheniformis* NRRL-B- 1001, *Bacillus cereus* NRRL-B-3711, ve gram (-) bakterilerden *Escherichia coli* MC.4100, *Pseudomonas aeruginosa* NRRL-B-2679, *Enterobacter aerogenes* NRRL-B- 3567, *Citrobacter freundii* NRRL-B 2643, *Providencia stuartii* suşları kullanılmıştır. Tüm mikroorganizmalar 19 Mayıs Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümünden temin edilmiştir.

Staphylococcus aureus

S. aureus 0,5-1,5 µm çapında yuvarlak, hareketsiz, sporsuz, üzüm salkımı şeklinde kümeler oluşturan aerop gram pozitif koklardır. *S. aureus*; deride abseler, fronkül (sivilce), sikozis (sakal kıl kökleri yangısı), kan çıbanı, hidroadenit (ter bezi yangısı), göz kapağı yangısı, arpacık, deri döküntüleri gibi hastalıklar meydana getirirler. Deri, deri altı dokularda ve akciğerlerde metastatik abselere neden olur. Kana yayılıp çoğalmaları ile interstisyel pnömoni ve lokal septik emboli yapabilir. Çocuklarda osteomyelite neden olur. Et ve süt ürünlerinde üreyerek oluşturdukları enteretoksinlerle besin zehirlenmelerine neden olurlar (Ruben ve Norden, 1991; Ustaçelebi, 1999).

Escherichia coli

E. coli, 2-6 µm boyunda 1,0-1,5 µm eninde, düz, uçları yuvarlak, basil şeklinde, peritriş kirpikleri ile hareket eden Gram-negatif bakterilerdir. Belirli koşullar altında insan ve hayvanlar için patojendir. *E. coli*, hafif diyaeden kanlı diyareye kadar ağırlığı değişen gastrointestinal hastalıklara neden olur. Bağırsak kanalı dışına çıkıp diğer dokulara yerleşmeleri ve çeşitli klinik tablolara yol açmaları sık görülen durumlardır. Özellikle idrar yolları, safra kesesi ve safra yolları, solunum yolu infeksiyonları, periton ve yeni doğanda menenjitte ve kana karışarak bakteriyemiye neden olurlar (Dupont ve Mathewson, 1991; Ustaçelebi, 1999).

Pseudomonas aeruginosa

P. aeruginosa 0,5-0,8 µm eninde, 1,5-3,0 µm boyunda, bir uçta kirpik bulunan ve hareket edebilen, sporsuz, çomak şeklinde gram- negatif basillerdir. Doğada oldukça yaygındır. İnsan ve hayvan bağırsağında bulunan fırsatçı patojendirler. *P. aeruginosa*, endokardit, yanık ve yara infeksiyonları, menenjit ve beyin abselerine,

göz infeksiyonlarına, septisemi, dış kulak infeksiyonları, alt solunum yolu infeksiyonlarından bronşit ve bronkopnömoni gibi çeşitli hastalıklara yol açarlar (Pollack, 1990; Ustaçelebi, 1999).

Enterobacter aerogenes

Enterobacter cinsindeki bakteriler toprak ve sularda bulunan hareketli gram-negatif, çubuk şeklinde basillerdir. Fırsatçı patojen özellik gösterir. Özellikle tehlikeye açık yeni doğan ve prematüre bebeklerde, bağışıklık sistemi zayıf yada baskılanmış hastalarda, idrar yolları, üst solunum yolları, yara ve yanık enfeksiyonları ve menenjit gibi çeşitli hastalıklara neden olurlar. Son zamanlarda hastane enfeksiyonlarının artışına neden oldukları bildirilmiştir (Mahon ve Manuselis, 1995; Ustaçelebi, 1999).

Citrobacter freundii

Citrobacter freundii, 1-5 µm uzunluğunda, çubuk şeklinde, hareketli gram-negatif basillerdir. Toprak, su, kanalizasyon, gıda, hayvan ve insan bağırsak sistemlerinde bulunabilir. Fırsatçı bir patojen olan *C. freundii* önemli fırsatçı infeksiyonların sorumlusudur. Solunum yolu, idrar yolu, kan ve birçok infeksiyonun hastane ortamında meydana gelmesine neden olur. *C. freundii* tüm fırsatçı enfeksiyonların % 29 temsil eder (Mahon ve Manuselis, 1995; Ustaçelebi, 1999).

Providencia stuartii

P. stuartii, gram-negatif, hareketli basillerdir. Genellikle toprak, su ve kanalizasyonda bulunur. Fırsatçı patojen olan *P. stuartii* bağışıklık yetmezliği olan hastalarda, hayatı tehdit eden ağır infeksiyonlara yol açarlar. Son zamanlarda bakımevlerinde hastaların bakteriyemisinde sık karşılaşılmakla beraber artan hasta sayısı ve mikroorganizmanın çoklu ilaç direnci nedeniyle gelecekte önemli bir nosokomial patojen olabilir. Bu türlerin antibiyotiklere direnci nedeniyle, tedavisi de çok güçtür (Eisenstein, 1990; Ustaçelebi, 1999).

Bacillus cereus

B. cereus, 1-1,2 µm ile 3,0-5,0 µm arasında hücre boyutuna sahip, fakültatif aerobik, hareketli, spor oluşturan gram-pozitif bakterilerdir. Hücreleri büyük çubuk şeklinde ve sporları spor kesesini şişirmez. Toprak ve bitki örtüsü üzerinde yaygın bir şekilde bulunduğu için tarla ve bahçe ürünlerine rahatlıkla bulaşır. Sporları nedeniyle süt ve

et ürünlerinde de bulunur. Uzun ömürlü içme sütlerinde önemli kayıplara neden olur. Direnci kırılmış kişilerde fırsatçı patojen olarak abse, sellüloid, göz içi infeksiyonu, menenjit, endokardit, akciğer ve böbrek infeksiyonlarına neden olabilirler (Bilgehan, 1995; Ustaçelebi, 1999; Url-3).

Bacillus licheniformis

B. licheniformis gram pozitif, hareketli, spor oluşturan, fakültatif anaerobik çubuk şeklinde olan bir bakteridir. Bu bakteri apatojenik toprak bakterisidir. *B. licheniformis* bozuk gıdalarla, gastroenteridis gibi gıda zehirlenmelerinde anılmaktadır. *B. licheniformis* kontamine olmuş pişmiş et ve sebze tüketen insanlar için toksijeniteye ve gıda zehirlenmelerine neden olur. İnsanlarda septisemi, karın zarı iltihabı, göz iltihabı ve gıda zehirlenmeleri ayrıca sığırlarda kan zehirlenmesi ve düşüklerle ilişkilidir. Süt ürünlerinde yaygın bir kontaminanttır (Bilgehan, 1995; Ustaçelebi, 1999; Url-2).

2.2. Yöntemler

2.2.1 Bitki ekstraktlarının hazırlanması

2.2.1.1 Uçucu yağın elde edilmesi

Sarımsak Bitkilerin uçucu yağları, Clevenger tipi cihazda, su buharı distilasyon yöntemi elde edildi (şekil 2.3). Bütün işlemler oda sıcaklığında gerçekleştirildi. Örnekler (yaklaşık 200 g) soyulduktan sonra mini kahve öğütücüsünde (model PRG-742, Premier) parçalandıktan sonra 100 ml distile su ile karıştırılarak 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Elde edilen yağ amber şişede +4 °C'de buzdolabında diğer analizler için saklandı.



Şekil 2.3 : Su buhar distilasyon yöntemi ile sarımsak uçucu yağının elde edilmesi.

2.2.1.2 Sulu Sarımsak Ekstraktı

Sulu sarımsak ekstraktı hazırlamak için soyulan örnekler (yaklaşık 50 g) mini kahve öğütücüsünde (model PRG-742, Premier) parçalandıktan sonra 30 ml steril distile su ile karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Karışım dört katlı peynir süzme bezinden süzüldü. Elde edilen özüt 15 000 rpm'de 4 °C'de 20 dakika santrifüj edildi. Pelet atıldı, süpernatant -20 °C'de dondurucuda saklandı.

2.2.2 Gaz kromatografisi kütle spektrometresi

A. sativum (Kastamonu ve Denizli) bitkilerinden elde edilen uçucu yağların analizleri Ege Üniversitesi İlaç Geliştirme ve Farmakokinetik Araştırma ve Uygulama Merkezinde (ARGEFAR) yapılmıştır. Uçucu yağ bileşenleri aşağıda belirtilen şartlarda gaz kromatografisi kolonunda tutunma sürelerine (RT) göre ayrılarak relatif oranlarına göre değerlendirilmiştir. Bileşenler gaz kromatografisi kolonundan ayrıldıktan sonra dedektör görevi gören kütle spektrometresinde her birinin tek tek spektrumları alınmıştır. GC-MS analizi için içinde ağırlıkça %0,5 uçucu yağ bulunan 1 ml diklorometan çözeltisi hazırlanmıştır.

Analiz koşulları:

Sıcaklık 1	: 50 °C
Zaman 1	: 2 dk
Hızı	: 10 °C/dk
Sıcaklık 2	: 300 °C
Zaman 2	: 10 dk
Enjekte edilen numune miktarı	: 2 µl
Enjektör sıcaklığı	: 150 °C
Dedektör sıcaklığı	: 250 °C
Kapiler kolon	: HP-5 kolonu (30 m uzunluğunda, 0,32 mm çapında, film kalınlığı 0,25 µm)
Taşıyıcı gaz	: Helyum, 20 ml/dk

2.2.3 Mikroorganizma kültürlerinin hazırlanması

Tüm mikroorganizmalar, $37 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat Nutrient Broth sıvı besiyerinde inkübe edilerek aktifleştirilmiştir. Bulanık hale gelen bu sıvı besiyerlerinden %1 oranlarında örnekler alınarak $37 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat ikinci aktifleştirme işlemi gerçekleştirilmiştir.

2.2.4 Antibakteriyel aktivite çalışmaları

Su buharı distilasyonu yöntemi ile elde edilen sarımsak uçucu yağlarının antibakteriyel aktivitelerini belirlemek için Kirby ve Bauer'in disk difüzyon duyarlılık testi kullanılmıştır (Bağcı ve Diğrak, 1996). Çapları 90x15 mm olan steril petri kutularına, sterilize edilmiş olan Nutrient Broth Agardan 20 ml dökülmüş ve besiyeri donduktan sonra üzerine önceden aktifleştirilmiş kültürlerden 100 µl ilave edilerek ekimi yapılmıştır. Ekimi yapılan bakteri kültürleri üzerine steril boş diskler hafifçe bastırılarak yerleştirilmiştir. Bu şekilde hazırlanan boş disklere 50 µl ve 30 µl konsantrasyonlarda bitki yağı emdirilmiştir. Kültürler, 24 saat süreyle $37 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ 'de inkübe edilmiştir. Süre sonunda besiyeri üzerinde oluşan inhibisyon zonları mm olarak ölçüldü ve aritmetik ortalamaları alındı. Çalışmalar 3 tekrar olarak yürütüldü. Azitromisin ve Penisilin standart antibiyotik diskleri olarak karşılaştırma yapmak amacıyla pozitif kontrol olarak kullanıldı. Negatif kontrol olarak su emdirilmiş boş antibiyotik diskleri kullanıldı.

2.2.5 Toplam fenolik bileşik tayini

Bitkilerde bulunan fenoller, bulundurdukları hidroksil grupları ile serbest radikalleri yok etme yeteneğine sahiptirler bu nedenle çok önemli bitki bileşenleridir. Ayrıca fenolik bileşikler doğrudan antioksidan aktiviteye katkı sağlayabilirler. Fenolik bileşikler, antioksidan potansiyeline sahip olduğu için antioksidan aktivite belirlemede, toplam fenolik madde miktarlarının bilinmesi önemlidir.

Toplam fenolik bileşik tayini Skerget ve diğ. 2005'e göre yaptıkları çalışmaya göre yapılmıştır. Folin-Ciocalteu reaktifi fosfomolibdat ve fosfotungstat karışımı bir reaktif olup fenolik ve polifenolik antioksidanların kolorimetrik tayininde kullanılır. Folin-Ciocalteu reaktifi ile total fenolik bileşik miktarı tayini hemen hemen tüm antioksidan çalışmalarında örnekteki fenolik içeriğinin tayininde kullanılan standart bir yöntemdir. Bu işlem bir kolorimetrik oksidasyon/redüksiyon reaksiyonudur.

Sulu sarımsak ekstraktından 0,5 gr alındı ve üzerine 4,5 ml %50 - %50 metanol - su karışımı eklendi. 24 saat ara ara çalkalama yapılarak +4 °C'de buzdolabında bekletildi. 24 saat sonra 5 dk 5000 rpm'de santrifüjlendi. Süpernatanttan 2 ml örnek alındı ve 10 kat seyreltilmiş folin- ciocalteu reaktifinden 10 ml alınarak karıştırıldı. Üzerine 8 ml sodyum bikarbonat solüsyonu eklendi (%20 w/w) ve oda sıcaklığında 2 saat inkübe edildi. Daha sonra absorbans, spektrofotometre 760 nm' ye ayarlanarak okundu. (%50) metanol ve (%50) sudan oluşan solüsyon kör örnek olarak kullanıldı. Gallik asit, standart hazırlamada kullanılmıştır. Kalibrasyon için %50 metanol, %50 su karışımı ile beraber farklı konsantrasyonlarda gallik asit hazırlandı. Örneklerdeki toplam fenolik bileşik miktarı, gram ekstrede mM gallik asite eşdeğer olacak şekilde hesaplanmıştır.

2.2.6 Toplam antioksidan kapasite tayini

Toplam antioksidan kapasite tayini (TAC), asetat buffer içinde uzun süre stabil kalabilen ABTS [2,2'-azinobis (3-etilbenzotiyazolin 6-sülfonat)] radikal katyonunun karakteristik renginin ağartılmasına dayanır (Erel, 2004). ABTS, yüksek pH değerinde konsantre asetat buffer ile seyreltilirken renk kendiliğinden ve yavaşça ağarmaktadır. Bu ağartma işleminde antioksidan varlığı işlemin hızlanmasını sağlamaktadır. Antioksidanlar asetat örneğinde konsantrasyonlarına uygun ve orantılı bir şekilde ağarma gösterirler. Bu olay spektrofotometre ile ölçülebilmektedir ve örneğin ağarması içinde bulunan TAC miktarıyla ters orantılıdır.

Bizim çalışmamızdaki TAC tayini için, sulu sarımsak ekstraktından 0,5 gr alındı. Bu 0,5 gr örneğe 4,5 ml %50-%50 metanol- su karışımı eklendi. Sonrasında 24 saat ara ara çalkalama yapılarak +4 °C’de buzdolabında bekletildi. Devamında 24 saat sonra 5 dk 5000 rpm’de santrifüj edildi. TAS seviyesi ticari kitle ölçülmüştür (relasay, Turkey). Reaksiyon troloxla kalibre edildi. Her örnek için işlemler 3 replikasyon halinde yapılmıştır. Sonuçlar, gram ekstrede mM troloxa eşdeğer olacak şekilde hesaplanmıştır.

3. BULGULAR

3.1 Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi Yöntemi ile Sarımsak Yağının Analiz Sonuçları

Yapılan çalışmada *A. sativum* (Kastamonu ve Denizli) bitkisinin uçucu yağ bileşenlerinin analizi için GC-MS kullanıldı. Uçucu yağların bileşenleri kütle spektrumlarının cihazda bulunan NIST ve Willey kütüphaneleriyle, alıkonma indeksleri ise literatür verileriyle karşılaştırılması sonucu tanımlandı. Örneklerin uçucu yağlarının GC-MS analizi sonuçları Tablo 3.1.'de verilmiştir.

Tablo 3.1 : Kastamonu ve Denizli bölgelerinden toplanan *A. sativum* bitkisinin uçucu yağının GC-MS analizi sonuçları.

No	Bileşik Adı	KASTAMONU		DENİZLİ	
		RT	%Area	RT	%Area
1	Allil sülfid	4,67	2,22	4,66	2,10
2	Cis-propenil metil disülfid	6,06	0,20	-	-
3	Metil allil disülfid	6,22	4,38	6,22	3,21
4	Trans-propenil metil disülfid	6,46	0,64	6,46	0,45
5	Metil trisülfid	8,00	2,00	8,03	0,62
6	Diallil sülfid	9,81	1,61	9,80	1,97
7	Allil disülfid	10,11	24,48	10,11	32,60
8	Metil allil trisülfid	12,78	18,21	12,79	11,63
9	İzobütil İzotiosiyanat	16,59	0,27	16,59	0,41
10	Allil trisülfid	18,03	42,52	18,03	45,22
11	2-Vinil-4H-1,3-ditiin	19,39	0,59	19,39	0,51
TOPLAM			97,12		98,72

% Area: Numune içerisindeki % oranı

RT: Alıkonma zamanı

Kastamonu sarımsağının uçucu yağının ana bileşenleri allil trisülfit (%42,52) ve allil disülfit (%24,48) olarak bulunmuştur. Denizli örneklerinin uçucu yağının ana bileşenleri allil trisülfit (%45,22) ve allil disülfit (%32,60) olarak tespit edilmiştir. Kastamonu sarımsağının uçucu yağındaki diğer bileşenler metil allil trisülfit (%18,21), metil allil disülfit (%4,38), allil sülfid (%2,22), metil trisülfit (%2,00), diallil sülfid (%1,61), trans propenil metil disülfit (%0,64), 2-vinil-4H-1,3-ditiin (%0,59), izobütil izotiosiyanat (%0,27) ve cis propenil metil disülfit (%0,20) olarak bulunmuştur. Denizli sarımsağının uçucu yağındaki diğer bileşenler ise metil allil trisülfit (%11,63), metil allil disülfit (%3,21), allil sülfid (%2,10), diallil sülfid (%1,97), metil trisülfit (%0,62), 2-vinil-4H-1,3-ditiin (%0,51), trans propenil metil disülfit (%0,45) ve izobütil izotiosiyanat (%0,41) olarak bulunmuştur.

3.2 Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

Kastamonu ve Denizli sarımsağının uçucu yağları, bazı bakterilere karşı antibakteriyel etkisi disk difüzyon yöntemiyle üç paralelli olarak test edilmiştir. Denemelerde üç gram pozitif ve beş gram negatif bakteri suşu kullanılmış ve sonuçlar ortalama zon çapları olarak (mm) Tablo 3.2.'de verilmiştir. Kontrol grubu olarak Azitromisin ve Penisilin antibiyotik diskleri kullanılmıştır.

Tablo 3.2.'de görülebileceği gibi, her iki sarımsak uçucu yağının disk difüzyon yöntemi uygulamasıyla denenen bütün mikroorganizmalarda zon çapları oluşmuş ve bu yağların antibakteriyel etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, kontrol grubu olarak kullanılan antibiyotiklere kıyasla daha büyük zonların oluştuğu gözlemlenmiştir. Sarımsak uçucu yağının konsantrasyonu arttıkça antibakteriyel etkinin arttığı gözlemlenmiştir. Uçucu yağın bakteriler üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çaplarının resimleri Şekil 3.1, Şekil 3.2, Şekil 3.3 ve Şekil 3.4' te verilmiştir.

Tablo 3.2 : Kastamonu ve Denizli bölgelerinden toplanan *Allium sativum* bitkisinin uçucu yağının antibakteriyel aktiviteleri.

Mikroorganizma	İnhibisyon Zon Çapı (mm)				Antibiyotikler	
	A		B		AZM	P10
	30µl	50 µl	30 µl	50 µl		
<i>E. coli</i> MC 4100	13	15	12	15	5	4
<i>C. freundii</i> NRRL-B 2643	6	10	5	8	10	4
<i>P. stuartii</i>	6	8	4	7	12	8
<i>P. aeruginosa</i> NRRL-B-2679	6	11	5	10	9	-
<i>E. aerogenes</i> NRRL-B- 3567	9	15	7	14	13	3
<i>B. licheniformis</i> NRRL-B- 1001	14	17	12	16	3	8
<i>B. cereus</i> NRRL-B-3711	10	13	11	15	7	12
<i>S. aureus</i> ATCC 33862	9	12	11	14	8	6

A: Kastamonu Sarımsak Yağı

B: Denizli Sarımsak Yağı

(-): Zon yok

Sarımsak uçucu yağının (Kastamonu ve Denizli) 30 µl/disk olarak uygulandığında *E. coli* MC 4100 suşunda, inhibisyon zonu 13 ve 12 mm olarak ölçülürken; 50 µl/disk bulunan petride inhibisyon zonu 15 ve 15 mm olarak ölçülmüştür. Kontrol olarak kullanılan Azitromisin bulunan petri kutusunda inhibisyon zonu 5 mm, Penisilin bulunan petri kutusunda inhibisyon zonu 4 mm olarak ölçülmüştür. Sarımsak uçucu yağlarının kullanılan antibiyotiğe kıyasla daha çok etkili olduğu gözlemlenmiştir.

C. freundii NRRL-B 2643 suşunda, sarımsak uçucu yağının (Kastamonu ve Denizli) 30 µl/disk olarak bulunduğu petride inhibisyon zonu 6 ve 5 mm; 50 µl /disk bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 10 ve 8 mm olarak ölçülmüştür. Kontrol olarak kullanılan Azitromisin ve Penisilin antibiyotik disklerinin bulunduğu petri kutularında ise inhibisyon zonu 10 ve 4 mm olarak ölçülmüştür.

P. stuartii suşu, diğer suşlara göre daha az hassasiyet göstermiştir. Sarımsak uçucu yağının (Kastamonu ve Denizli) 30 µl/disk olarak bulunduğu petride inhibisyon zonu 6 ve 4 mm; 50 µl /disk bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 8 ve 7 mm olarak ölçülmüştür. Kontrol olarak kullanılan Azitromisin ve Penisilin antibiyotik disklerinin bulunduğu petri kutularında ise inhibisyon zonu 12 ve 8 mm olarak ölçülmüştür.

P. aeruginosa NRRL-B-2679 suşunda, sarımsak uçucu yağının (Kastamonu ve Denizli) 30 µl/disk olarak bulunduğu petride inhibisyon zonu 6 ve 5 mm; 50 µl /disk bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 11 ve 10 mm olarak ölçülmüştür. Kontrol olarak kullanılan Azitromisin antibiyotik disklerinin bulunduğu petri

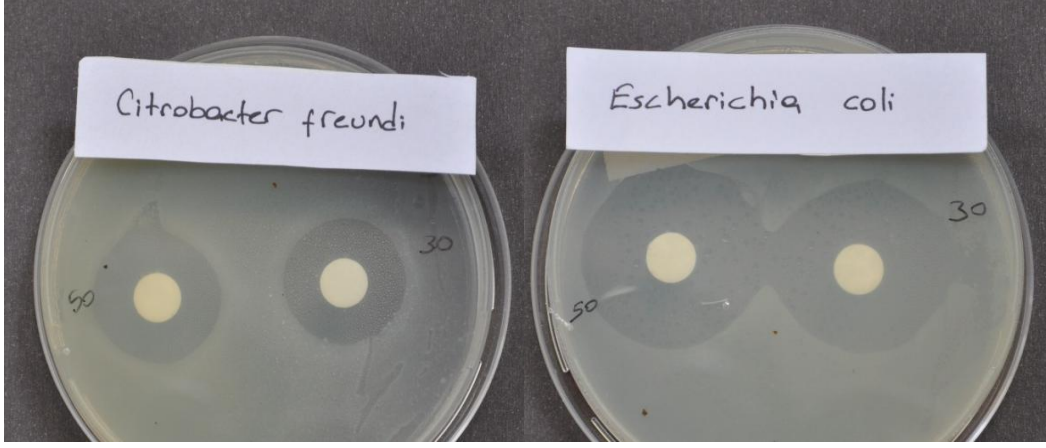
kutusunda ise inhibisyon zonu 9 mm olarak ölçülmüştür. Penisilin antibiyotik disklerinin bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu oluşmamıştır.

E. aerogenes NRRL-B- 3567 suşunda, sarımsak uçucu yağının (Kastamonu ve Denizli) 30 µl/disk olarak bulunduğu petride inhibisyon zonu 9 ve 7 mm; 50 µl /disk bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 15 ve 14 mm olarak ölçülmüştür. Kontrol olarak kullanılan Azitromisin ve Penisilin antibiyotik disklerinin bulunduğu petri kutularında ise inhibisyon zonu 13 ve 3 mm olarak ölçülmüştür.

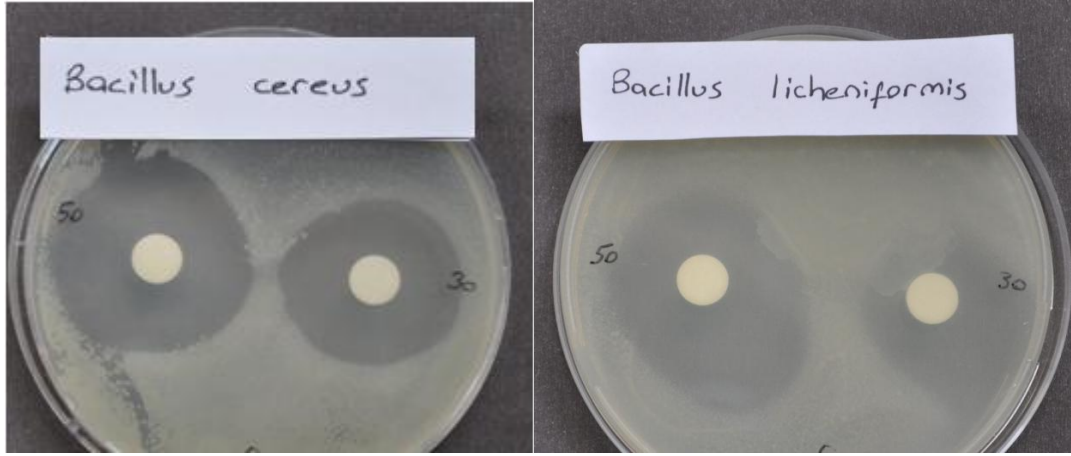
B. licheniformis NRRL-B- 1001 suşunda, sarımsak uçucu yağının (Kastamonu ve Denizli) 30 µl/disk olarak bulunduğu petride inhibisyon zonu 14 ve 12 mm; 50 µl /disk bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 17 ve 16 mm olarak ölçülmüştür. Kontrol olarak kullanılan Azitromisin ve Penisilin antibiyotik disklerinin bulunduğu petri kutularında ise inhibisyon zonu 3 ve 8 mm olarak ölçülmüştür. Sarımsak uçucu yağlarının kullanılan antibiyotiğe kıyasla daha çok etkili olduğu gözlemlenmiştir.

B. cereus NRRL-B-3711 suşunda, sarımsak uçucu yağının (Kastamonu ve Denizli) 30 µl/disk olarak bulunduğu petride inhibisyon zonu 10 ve 11 mm; 50 µl /disk bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 13 ve 15 mm olarak ölçülmüştür. Kontrol olarak kullanılan Azitromisin ve Penisilin antibiyotik disklerinin bulunduğu petri kutularında ise inhibisyon zonu 7 ve 12 mm olarak ölçülmüştür. Sarımsak uçucu yağlarının kullanılan antibiyotiğe kıyasla daha çok etkili olduğu gözlemlenmiştir.

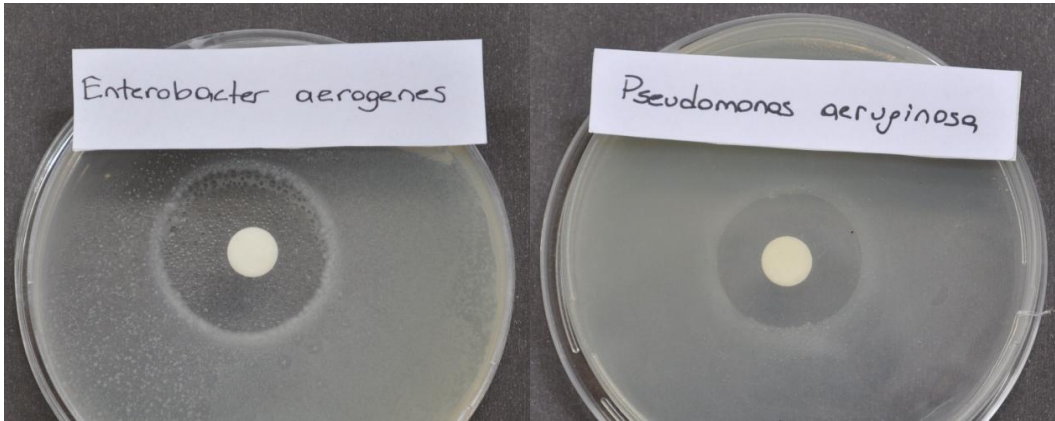
S. aureus ATCC 33862 suşunda, sarımsak uçucu yağının (Kastamonu ve Denizli) 30 µl/disk olarak bulunduğu petride inhibisyon zonu 9 ve 11 mm; 50 µl /disk bulunduğu petri kutusunda ise inhibisyon zonu 12 ve 14 mm olarak ölçülmüştür. Kontrol olarak kullanılan Azitromisin ve Penisilin antibiyotik disklerinin bulunduğu petri kutularında ise inhibisyon zonu 8 ve 6 mm olarak ölçülmüştür. Sarımsak uçucu yağlarının kullanılan antibiyotiğe kıyasla daha çok etkili olduğu gözlemlenmiştir.



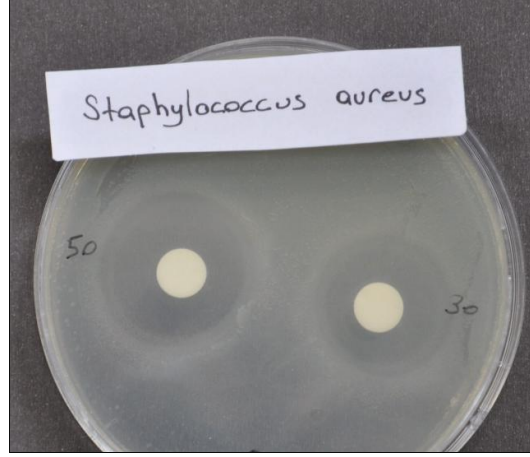
Şekil 3.1 : Sarımsak uçucu yağının *Citrobacter freundii* NRRL-B 2643 ve *Escherichia coli* MC.4100 üzerine etkisi



Şekil 3.2 : Sarımsak uçucu yağının *Bacillus cereus* NRRL-B-3711 ve *Bacillus licheniformis* NRRL-B- 1001 üzerine etkisi.



Şekil 3.3 : Sarımsak uçucu yağının *Enterobacter aerogenes* NRRL-B- 3567 ve *Pseudomonas aeruginosa* NRRL-B-2679 üzerine etkisi.



Şekil 3.4 : Sarımsak uçucu yağının *Staphylococcus aureus* ATCC 33862 üzerine etkisi.

3.3 Toplam Antioksidan Kapasite ve Toplam Fenolik Bileşik Sonuçları

Kastamonu ve Denizli yörelerinden toplanan sarımsak bitkisinin toplam antioksidan kapasite ve toplam fenolik bileşik değerleri Tablo 3.3.' te verilmiştir. Toplam fenolik bileşik miktarları Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak gram ekstrede mM gallik asite eşdeğer olacak şekilde hesaplanmıştır. Bitkilerin toplam antioksidan kapasiteleri ABTS reaktifi kullanılarak gram ekstrede mM torolox'a eşdeğer olacak şekilde hesaplanmıştır. Tabloda belirtildiği gibi en yüksek fenolik içerik ve antioksidan madde Kastamonu ilinin Taşköprü ilçesinden toplanan örneklerde bulunmuştur.

Tablo 3.3 : Kastamonu ve Denizli bölgelerinden toplanan *Allium sativum* bitkisinin toplam fenolik bileşik ve toplam antioksidan aktiviteleri.

Örnek	Toplam Fenolik Bileşik mM GAE/ g _{ekstre}	Toplam Antioksidan Aktivite mM Trolox / g _{ekstre}
Kastamonu	5,418	0,551
Denizli	4,499	0,513

4. SONUÇ VE TARTIŞMA

Ülkemizin sahip olduğu ekolojik koşullar sarımsak tarımı için oldukça elverişli olmasına rağmen, sarımsak üretimi ve fiyat politikalarının oluşmaması son yıllarda dış alımı hızlandırmış ve üretim alanları giderek daralmaya başlamıştır. Sarımsak üzerinde yapılan bir çok çalışma sonucunda antimikrobiyal, antifungal, antiparazitik, antioksidan ve antikanserojen gibi birçok özelliğinden dolayı günlük beslenme programlarında yer almasının önemi ve gerekliliği son yıllarda çok daha fazla vurgulanmaktadır. Sarımsağın bu eşsiz özellikleri ve doğal ürünlere olan ilginin artması dünya sarımsak ihracatında önemli artışlara neden olurken ülkemizde sarımsak üretiminde ve ihracatında önemli azalmalar olmuştur. Sadece ülkemizde değil tüm dünyada tanınan Kastamonu sarımsağı yüksek besinsel kalitesi ve uzun muhafaza ömrüne sahip ihracat potansiyeli yüksek bir ürün olmasına rağmen yeterince değerlendirilmemektedir. Bu nedenle bu çalışmada ülkemizde iki farklı ilde yetiştirilen Kastamonu ve Denizli yerel sarımsaklarının uçucu yağlarının kimyasal bileşenlerinin analizi, bu yağların antibakteriyel aktivitesi ve bu sarımsakların toplam antioksidan kapasitesi ve toplam fenolik madde içeriğinin araştırılması hedeflenmiştir. Bunun sonucunda Türkiye’de yetiştirilen sarımsağın niteliksel değerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

Çalışmamızda, ülkemizde yetiştirilen Kastamonu Taşköprü sarımsağı ile Denizli Bekilli sarımsağının uçucu yağlarının GC-MS analizi yapıldı, disk difüzyon yöntemi ile bu yağların bazı patojen bakteriler üzerindeki antibakteriyel aktiviteleri incelendi. Ayrıca bu bitkilerin toplam antioksidan kapasiteleri ve toplam fenolik madde içerikleri karşılaştırıldı.

Yapmış olduğumuz analiz sonuçlarına göre, Kastamonu sarımsağının uçucu yağının içeriğinde toplam 11 adet, Denizli sarımsağının içeriğinde toplam 10 adet kükürtlü bileşik tespit edildi. Sarımsağın yalnızca allil ve metil grupları olan bileşikler içermesinin nedeni içeriğinde sülfid öncüsü olarak sadece S-allil-L-sistein sülfoksit ve S-metil-L-sistein sülfoksit molekülleri vardır (Lawson ve diğ., 1991).

Jirovetz ve diğ. (1992) yapmış oldukları çalışmada buhar distilasyonu yöntemi ile elde ettikleri Mısır sarımsağının uçucu yağını GC-MS ve GC-FTIR yöntemlerini kullanarak analizini yapmışlardır. Analiz sonuçlarına göre Mısır sarımsağının uçucu yağında 24 sülfürlü bileşik tanımlamışlardır ve bu yağın ana bileşeni diallil trisülfid (%29.7) olarak belirtilmiştir. Lee ve diğ. (2003) yapmış oldukları çalışmada SD yöntemi ile elde edilen sarımsak uçucu yağının başlıca bileşenlerini diallil disülfid (%89.77), allil sülfid (%2.43), ve diallil trisülfid (%3.89) olarak bulmuşlardır. Kim ve diğ., (2004) yapmış oldukları çalışmada sarımsak uçucu yağının 16 farklı sülfürlü bileşik içerdiğini ve ana bileşenlerinin diallil disülfid (%30.6) ve diallil trisülfid (%30.1) olduğunu yayınlamışlardır. Uçucu yağın elde edilme teknikleri ve koşulları yağın bileşen kompozisyonu ve miktarını etkilemektedir (Lee ve diğ.,2003). Rohani ve diğ., (2011) İran sarımsağı ile yaptıkları çalışmada su distilasyon yöntemi ile elde ettikleri sarımsak esansiyel yağının analizi GS-MS ile yapılmıştır. Toplam yağın %89.98'ini oluşturan 14 bileşik tanımlanmıştır. Başlıca bileşenler diallil trisülfid (%27.33), diallil disülfid (%24.67) ve metil allil trisülfid (%19.11) olarak tanımlanmıştır. Bu sonuçlar bizim çalışmamızdan elde ettiğimiz GC-MS sonuçlarının literatür bilgilerine uygunluk gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Yapmış olduğumuz çalışmada disk difüzyon metodu sonuçları incelendiğinde her iki sarımsak uçucu yağı, denenen bütün mikroorganizmalar için inhibisyon zon çapı oluşturduğu ve bu yağların antibakteriyel etkiye sahip olduğu gözlemlendi. Kastamonu sarımsağının uçucu yağı, en yüksek antibakteriyel aktiviteyi *B. licheniformis* (17 mm), *E. coli* (15 mm) ve *E. aerogenes* (15 mm) suşları üzerinde gösterdi. Denizli sarımsağının uçucu yağı, en yüksek antibakteriyel aktiviteyi *B. licheniformis* (16 mm), *E. coli* (15 mm) ve *B. cereus* (15 mm) suşları üzerinde gösterdi. Ayrıca, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *E. aerogenes*, *B. licheniformis* 1001, *B. cereus* ve *S. aureus* suşlarında kontrol grubu olarak kullanılan antibiyotiklere kıyasla daha büyük zonların oluştuğu görüldü. *P. stuartii* suşu (Kastamonu: 8 mm, Denizli: 7 mm), diğer suşlara göre daha az hassasiyet gösterdi. Sarımsak uçucu yağının konsantrasyonu arttıkça antibakteriyel etkinin arttığı görüldü. Kastamonu ve Denizli sarımsağının uçucu yağının yüksek antibakteriyel aktiviteye sahip olmasının nedeni içeriğinde bulunan yüksek miktardaki allil trisülfid ve allil disülfid bileşenlerinden kaynaklanmaktadır.

Kim ve diğ., (2004) elde ettikleri sarımsak yağın antimikrobiyal aktivitesini yüksek bulurken, O'Gara ve diğ.(2000) izole ettikleri sarımsak yağının antimikrobiyal

aktivitesini düşük bulmuştur. Bunun nedeni izole ettikleri yağın diallil trisülfid oranının düşük olmasıdır. Sarımsak uçucu yağı hazırlanırken uygulanan ısı işlemi ile antimikrobiyal aktiviteden sorumlu ana bileşik olan allisin hızlıca diğer ara moleküllere dönüşür ve oluşan bu moleküllerin miktarına bağlı olarak antimikrobiyal aktivitesi zayıflayabilir (Kim ve diğ., 2004). Sarımsak uçucu yağının bileşenlerinin sahip oldukları kükürt atomu sayısı ile antimikrobiyal aktiviteleri arasında doğru bir orantı vardır. Diallil trisülfid ve diallil tetrasülfid gibi kükürt atomu fazla olan bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesi diallil sülfid gibi daha az kükürt atomu içeren bileşikten daha yüksektir (Ross ve diğ., 2001). Bu sonuçlar yapmış olduğumuz antimikrobiyal çalışmalar ile uygunluk göstermektedir.

Yaptığımız çalışmada; antioksidan çalışmaları, toplam antioksidan kapasitesi (TAC) ve toplam fenol miktar tayini metotları kullanılarak çalışıldı. Bitkilerin toplam antioksidan kapasiteleri ABTS reaktifi kullanılarak gram ekstrede mM torolox'a eşdeğer olacak şekilde hesaplandı. Kastamonu sarımsağının toplam antioksidan kapasitesi (0,551 mM/g) Denizli sarımsağından (0,513 mM/g) yüksek bulundu. Toplam fenol yöntemi sonuçlarında gallik asit referans madde olarak kullanılıp sonuçlar gram ekstre de mM gallik asit eşdeğer miktarı olarak verildi. Ekstreler kıyaslandığında Kastamonu sarımsağının (5,418 mM/g) toplam fenolik madde içeriği Denizli sarımsağından (4,499 mM/g) yüksek bulundu. Örnekler arasındaki bu farkın bitkilerin yetiştirildikleri bölgelerdeki coğrafik koşulların farklı olmasından, çevresel faktörlerin bitkilerin kimyasal içeriği üzerindeki etkisinden ve genetik faktörlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Beato ve diğ., (2011) sarımsaklar üzerinde yaptığı çalışmada çevresel faktörlerin fenolik içerik üzerinde bir değişim yarattığını fakat genetik faktörlerin fenolik madde içeriğini önemli derecede etkilediğini yayınlamıştır. Bitkilerin antioksidan aktivitelerini etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bitkinin toplandığında hangi dönemde olduğu (çiçeklenme, tohum oluşturma vs.), ekstraksiyon tekniği, çözücülerin polariteleri, bitkisel materyalin taze ya da kuru olması ve kullanılan metot gibi değişik faktörler bitkinin aktivitesini etkiler. Bitkilerin yetiştikleri bölgedeki çevresel şartlar ve tarımsal faktörler gibi dış etkenler ve genetik faktörler gibi iç etkenler bitkilerin kimyasal içerikleri üzerinde oldukça etkilidir (Tomás-Barberán ve Espin, 2001). Değişen kimyasal içeriğe bağlı olarak antimikrobiyal, antioksidan ve fenolik madde içeriği değişebilir.

Bu çalışmamızın sonucunda Kastamonu ve Denizli sarımsağının kimyasal analiz sonuçları birbirine çok yakın çıkmıştır. Her iki örneğin de antibakteriyel aktivitesi çok yüksek olup, kimyasal analiz sonuçları ile paralellik göstermektedir. Toplam antioksidan ve toplam fenolik madde içeriği bakımından her iki örneğinde etkin bir değeri olduğu anlaşılmıştır fakat Kastamonu sarımsağının Denizli sarımsağına göre daha yüksek bir değere sahiptir olduğu görülmüştür. Her iki ilimizde yetiştirilen sarımsağın konsantre sarımsak yağı, sarımsak tozu, sarımsak hapları gibi ticari ürünlerin üretimine uygun olduğu düşünülmekte ve gıda ve ilaç sanayide kullanımına yönelik çalışmaların genişletilmesi gerektiği düşünülmektedir. Sarımsak üretiminin ve buna bağlı ürünlerin standart bir prosedür altında olabilmesi için genetik ve çevresel faktörlerin etkilerinin kapsamlı bir şekilde çalışılması önerilmektedir. Ayrıca yüksek antibakteriyel ve antioksidan aktiviteleri olan bu yağların gıdalarda koruyucu olarak kullanılan kimyasallara karşı doğal bir alternatif olabileceği düşünülmektedir. Daha ileriki çalışmalarda bu maddenin gıda patojeni olarak bilinen diğer mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal etkilerinin araştırılması ve gıda modellerinde denenmesi önerilmektedir.

5. KAYNAKLAR

- Amagase, H.**, 2006: Clarifying the real bioactive constituents of garlic. *Journal of Nutrition*, 136: 716-725.
- Ankri, S. ve Mirelman, D.**, 1999: Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes and Infection*, 2: 125-129.
- Anonim.** 2001. Sekizinci Beş Yıllık Kalkınma Planı Bitkisel Üretim Özel İhtisas Komisyonu Sebzeçilik Alt Komisyon Raporu. Devlet Planlama Teşkilatı, Ankara, 5: 102-105
- Bağcı, E., ve Dığrak, M.**, 1996: Antimicrobial activity of essential oils of some *Abies* (Fir) species from Turkey. *Flavour and Fragrance Journal*, 11: 251-256.
- Bakri, I.M. ve Douglas, C.W.I.**, 2005: Inhibitory effect of garlic extract on oral bacteria. *Archives of Oral Biology*, 50: 645-651.
- Baytop, T.**, 1999: Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, s. 224-360.
- Beato, V.M., Orgaz, F., Mansilla, F.ve Montañno, A.**, 2011: Changes in Phenolic Compounds in Garlic (*Allium sativum* L.) Owing to the Cultivar and Location of Growth. *Plant Foods for Human Nutrition*, 66: 218-223.
- Benkeblia, N.**, 2004: Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*). *Food Science and Technology*, 37: 263-268.
- Berthold, HK, Sudhop, T, von Bergmann, K.**, 1998: Effect of a garlic oil preparation on serum lipoproteins and cholesterol metabolism: a randomized controlled trial. *The Journal of the American Medical Association*, 279: 1900-1902.
- Bilgehan, H.**, 1995: *Bacillus*. Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakteriyoloji ve Bakteri İnfeksiyonları. 9. baskı, Fakülteler Kitabevi, Barış Yayınları, İzmir, s. 272-275.
- Block, E.**, 1985: The chemistry of garlic and onions. *Scientific American*, 252: 94-99.
- Block, E.**, 1992: The Organosulfur Chemistry of the Genus *Allium* – Implications for the Organic Chemistry of Sulfur. *Angewandte Chemie International Edition*, 31: 1135-1178.

- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Goran, A. ve Igc, R.,** 2008: Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). *Food Chemistry*, 111: 925–929.
- Ceylan, A.,** 1995: Tıbbi Bitkiler I. Tarla Bitkileri Bölümü, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Yayın No: 312 İzmir, s. 121-210.
- Choi, H.J., ve Oh, B.U.,** 2011: A partial revision of *Allium* (Amaryllidaceae) in Korea and north-eastern China. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 167: 153-211.
- Cowan, M.M.,** 1999: Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12: 564-582.
- Çelik, E., ve Çelik, G.Y.,** 2007: Bitki Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Özellikleri. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 5: 1-6.
- Davis, P.H.,**1984: Flora of Turkey and the East Aegean Islands. I-X. Edinburg Univ. Press, Edinburg.
- Davis, L., Shen, J., ve Royer, R.,** 1994: In vitro synergism of concentrated *Allium sativum* extract and amphotericin B against *Cryptococcus neoformans*. *Planta Medica*, 60: 546-549.
- Demiray, E., ve Tülek, Y.,** 2008: Domates Kurutma Teknolojisi ve Kurutma İşleminin Domatesteki Bazı Antioksidan Bileşiklere Etkisi. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 3: 9-20.
- Dirsch, V.M., Kiemer, A.K., Wagner, H., ve Vollmar, A.M.,** 1998: Effect of Allicin and Ajoene, 2 Compounds of Garlic, on Inducible Nitric-Oxide Synthase. *Atherosclerosis*, 139: 333–339.
- Dupont, H.L. ve Mathewson, J.J.,** 1991: *Escherichia coli* and Diarrhea. Evans and Brachman (Eds) Bacterial Infections of Humans Epidemiology and Control, Prehum Publishing Crop. New York, s. 239-254.
- Edris, A.E.,** 2007: Pharmaceutical and Therapeutic Potentials of Essential Oils and Their Individual Volatile Constituents: A Review. *Phytotherapy Research*, 21: 308–323.
- Eisenstein, B.I.,** 1990: *Enterobacteriaceae*. Mandell, Douglas and Bennett (Eds) Principles and Practise of Infectious Diseases. Churchill Livingstone Inc., New York, s. 1658-1672.
- Eker, İ., ve Koyuncu, M.,** 2011: *Allium olivieri* Boiss.(Alliaceae), a new taxon to Turkey, with contributions to its taxonomy. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 80: 275-277.
- Ensminger, A.H.,** 1994: Foods and nutrition encyclopedia. Volume 1. CRC Press, New York, s. 750.

- Erel, O.**, 2004: A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radicalcation. *Clinical Biochemistry*, 37: 277-85.
- Erik, S., ve Tarıkahya, B.**,2004: Türkiye Florası Üzerine. *Kebikeç*, 17: 139.
- Erol, A., ve Alpsoy, H.C.**, 2007: Sarımsak (*Allium sativum*) ve Geleneksel Tedavide Kullanımı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 31: 145-149.
- Ersöz, T.**, 2011: Bitkisel Tedaviye Bilimsel Bakış: Doğrular ve Yanlışlar. *Journal of Pediatric Infection*, 5: 217-222.
- Grassmann, J. ve Elstner, E.F.**, 2003: Essential oils/properties and uses. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, Second Edition, s: 2177-2184.
- Gökpınar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T., ve Durmaz, Y.**, 2006: Algal Antioksidanlar. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 23: 85-89.
- Halliwell, B. ve Aruoma, O. I.**, 1998: Free radicals and antioxidants: The need for in vivo Markers of Oxidative stress. *Journal of American Oil Chemistry Society*, 75(2): 199–212.
- Harris, J.C., Cottrell, S. L., Plummer, S., ve Lloyd D.**, 2001: Antimicrobial properties of *Allium sativum*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 57: 282–286.
- Hughes, B.G., ve Lawson, L.D.**, 1991: Antimicrobial Effects of *Allium sativum* L. (Garlic), *Allium ampeloprasum* L. (elephant garlic), and *Allium cepa* L. (Onion), Garlic Compounds and Commercial Garlic Supplement Products. *Phytotherapy Research*, 5: 154-158.
- Jirovetz, L., Jiiger, W., Koch, H.-P., ve Remberg, G.**, 1992: Investigations of volatile constituents of the essential oil of Egyptian garlic (*Allium sativum* L.) by means of GC-MS and GC-FTIR. *Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung*, 194: 363-365.
- Kahkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S. ve Heinonen, M.**, 1999: Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 3954-3962.
- Karasaki, Y., Tsukamoto, S., Mizusaki, K., Sugiura. T., ve Gotoh, S.**, 2001: A garlic lectin exerted an antitumor activity and induced apoptosis in human tumor cells. *Food Research International*, 34: 7-13.
- Kendir, G., ve Güvenç, A.**, 2010: Etnobotanik ve Türkiye’de Yapılmış Etnobotanik Çalışmalara Genel Bir Bakış. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 30: 49-80.
- Khanum, F., Anilakumar, K. R., Viswanathan, K. R.**, 2004: Anticarcinogenic properties of garlic: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44: 479–488.

- Kılıç, A.**, 2008: Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, Cilt:10 Sayı:13
- Kılınç, K., ve Kılınç, A.**, 2002: Oksijen toksisitesinin Aracı Molekülleri Olarak Oksijen Radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 33: 110-118.
- Kim, J. W., Kim, Y. S., ve Kyung, K. H.**, 2004: Inhibitory activity of essential oils of garlic and onion against bacteria and yeasts. *Journal of Food Protection*, 67: 499-504.
- Kuyung, K.H.**, 2011: Antimicrobial properties of allium species. *Current Opinion in Biotechnology*, 23: 1-6.
- Kyung, K.H., Kim, M.H., Park, M.S. ve Kim, Y.S.**, 2002: Alliinase-independent inhibition of *Staphylococcus aureus* B33 by heated garlic. *Journal of Food Science*, 67: 780-785.
- Lanzotti, V.**, 2006: The analysis of onion and garlic. *Journal of Chromatography A*, 1112: 3-22.
- Lawson, L.D., Wang, Z.J., ve Hughes, B.G.**, 1991: Identification and HPLC sulfides and dialk(en)yl thiosulfinates in commercial garlic products. *Planta Medica*, 57: 363-370.
- Lawson, L.D.**, 1998: Garlic: a review of its medicinal effects and indicated active compounds. *Phytomedicines of Europe: Chemistry and Biological Activity*, Series 691, DC American Chemical Society, Washington, s. 176-209
- Leaman, D. J.**, 2006: Sustainable Wild Collection of Medicinal and Aromatic Plants, Development of an International Standard. *Medicinal and Aromatic Plants*, chapter 7, s. 97-107.
- Lee, K.G., Shibamoto, T.**, 2002. Determination of antioxidant potential of volatile extracts isolated from various herbs and spices. *The Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 4947-4952.
- Lee, S.N., Kim, N.S. ve Lee, D.S.**, 2003: Comparative study of extraction techniques for determination of garlic flavor components by gas chromatography–mass spectrometry. *Analytica and Bioanalytical Chemistry*, 377: 749-756.
- Lun, Z.R., Burri, C., Menzinger, M., ve Kaminsky, R.**, 1994: Antiparasitic activity of diallyl trisulfide (Dasuansu) on human and animal pathogenic protozoa (*Trypanosoma* sp., *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia*) in vitro. *Annales de la Societe Belge de Medecine Tropicale*, 74: 51-59.
- Mahon, C.R., ve Manuselis J.G.**, 1995: *Enterobacteriaceae*. Textbook of Diagnostic Microbiology. WB Saunders Company, Philadelphia, s. 447-489.
- Mc Elnay, J.C., ve Po, A.L.W.**, 1991: Garlic. *The Pharmaceutical Journal*, 246: 324-326.

- Ogital, A., Hirooka, K., Yamamoto, Y., Tsutsui, N., Fujita, K., Taniguchi, M., ve Tanaka, T.,** 2005: Synergistic Fungicidal Activity of Cu²⁺ and Allicin, An Allyl Sulfur Compound from Garlic, and Its Relation to the Role of Alkyl Hydroperoxide Reductase 1 as a Cell Surface Defense in *Saccharomyces Cerevisiae*. *Toxicology*, 215: 205–213.
- O’Gara, E.A., Hill, D. J., ve Maslin, D. J.,** 2000: Activities of Garlic Oil, Garlic Powder, and Their Diallyl Constituents against *Helicobacter pylori*. *Applied and Environmental Microbiology*, 66: 2269-2273.
- Özhatay, N.,** 2002. Diversity of bulbous monocots in Turkey with special reference. Chromosome numbers. *Pure and Applied Chemistry*, 74: 547–555.
- Pollack, M.,** 1990: *Pseudomonas aeruginosa*. Mandell, Douglas and Bennett (Eds) Principles and Practise of Infectious Diseases. Churchill Livingstone Inc., New York, s. 1673-1691.
- Rabinkov, A., Miron, T., Konstantinovski, L., Wichek, M., Mirelman, D., ve Weiner, L.,** 1998: The Mode of Action of Allic: Trapping of Radicals and Interaction with Thiol-Containing Proteins. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1379: 233–234.
- Rahman, M.S.,** 2007: Allicin and Other Functional Active Components in Garlic: Health Benefits and Bioavailability. *International Journal of Food Properties*, 10: 245–268.
- Rice-Evans, C. A., ve Miller, N. J.,** 1984: Total antioxidant status in plasma and body fluids. *Methods in Enzymology*, 234: 279-293.
- Rivlin, R.S.,** 2001: Historical Perspective on the Use of Garlic. *American Society for Nutritional Sciences*, 131: 951–954.
- Rohani, S.M.R., Moradi, M., Mehdizadeh, T., Saei-Dehkordi, S.S., ve Griffiths M.W.,** 2011: The effect of nisin and garlic (*Allium sativum* L.) essential oil separately and in combination on the growth of *Listeria monocytogenes*. *Food Science and Technology*, 44: 2260-2265.
- Ross, Z.M., O’Gara, E.A., Hill, D.J., Sleightholme, H.V. ve Maslin, D.J.,** 2001: Antimicrobial properties of garlic oil against human enteric bacteria: Evaluation of methodologies and comparisons with garlic oil sulfides and garlic powder. *Applied and Environmental Microbiology*, 67: 475-480 .
- Ruben, L.F. ve Norden C.W.,** 1991: *Staphylococcal* infections. Evans and Brachman (Eds) Bacterial Infections of Humans - Epidemiology and Control. Plenum Medical Book Company, New York, London, s. 621-637.
- Sasaki, J., ve Kita, J.,** 2003: Bacteriocidal Activity of Garlic Powder against *Bacillus anthracis*. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 49: 297-299.

- Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L., ve Leblebici, E.,** 1995, Tohumlu Bitkiler Sistematığı. Ege Üniv. Fen Fak. Kitaplar Serisi, No: 116, İzmir, s. 311-330.
- Serteser, A. ve Gök, V.,** 2003: Doğal Antioksidanların Biyoyararlılığı. 3. Gıda Mühendisliği Kongresi. Özet Kitabı, s. 83-97, 2-4 Ekim, Ankara.
- Skergel, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hra, A., Simonic, M., ve Knez, Z.,** 2005 Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in same plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, 89: 191-198.
- Stratil, P., Klejdus, B. ve Kubán, V.,** 2006: Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables—evaluation of spectrophotometric methods. *The Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 607–616.
- Taşkaya, B.,** 2003: Sarımsak. *Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü Yayınları*, 4: 10, Ankara.
- Taşkın, R., Özgen, U., Babacan, M., Tuncel, E., ve Koyuncu, M.,** 1997: Sarımsak ve bazı *Allium* türlerinin antimikrobik etkileri üzerine karşılaştırmalı bir çalışma. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 26: 77-82.
- Tomás-Barberán, F.A., ve Espin, J.C.,** 2001: Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81: 853–879.
- Tsao, S., ve Yin, M.,** 2001: In vitro activity of garlic oil and four diallyl sulphides against antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 47: 665-670.
- Tunalıer, Z., Öztürk, N., Koşar, M., Başer, K.H.C., Duman, H., ve Kırimer, N.,** 2002: Bazı *Sideritis* türlerinin antioksidan etki ve fenolik bileşikler yönünden incelenmesi. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, 29-31 Mayıs, ISBN 975-94077-2-8, Eskişehir.
- Uçan, F.,** 2008: DL-Limonenin mayalar üzerine antifungal etkisi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı, *Yüksek lisans tezi*, Adana.
- Url-1.**<<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>, alındığı tarih 02.03.2012.
- Url-2.**<<http://www.forumfood.net/bacillus-licheniformis-t9051.html>>, alındığı tarih 13.04.2012.
- Url-3.**<<http://www.mikrobiyoloji.org/genelpdf/942124051.pdf>>, alındığı tarih 02.02.2012.
- Ustaçelebi, Ş.,** 1999: Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Tıp Kitabevi, Ankara, s. 339-560

- Weber, N.D., Andersen, D.O., North, J.A., Murray, B.K., Lawson, L.D., ve Hughes, B.G.,** 1992: In Vitro Virucidal Effects of *Allium sativum* (Garlic) Extract and Compounds. *Planta Medica*, 58: 417–423.
- Wei, Z., ve Lau, B.H.S.,** 1998: Garlic inhibits free radical generation and augments antioksidant enzyme activity in vascular endothelial cells. *Nutrition Research*, 18: 61-70.
- Yoshida, S., Kasuga, S., Hayashi, N., Ushiroguchi, T., Matsuura, H., ve Nakagawa, S.,** 1987: Antigungal Activity of Ajoene Derived from Garlic. *Applied and Environmental Microbiology*, 53: 615–617.

ÖZGEÇMİŞ



Ad Soyad: Gülay KOZAN
Doğum Yeri ve Tarihi: İSTANBUL - 25. 11. 1984
Adres: Çamlaraltı mah. 6083 sok. No: 14 MERKEZ-DENİZLİ
Lisans Üniversitesi: Pamukkale Üniversitesi