ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NANE (*Mentha piperita* L.)'NİN FARKLI KISIMLARINA UYGULANAN FARKLI KURUTMA TEKNİKLERİNİN UÇUCU YAĞIN BİLEŞİMİNE VE ANTİMİKROBİYEL AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Elif ÖZER

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2012

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

NANE (*Mentha piperita* L.)'NİN FARKLI KISIMLARINA UYGULANAN FARKLI KURUTMA TEKNİKLERİNİN UÇUCU YAĞIN BİLEŞİMİNE VE ANTİMİKROBİYEL AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Elif ÖZER

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ali BAYRAK

Bu çalışmada nane bitkisinin uç, orta ve alt kısımları elle ayrılmış ve bu kısımlar farklı kurutma teknikleriyle (güneş, gölge, etüv) kurutulmuştur.

Nane bitkisi kısımlarında en çok yağ %3.18 ile uç kısmın gölgede kurutulmasıyla, en az yağ % 2.40 ile aynı kısmın güneşte kurutulmasıyla elde edilmiştir. Orta kısımdan en çok yağ %2.07 ile etüvde kurutmayla, en az yağ %1.58 ile güneşte kurutmayla, alt kısımdan en çok yağ %1.11ile etüvde kurutmayla, en az yağ ise % 0.92 ile güneşte kurutma yöntemiyle elde edilmiştir.
Bitki kısımlarının her birinden ve tüm kurutma yöntemleriyle elde edilen uçucu yağlarda değişik oranlarda 24 bileşen bulunmuştur.

Nane yağı için en önemli bileşen L-mentol olup, uç ve alt kısımların güneşte kurutma yöntemiyle (orta kısım hariç) elde edilen yağlarında en fazla bulunan bileşen olmuştur (en az %30.50-en çok 42.58). Bu bileşenin oranı uç kısımdan alt kısma doğru gidildikçe artmış ve en büyük artış alt kısım materyalinde bulunmuştur.

Nanenin tüm kısımlarına ait uçucu yağlar, test edilen bakterilerin (*Salmonella enterica* serotype Enteritidis (*S.* Enteritidis), *Listeria monocytogenes*, *Esherichia coli* O157H:7*, Staphylococcus auerus*) tümüne karşı belirli düzeyde antimikrobiyel etki göstermiştir. Bitkinin uç, orta ve alt kısımlarından elde edilen uçucu yağların aynı bakteri türüne karşı gösterdikleri antimikrobiyel etki bakımından aralarında önemli bir fark bulunmamıştır ($P>0.05$). Bununla birlikte antimikrobiyel aktivite, test edilen mikroorganizma türüne göre farklılık göstermiştir. Test edilen bakteriler birbiriyle kıyaslandığında, *S.*Enteritidis'in en duyarlı bakteri olduğu, bunu *S.aureus* ve *L. monocytogenes*'in izlediği, *E. coli* O157:H7'nin bu bakteriler arasında uçucu yağa en az duyarlı bakteri olduğu saptanmıştır.

Ekim 2012, 41 sayfa

Anahtar Kelimeler: Nane, kurutma tekniği, farklı kısım, uçucu yağ bileşimi, antimikrobiyel aktivite

ABSTRACT

Master Thesis

EFFECTS OF VARIOUS DRYING METHODS TO BE APPLIED TO DIFFERENT PARTS OF MENTHA (*M. piperita* L.) ON ESSANTIAL OIL COMPOSITION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY.

Elif ÖZER

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

Supervisor: Prof. Dr. Ali BAYRAK

In this study, the top, middle and lower parts of the mint plant were separated by hand and dried with different techniques (sun drying, shading, oven drying).

Maximum and minimum oil composition was determined in different parts with different drying techniques as follows; firstly, maximum oil composition (3.18%) of top part of the mint plant was determined by shading technique, minimum oil composition (2.40%) was determined by sun drying technique. Secondly, maximum oil composition (2.07%) of middle part of the mint was obtained by drying oven technique, the minimum oil composition (1.58%) was obtained sun drying technique. Finally, maximum oil composition (1.11% of lower parts of the mint plant was obtained by drying oven technique), minimum oil composition (0.92%) was obtained by sun drying technique.

Essential oils obtained from each part of the mint plant and attained by all drying techniques have 24 components at different proportions. The most important component of mint is L-mentol that was mostly determined from top and lower part of mint by sun drying technique (min 30.50 - max 42.58%). This ratio of the component was increased from top to lower parts and the highest increment was found at lowest part material.

The essential oils attained from all parts of the mint plant have an antimicrobial effect on all bacteria at a certain level. The essential oils attained from the top, middle and lower parts of the mint plant have almost the same antimicrobial effect on the same bacteria ($P>0.05$). However, the antimicrobial activity varied depending on the type of the tested microorganism.

When the test bacterias were compared with each other, it is discovered that *S.* Enteritidis was the most sensitive bacteria and then *S.aureus* and *L.monocytogenes* respectively. *E. coli* O157: H7 bacteria was found to be the least sensitive among the bacteria tested against essential oil.

Ekim 2012, 41 pages

Key Words: Mint, drying technique, different parts, essential oil composition, antimicrobial activity

TEŞEKKÜR

Bu tez konusunun belirlenmesinde yardımcı olan ve her aşamasında benden yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ali BAYRAK'a (Ankara Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü), her konuda bana yardımcı olan Dr. Mustafa KIRALAN'a (Ankara Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü) ve Dr. Şeref TAĞI'ya (Ankara Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü) ve beni her konuda destekleyen sevgili aileme teşekkürlerimi sunarım.

Elif ÖZER

Ankara, Ekim 2012

İÇİNDEKİLER

ÖZET…….. i

ABSTRACT…….. ii

TEŞEKKÜR……... iii

SİMGELER DİZİNİ ve KISALTMALAR DİZİNİ…….. v

ŞEKİLLER DİZİNİ…….. vi

ÇİZELGELER DİZİNİ…… vii

1. GİRİŞ……..……... 1

2. KURAMSAL TEMELLER……..……... 7

2.1 Nanenin Bileşimi…… 7

2.2 Nanenin Antimikrobiyel Etkisi……...……... 9

2.3 Nanenin Kurutulması……. 12

3. MATERYAL VE YÖNTEM…….……... 15

3.1 Materyal……... 15

3.2 Yöntem……. 15

3.2.1 Kurutma……... 15

3.2.2 Su destilasyonu yöntemiyle uçucu yağın elde edilmesi……...…… 15

3.2.3 Su oranının tayini…… 16

3.2.4 Nane bitkisinin kısımlarına göre uçucu yağ oranının tayini……...…... 17

3.2.5 Uçucu yağ bileşiminin tayini……..…….... 17

3.2.6 Uçucu yağın antimikrobiyel etkisinin tayini …… 18

3.2.6.1 Kullanılan mikroorganizmalar ve besiyerleri……..…… 18

3.2.6.2 Bakterilerden standart inokulum hazırlanması…… 18

3.2.6.3 Antimikrobiyel aktivitenin saptanması……. 19

3.2.7 İstatistik değerlendirme…….. 21

4. BULGULAR VE TARTIŞMA……. 22

4.1 Bitki Kısımlarının Su Oranlarına ait Bulgular……..…… 22

4.2 Bitki Kısımlarının Uçucu Yağ Oranlarına ait Bulgular……..…….. 23

4.3 Bitki Kısımlarının Uçucu Yağ Bileşimine ait Bulgular…….…… 25

4.4 Bitki Kısımları Uçucu Yağlarının Antimikrobiyel Etkisi…….…. 32

5. SONUÇ……...……... 36

KAYNAKLAR…….…….……... 37

ÖZGEÇMİŞ……..... 41

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

GC/MS	Gaz Kromotografi/Kütle Spektorofotometri
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
MIC	Minimum inhibitör konsantrasyonu
MBC	Minimum bakterisit konsantrasyonu
MFC	Minimum fungusit konsantrasyonu
FID	Alev İyonlaştırmalı Dedektör
$NaSO_4$	Sodyumsülfat
TSA	Tryptic soy agar
TSB	Tryptic soy broth
kob/mL	Koloni oluşturan birim/mililitre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 *Mentha piperita* türü nanenin kısımları ve görünüşü…….….. 1
Şekil 1.2 Önemli bazı bileşenlerin kimyasal formülleri…….....… 4
Şekil 3.1 Bazı bakterilerin inhibisyon çaplarının ölçümü……...…… 21
Şekil 4.1 Nanenin kısımlarına ve kurutma yöntemlerine göre
uçucu yağ oranları…… 23
Şekil 4.2 Kurutma tekniğine ve antibiyotiklere göre uçucu yağın antimikrobiyel
etki sonuçları…….……...…… 35
Şekil 4.3 Nane kısımlarına ve antibiyotiklere göre uçucu yağın antimikrobiyel
etki sonuçları…… 35

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Standart inokulumda bakteri sayıları (n=3)……..….. 19
Çizelge 4.1 Nane bitkisi kısımlarının su içeriği, %..... 22
Çizelge 4.2 Nanenin kısımlarına ve kurutma yöntemlerine göre uçucu yağ oranları, %..... 23
Çizelge 4.3 Nanenin kısımlarına ve kurutma yöntemlerine göre uçucu yağ oranlarının istatistik analiz sonuçları……..... 24
Çizelge 4.4 Nane bitkisi kısımlarının uçucu yağ bileşimi, (%)…….. 25
Çizelge 4.5 Uçucu yağ bileşenlerinde kurutma x kısım interaksiyonuna ilişkin karşılaştırmalar…… 26
Çizelge 4.6 Uçucu yağ bileşenlerinin kısım faktörü seviyelerinin karşılaştırılması..... 27
Çizelge 4.7 Uçucu yağ bileşenlerinin kurutma faktörü seviyelerinin karşılaştırılması…….. 28
Çizelge 4.8 Kuyu difüzyon ve disk difüzyon yöntemlerinin kıyaslanması (kuyu çapı 9 mm)……...…….. 32
Çizelge 4.9 Bakterilerin antimikrobiyel aktivite sonuçları…….....…. 34

1. GİRİŞ

Nane, *Lamiaceae* familyasından, ticari önemi olan aromatik bir bitkidir (Sinha ve Chattopadhyay 2011). Asya kökenli olup otsu bitkilerdendir, aromatik baharat ve tıbbi özellikleri vardır (Nascimento vd. 2009). Nane bitkisi çok yıllık, otsu, 30-100 cm boyunda, çiçekler yaprak koltuklarında ve salkım şeklindedir. Çin, Japonya, Brezilya, Güney Afrika, Tayvan ve Arjantin'de yaygın olarak yetiştirilir (Akgül 1993). Nanenin çeşitli kısımlarının görünüşü aşağıda verilmiştir.



Şekil 1.1 *Mentha piperita* türü nanenin kısımları ve görünüşü

Nanenin 25'den fazla türü vardır. Bunlardan bazıları mentol, karvon, menton ve pulegon gibi majör bileşenleri içeren uçucu yağa sahiptir (Phatak ve Heble 2002). Dünyada kültürü yapılan nanenin 3 türü; *Mentha piperita* (İngiliz nanesi), *Mentha arvensis* (Japon nanesi) ve *Mentha spicata* (Bahçe nanesi) dır. Bu üç önemli nane türünden başka içerdikleri özel bileşenlerden dolayı bergamot veya limon nanesi (*Mentha citrata*), su nanesi veya kıvırcık nane (*Mentha aquatica*), elma nanesi veya kırmızı nane (*Mentha gentilis*), ananas nanesi (*Mentha gentilis var. variegata*) gibi daha pek çok nane türü bulunmaktadır (Baydar 2005).

Birçok ülkede nane türlerinin uçucu yağları, değeri yüksek yağlar arasında sayılır. Bu nedenle ticari olarak kültürü yapılmaktadır. Ülkemizde ise eskiden beri bahçe ve tarlalarda yetiştirilen nane bitkisi tıbbi açıdan spazm ve gaz giderici, mide rahatlatıcı, serinletici, uyarıcı ve diüretik etkilere sahip olup, baharat ve bitki çayları şeklinde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Nane yağının ilaç, gıda ve kozmetik sanayisinde geniş bir uygulama alanı vardır. Bu anlamda en yaygın kullanılan baharatlardan biridir. Nane, mentol bileşeninin en zengin doğal kaynağıdır. Dünyada yılda 6000-8000 ton nane uçucu yağı üretilmekte ve turunçgil yağlarından sonra ikinci sırada yer almaktadır (Özgüven ve Kırıcı 1999, Johnson vd. 2011).

Baharat olarak özellikle çorba, salata, kızartma ve sıcak yemeklere iştah açmak, aroma ve lezzet vermek için katılmaktadır. Eczalıkta esas olarak antiseptik, anestezik, serinletici, yatıştırıcı, gaz söktürücü, bulantı kesici ve önleyici ilaçların yapımında kullanılmaktadır. Mentolce zengin nane yağı mide ağrısı ve bulantılara karşı iyi geldiğinden, nane şekeri ve ciklet üretiminde çok tercih edilmektedir. Ayrıca ağız suları, diş macunu, sabun, krem, losyon ve parfüm sanayisinin önemli hammaddelerdendir. Halk hekimliğinde, burun açıcı olarak ve cilt enfeksiyonlarına karşı da kullanılır (Baydar 2005, Nascimento vd. 2009).

Akdeniz iklim kuşağında yetiştirilmekte olan nane, ülkemizde hemen her bölgede küçük çaplı da olsa yetiştirilir. Buna karşın Ege, Marmara ve Akdeniz bölgelerinde kültür bitkisi olarak üretimi yapılmakta ve ticari öneme sahiptir. Taze ve kuru olarak tüketilen nane yaprakları taze olarak uzun süre fiziksel, kimyasal ve besin özelliklerini

kaybetmeden kalamazlar. Bu nedenle özellikle gerek baharat olarak, gerekse gıda ve diğer sanayi dallarında kullanılacak olan naneye kurutma işlemi uygulanmaktadır. Geleneksel olarak biçimden sonra sürgünler açık havada gölgede 20-25 °C'da, 1-2 hafta süreyle kurutulurlar (Kocabıyık ve Demirtürk 2008).

Baharatlardan elde edilen uçucu yağlar antifungal, antimikrobiyel, antioksidan aktivitelere sahiptir. Bunların antimikrobiyel aktiviteleri, içerdikleri fenolik (timol, kavrakrol, öjenol vb.) ve terpenoit bileşenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Uçucu yağlardaki bu fenolik bileşikler hücre membranındaki fosfolipit tabakanın duyarlılığına, geçirgenliğinin artmasına sebep olurlar. Böylece hücre içi bileşenlerin hücre dışına çıkmasına veya bakterilerin enzim sistemlerinin bozulmasına neden olduklarından mikroorganizma inhibisyonunu sağlarlar (Cerit ve Gökçe 2008).

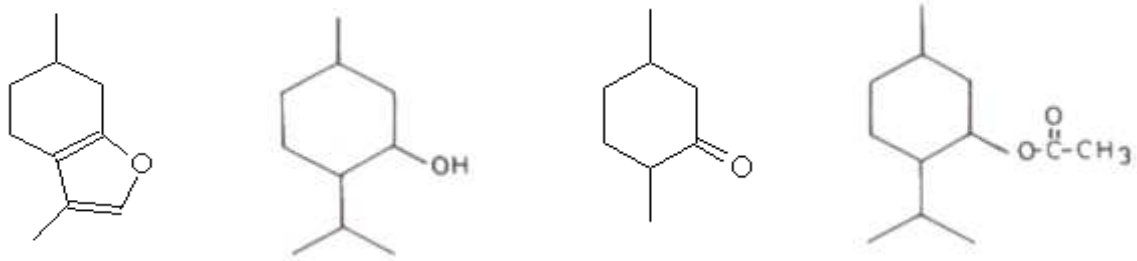
Mentha piperita L. (Bahçe Nanesi, Biberi Nane, Tıbbi Nane) *Peppermint* (İn.) Menthe Poivree (Fr.), Pfefferminz (Al.) bitkisi Güney Avrupa kökenli, çok yıllık, otsu, 30-100 cm boyunda, tüysüz, karşılıklı dik dallı, *M. aquqtica* L. ile *M. spicata* L.'nin melezidir. Başlıca iki varyete önemlidir. Bunlar *var. officinalis pallens* (beyaz), *var.* officinalis *rubescens* (siyah) dir. İlkinde gövde yeşil, çiçekler beyaz; ikincisinde gövde kırmızımsı, çiçekler leylak renklidir. Çiçekler, dalların ucunda ve bir aradadır. Siyah olanı daha dayanıklıdır. Tohum vermediği için stolon sürgün veya ayırmayla çoğaltılır. Sulak yerleri sever, ılıman iklimlerde Amerika, Avrupa ve Asya'da yetiştirilir; 5-6 yıl ürün alınır. Baharat olarak uluslararası ticarete giren nanelerin bitki türüne göre miktarlarını belirlemek zordur (Akgül 1993).

Dünyada en çok nane uçucu yağı *Mentha piperita* türünden elde edilir. Bu nanenin üç önemli kültür varyetesi vardır; bunlar *Mentha piperita var. vulgaris, Mentha piperita var. officinalis*, *Mentha piperita var. Piperita'* dır. Piperita varyetelerinin ayrı bir ekonomik önemi vardır. Tüm nane yağları içerisinde en iyi yağ *var. officinalis* türü bitkilerinden elde edilir ve İngiltere'de en çok üretilen nane varyeteleri bu gruptandır. ABD'de ise en çok *var. piperita* kültürü yapılmaktadır. Diğer bir varyetesi *var. vulgaris*, koyu kırmızı saplı, koyu yeşil yapraklı ve yüksek yağ verimlidir. Bu nanenin

uçucu yağ oranı drog yaprakta %1-3,5 arasında değişmekte, uçucu yağında en çok mentol ve menton bulunmaktadır. Her ikisinin uçucu yağ içindeki payı genelde %50'yi, bazen %60'ı geçmektedir (Baydar 2005).

Baharat olarak daha çok yaprakları kullanılır. Kokusu kuvvetli ve tipik mentolsü, tatlı, lezzeti, serinletici, aromatik, hafif yakıcıdır. Uçucu yağ, flavonoit, tokoferol, karotenoit, betain, kolin, azulen, tanen, asit, triterpen içerir. Uçucu yağ su buharı destilasyonu ile elde edilir, verimi bitkinin çiçek açma döneminde % 0,5-2 dir. Yağ renksiz, açık-sarı olup koku ve lezzet daha yoğundur. Siyah naneden elde edilen uçucu yağa "Mitcham esansı" da denir. Özgül ağırlığı (25°C) 0,896-0,908, çevirme (optik) açısı (20°C) -18°/-32°, kırılma indisi (20°C) 1,459-1,465, çözünürlük (%70 etanol) 3 hacim, mentol olarak toplam alkol en az %50, mentil asetat olarak toplam ester en az %5'dir. Gıda ürünlerinde kullanılacak uçucu yağ, bir veya iki kez daha damıtılarak rektifiye edilir (Akgül 1993).

Mitcham esansında toplam mentol miktarı %60-65 arasındadır ve bu uçucu yağ, diğer *Mentha piperita* türleri arasında, kokusu en hoş olan uçucu yağ olarak bilinmektedir (Tanker ve Tanker,1976). Uçucu yağın başlıca bileşenleri: mentol (%30-60), menton (%10-30), mentofuran (%1-10), mentil asetat (%3-10), γ-terpinen (%3-10), α- ve β-pinen, 1,8-sineol, limonen, linalol, etil amilkarbinol, pulegon, piperitondur. Mentolün sekiz, mentonun dört izomeri vardır. Önemli olan ve istenen doğal haldeki L-mentoldür, mentofuranın az bulunması kaliteyi arttırır. *M. piperita* uçucu yağlarında bulunan bileşenlerin miktarları kaynağa göre değişebilir (Akgül 1993). Önemli bazı bileşenlerin kimyasal formülleri aşağıda verilmiştir.



Mentofuran Mentol Menton Mentil asetat

Şekil 1.2 Önemli bazı bileşenlerin kimyasal formülleri

Nanenin ekonomik olarak en değerli kısmı yapraklarıdır. Nane türlerinde uçucu yağ oranı %1-4 arasında değişmektedir. *M. piperita* ve *M. arvensis* uçucu yağlarının en önemli bileşenleri mentol ve menton, *M. spicata* uçucu yağının ise karvondur. Mentol/menton tipi bir uçucu yağda mentol oranının %50-70 ve menton oranının %10-20 olması istenmektedir. Mentol oranı yükseldikçe, nane yağının kalitesi de artmaktadır (Baydar 2005).

Uçucu yağın %50'si monosiklik bir monoterpen olan mentoldur. Mentol yanında %10 kadar menton ve mentofuran da bulunur. Mentol bir alkol, menton bir ketondur. Mentol serbest veya asetik asit esteri halinde bulunur. Mentofuran ise bir furan halkası taşımaktadır. Bu oksijenli monoterpen türevleri yanında menten, pinen ve fellandren gibi oksijensiz terpenler de uçucu yağda yer almaktadır.

Türkiye'de doğal olarak yetişen nane türleri arasında en yaygın olanları *M. pulegium* (yarpuz), *M. rotundifolia, M. longifolia* ve *M. aquatica*dır. Bu türler mentol taşımazlar. *M. pulegium*, pulegon adı verilen monoterpenik, monosiklik yapıda ve bir çifte bağ taşıyan bir keton içerir. Pulegon nane kokusunda bir maddedir, fakat etki ve koku bakımından mentolden farklı olduğundan, mentol yerine kullanılamaz. Ayrıca pulegon, kristallenebilen bir bileşen de değildir. Bununla beraber, *M. pulegium'*un uçucu yağı, Anadolu'da halk arasında, nane yağı olarak ve aynı amaçla kullanılmaktadır. Ayrıca, Batı ve Güney Anadolu'da yetişmekte olan bitkilerden elde edilen yağ, yurt dışına da satılmaktadır (Tanker ve Tanker 1976).

Mentol renksiz, iğne biçiminde, altıgen kristal, erimiş bir kütle veya kristalize görünüşlü toz halinde olup, nane kokusundadır. L-mentol 41-43 $^{\circ}$C' da erir; rasemik mentol ise 32 $^{\circ}$C' dan sonra sıvıdır. Mentol sinir uçlarında, hafif lokal anestezik bir etki gösterir. Bu nedenle kaşıntı ile beliren çeşitli deri hastalıklarında antipütirik (= kaşıntıya karşı) olarak, geniş uygulama alanı bulmuştur. Losyon, emülsiyon, pomat ve kremlere % 0,25-1 oranında katılarak kullanılır. Ayrıca, %50'lik çözeltisi, sivilce ve çıbanlarda irritasyona karşı uygulanmaktadır. Aynı etkiden dolayı mentol, mide bulantılarına karşı, nefes (inhalasyon) yoluyla solunum sistemi antiseptiği olarak da kullanılır. Sıvı vazelindeki çözeltisi burun damlası şeklinde, burundaki konjestiyonu

azaltır (Tanker ve Tanker 1976). Mentol, vanilya ve turunçgillerden sonra, dünyada kullanılan en yaygın aroma maddesi olarak bilinir (Rajeswara Rao 1999).

Mentol, Hindistan'nın önemli bir ihracat ürünüdür. Bu ülkede nane yetiştiriciliği 1,600,000 hektar alanda yapılmakta ve yılda 16,000 ton yağ üretilmektedir. Bugün, Hindistan dünyanın en büyük nane üreticisi ve nane yağı satıcısıdır (Singh vd. 2010).

Bu çalışmada, *Mentha piperita* L.'nin üç farklı kısmının (uç, orta, alt), üç farklı yöntemle (güneş, gölge, etüv) kurutulmasıyla elde edilen örneklerin uçucu yağ oranı, bileşimleri ve antimikrobiyel etkileri araştırılmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER

Nane *(Mentha) Lamiaceae* familyasından olup, 25'den fazla türü vardır. Bu familyadan bazıları (*M. arvensis, M. piperita, M. spicata* ve *M. pulegium*) mentol, karvon, menton ve pulegon gibi önemli bileşenleri içeren uçucu yağa sahiptir. Bu yağlar gıda sanayinde, eczacılıkta, parfüm, ciklet, temizlik malzemesi üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır (Phatak ve Heble 2002).

Nanenin ticari yetiştiriciliğinin ana nedenlerinden biri uçucu yağının elde edilmesidir. Uçucu yağının en önemli bileşeni doğal mentoldür. Bunun yanında diğer kimyasal bileşenlerde (menton, metil asetat, terpenler vb.) ekonomik öneme sahiptir. Bu bileşenler eczacılık ürünlerinde, kozmetik ürünlerinde ve şekerlemelerde özellikle kullanılmaktadır. Son yıllarda uluslararası marketlerde nane ürünlerine yani nane yağına ve yağ fraksiyonlarına talep gittikçe artmaktadır. Hindistan'daki yıllık nane yağı üretimi 16,000 ton civarındadır. Ayrıca, ticari öneme sahip olan bu nane, mutfaklarda da kullanılmaktadır. Bunun yanında, antioksidan potansiyeli yüksektir olup, yağının anti-mikotik etkisinin olduğu rapor edilmiştir (Sinha ve Chattopadhyay 2011).

Nane cinsi bitkiler antimikrobiyel, antiviral ve böcek kovucu özellikleri için kullanılmaktadır. Yapraklarının demlenerek tüketilmesi romatizma ve sindirime iyi gelmektedir. Nane eczacılık ve kozmetik alanlarında kullanılmasının yanında gıdalarda, içeceklerde ve sigarada aroma maddesi olarak kullanılan değerli bir bitkidir (Johnsan vd. 2011).

2.1 Nanenin Bileşimi

Farklı lokasyonlarda denemeye alınan *M. arvensis* ve *M. piperita* genotiplerinin uçucu yağ içeriği ve veriminin genotip ve çevreden önemli derecede etkilendiği, uçucu yağ oranının % olarak sırasıyla, 0,44 ve 1,54, dekara uçucu yağ veriminin ise 0,68 ve 3,06 l/da arasında değiştiği saptanmıştır. *M. piperita'*nın mentol oranı (% 6,23- 40,47), *M. arvensis* (% 66,20-72,29) e göre daha düşük bulunmuştur (Özgüven ve Kırıcı 1999).

Aromatik bitkilerin kimyasal bileşiminde terapötik özellik taşıyan bileşenler olduğundan bu bitkilerin insan sağlına pozitif etkileri de bilinen bir gerçektir. Bitkilerden elde edilen uçucu yağların ve bunların bileşenlerinin birçok biyolojik aktivitesi bilinmektedir. Özellikle antimikrobiyel, antimikotik ve antioksidan etkileri üzerinde oldukça fazla çalışma yapılmıştır. Uçucu yağlar, yüzyıllardır eski Roma, Yunan ve Mısır'da ve Orta ve Uzak Doğu'da parfümeride, gıdaların aromatize edilmesinde, deodorantlarda ve eczacılıkta kullanıldığı bilinmektedir. Fas'n Meknes bölgesinden toplanan *M. piperita* uçucu yağının kimyasal bileşimi GC-MS ile incelenmiş, uçucu yağda % olarak en çok, menton (29,01), sonra sırasıyla mentol (5,58), metil asetat (3,34), mentofuran (3,01), 1,8-cineol (2,40), izomenton (2,12), limonen (2,10), α-pinen (1,56), germakren-D (1,50), β-pinen (1,25), sabinen (1,13) ve pulegon (1,12) bulunmuştur (Derwich vd. 2010).

M. piperita L. ve *M. spicata* L'nin mineral madde içeriği, uçucu yağ bileşimi, antimikrobiyel ve antioksidan aktivitesi araştırılmış ve bu türlerde sırasıyla mentol (%35,64) ve karvon (%50,33) en çok bulunan bileşen olmuştur. *M. piperita*'nın mineral içeriği mg /kg olarak, Ca 12150, Cd 0,210, Cr 5,410, Cu 11,52, Fe 531,5, Mg 3602, Mn 70,82, P 1102 ve Zn 12,64 iken, *M.spicata*'nın mineral içeriği Ca 4396, Cd 0,220, Cr 1,585, Cu 1,757, Mg 760,3, Mn 2,367, P 289,1 ve Se 4,654 olarak bulunmuştur. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) yeşil bitkilerde bulunmasına izin verilen Cd, Cr ve Cu miktarlarını sırasıyla en çok 0,3, 2 ve 20 olarak bildirmektedir (Haşimi vd. 2010).

Nanenin α-mentol, neomentol, isomentol, d-menton, isomenton, mentofuran, metilasetat, karyomenton, sineol, limonen, piperiton, β-pinen, karvakrol, α-pinen, dipenten gibi terpenleri içerdiği ancak bu bileşenlerin mevsime, iklime ve bitkinin yapısına göre değiştiği rapor edilmiştir. Bunun yanında nanenin kuvarsetin, mentosit ve isoroifolin, K vitamini, timol ve öjenol gibi flavonoitleri de içerdiği kaydedilmiştir. Bütün bu bileşenlerin antioksidatif ve serbest radikalleri önleyici etkisinin olduğu, ayrıca bu flavonoitlerin antioksidan enzim potansiyelini artırdığı bildirilmiştir (Jagetia ve Baliga 2002).

L-mentol, tarla nanesi yağında yüksek konsantrasyonlarda bulunan bir siklik terpen alkoldür. Doğada yaygın olarak bulunur ve özellikle koku özelliğine sahiptir. Bu nedenle L-mentol, tıpta, kozmetikte ve gıdalarda yaygın şekilde kullanılmaktadır. L-Mentol genellikle kristal veya granül formda olup, 41-43 ^{o}C sıcaklıkta eritilerek kullanılır. Ancak yüksek uçuculuğa sahip olması onun kullanımında ve raf ömründe problem oluşturmaktadır (Soottitantawat vd. 2005).

Bassole vd. (2010) tarafından *M. piperita* uçucu yağının 17 bileşeni tanımlanmış ve bu bileşenler toplam yağın %93,4'ünü oluşturduğu anlaşılmıştır. Mentol (39,3%) ve menton (25,2%) majör bileşenleri, mentofuran (6,8%), mentil asetat (6,7%), iso-menton (5,3%), 1,8-sineol (4,1%) ve pulegon (1,4%) minör bileşenleri oluşturmaktadır.

Dört faklı ticari kaynaktan sağlanan *Mentha piperita* uçucu yağlarının (A-Evcin Company, Adana/Türkiye; B- Jet-Farms, Yakima, WA; C- Mari-Linn Farms, Oregon; D-Erdoğmuş Perfume Industry, Hindistan) GC-MS analiz sonuçlarına göre, en önemli bileşenlerden mentol % 28-42 arasında ve menton % 18-28 arasında olduğu bildirilmiştir. En az menton D örneğinin bileşiminde, en çok mentol B örneğinin bileşiminde bulunmuştur (İşcan vd. 2002).

2.2 Nanenin Antimikrobiyel Etkisi

Son yıllarda antibiyotiklere karşı dirençli suşların oluşması önemli bir problem haline gelmiştir. Doğal bitki içeriklerinden elde edilen maddeleri kullanarak patojen mikroorganizmalara karşı etkili olan bitki türleri ve bu türlerin içerdikleri etken maddelerin tespit edilmesi, dünyada üzerinde yoğun olarak çalışılan bir alan haline gelmiştir. Uçucu yağlar, farklı bileşenleri içeren kompleks karışımlar olduklarından biyolojik etkileri yönünden de farklılıklar göstermektedirler. Etki dereceleri içerdikleri etken maddenin özelliğine bağlı olarak birçok uçucu yağ farklı antimikrobiyel etki gösterebilmektedir.

Nane (*Mentha species*) bitkisi *Lamiaceae* familyasından olup, ülkemizde eskiden beri bahçelerde, ev önlerinde ve tarlalarda yetiştirilmektedir. Tıbbi açıdan spazm ve gaz

giderici, antimikrobiyel etkileri yanında, serinletici ve diüretik etkilere sahiptir. Nane yağı ilaç, gıda ve kozmetik sanayisinde geniş bir uygulama alanı bulmuştur. Nane yağı zengin oranda pulegon içerir. Pulegon bir monoterpen olup hepatotoksik ve pneumotoksik etkilere sahiptir (Ertürk vd. 2010).

Ticari olarak satın alınan kekik ve nane uçucu yağlarının, klinik önem taşıyan bakteriler ve maya türleri üzerine olan antimikrobiyel etkilerinin karşılaştırmalı olarak araştırıldığı bir çalışmada kekik ve nane uçucu yağlarının 21 bakteri ve 7 maya türü üzerindeki antimikrobiyel etkisi, disk difüzyon yöntemi kullanılarak test edilmiştir. Kekik yağı *Pseudomonas aeruginosa* hariç test edilen diğer tüm mikroorganizmalara karşı güçlü bir antimikrobiyel etki göstermiştir. Aynı çalışmada nane uçucu yağının ise test edilen pek çok mikroorganizmaya karşı kekik yağından daha az antimikrobiyel etkinlik gösterdiği saptanmıştır Her iki yağında test edilen maya türlerine karşı oldukça etkili olduğu görülmüştür. Kekik uçucu yağının ise, nane yağına göre daha güçlü antimikrobiyel etkinliğe sahip gözlenmiştir. Bitkisel uçucu yağlar antimikrobiyel etkileri sebebiyle, gıda, kozmetik endüstrisi ve tıbbi kullanımlarda alternatif olmaya adaydır (Ertürk vd. 2010).

Diğer bir çalışmada ise Hindistan'da kullanılan altı farklı baharat ekstraktının (karanfil, tarçın, hardal, sarımsak, zencefil ve nane) antimikrobiyel aktivite değerleri karşılaştırılmıştır. Bütün bu baharatlar hala geleneksel tıpta yaygın şekilde kullanılmaktadır. Baharatların antimikrobiyel etkisi *Escherichia coli* ve gıda kaynaklı patojen olan *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus cereus*'a karşı test edilmiştir. Bunun için disk difüzyon yöntemi, kuyu difüzyon yöntemi ve dilüsyon yöntemleri kullanılmıştır. Test edilen baharatlardan sarımsak orta derecede aktivite gösterirken, karanfil, tarçın ve hardal %1 konsantrasyonda iyi bir inhibitör etkisinin olduğu ve çalışmada kullanılan bütün baharatların ise %3 konsantrasyonda bakterisit etki gösterdiği saptanmıştır. Diğer yandan zencefil ve nanenin bu patojenlere karşı aynı konsantrasyonlarda önemli bir antimikrobiyel etkisinin olmadığı saptanmıştır (Sofia vd. 2007).

İki farklı nane türüne ait yağların antimikrobiyel aktivitesinin belirlenmesi amacıyla disk difüzyonu yöntemi uygulanan bir çalışmada nane yağı doğrudan disklere emdirilmiş ve *Echerichia coli*, *Pseudomonas aeroginosa, Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes* ve *Candida albicans* türleri kullanılmıştır. Sonuçta nane türlerinden *M.spicata C. albicans*, *E.coli*, *S. pyogenes* ve *S. aureus* türlerine karşı sırasıyla (20 µl nane yağı için) 34,3 mm, 19,6 mm, 17,3 mm ve 16,0 mm inhibasyon çapı oluştururken *M. piperita* ise sırasıyla 26,3 mm, 15,3 mm, 16,3 mm ve 15,0 mm inhibasyon çapı oluşturmuştur. Bu sonuçlara göre her iki nane yağı en fazla *C. albicans*'a karşı etki gösterirken en az *P. aeroginosa'*ya karşı etki göstermiştir (Haşimi vd. 2010).

Sıvı ve buhar fazdaki *M. piperita*'nın farklı bakteri türlerine (*Escherichia coli* αDH5, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas fluorescens, Bacillus subtilis ve Staphylococcus aureus*), bazı küf türlerine (*Penicillium digitatum*, *Aspergillus flavus, Aspergillus niger, Mucor spp*, ve *Fusarium oxysporum*) ve bazı mayalara (*Candida albicans* ve *Sacchromyces cerevisiae*) karşı antimikrobiyel potansiyeli, sırasıyla agar dilisyonu yöntemi, kuyu difüzyonu yöntemi ve disk difüzyonu yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. *Mentha piperita* yağının en düşük inhibitör konsantrasyonu (MIC) ve minimum bakterisit ve fungusit konsantrasyonuna bakıldığında (MBC/MFC) gram pozitif bakterilerin (*B. subtilis* ve *S. aureus*) MIC değerleri gram negatif bakterilerden (*E. coli* αDH5, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*) daha düşük bulunmuştur. En yüksek MIC değerini (2,25 mg/mL) *Pseudomanas* türleri göstermiştir. MBC değerleri ise *P. aeruginosa, P. fluorescens* (9 mg/mL) > *E. coli* αDH5, *E. coli* ATCC 25922 (4,5 mg/mL) > *B. subtilis* ve *S. aureus* (2,25 mg/mL) şeklinde saptanırken, küf türleri için MFC değerleri *P. digitatum*, (4,5 mg/mL) > *A. niger*, *A. flavus*, *F. oxysporum* ve *Mucor spp* (2,25 mg/mL) şeklinde saptanmıştır (Tyagi ve Malik 2011).

Kuyu difüzyonu yöntemi ile 40µL *M. Piperita* yağı disklere emdirilerek antimikrobiyel aktivite ölçümünde uygulandığında gözlenen inhibisyon zon çapları sırasıyla *P. aeruginosa* (13 mm) < *P. fluorescens* (14 mm) < *E. coli* aDH5 (15mm)<*E. coli* ATCC 25922 (16 mm)< *B. subtilis* (22 mm) şeklinde saptanmıştır. Maya ve küf türlerinde ise

bütün *M.piperita* konsantrasyonları için herhangi bir inhibasyon zonu belirlenememiştir. Disk difüzyonu yönteminde *M. piperita* yağı farklı konsantrasyonlarda disklere emdirilerek denendiğinde bakteri türlerinden çok küf türlerine daha çok etki ettiği gözlenmiştir (Tyagi ve Malik 2011).

Bassole vd. (2010) tarafından yapılan bir çalışmada ise *Lippia multiflora, Mentha piperita* ve *Ocimum basilicum* bitkilerinin uçucu yağları ve onların majör monoterpen alkollerinin 9 farklı bakteriye (*S. aureus* ATCC 9144, *E. faecalis* CIP 103907, *L. monocytogenes* CRBIP 13.134, *E. aerogenes* CIP 104725, *E. coli* CIP 105182, *P. aeruginosa* CRBIP 19,249, *S. enterica* CIP 105150, *S. typhimurium* ATCC 13311, *S. dysenteria* (CIP 54,51) karşı gösterdikleri antimikrobiyel etkisi disk difüzyonu yöntemi kullanılarak test edilmiştir. Sonuçta *L. multiflora, M.piperita, O. basilicum* uçucu yağlarının *P. aeruginosa*'ya hiçbir antimikrobiyel etki göstermediği görülmüştür. Karvakrol ve timol en fazla antimikrobiyel etkiye sahip bileşenlerdir. Bu durum en fazla antimikrobiyel potansiyele *L. multiflora* uçucu yağının sahip olduğu göstermektedir. Daha sonra *O. basilicum* uçucu yağı bakteriler üzerinde etkili olduğu ancak öjenol ve linalolün antimikrobiyel etkisi karvakrol ve timol kadar çok olmadığı belirtilmektedir. *M. piperita* yağı ise bakteriler üzerinde en az antimikrobiyel etkiye sahip olduğu, mentolün ise öjenolden daha az etkisi olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada *L.multiflora, M.piperita ve O. basilicum*'un kendi aralarındaki ve bunların majör bileşenleri olan öjenol, linalol, mentol, karvakrol ve timolün yine kendi aralarındaki sinerjetik etkisi analiz edilmiş ve sonuçta en iyi sinerjetik etkinin *O. basilicum* uçucu yağı ve öjenol arasında gerçekleştiği belirlenmiştir.

2.3 Nanenin Kurutulması

Kurutma, materyalde bulunan serbest suyun uçurularak azaltılması veya materyalin su aktivitesinin düşürülmesidir. Nanenin kurutulması yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir ve son üründeki mikrobiyel gelişmeyi ve ürünün bozulmasını yavaşlattığı gibi, raf ömrünü de artırır (Rohloff vd. 2005).

Bilindiği gibi nane, taze ve kurutulmuş olarak tüketilir. Taze olarak uzun sürede tüketilecekse içerdiği su oranının fazla olmasından veya su aktivitesinin yüksek olması nedeniyle nane hızla bozulur, mikrobiyel yükü artar. Bu nedenle baharat, gıda ve diğer sanayi dallarında kullanılacak olan nane materyaline kurutma işlemi uygulanır. Geleneksel olarak hasattan sonra sürgünler açık havada ve gölgede 20-25 °C'da 1-2 hafta süreyle kurutulur (Kocabıyık ve Demirtürk, 2008).

Nane yaprakları; güneşte, etüvde (50 ^{0}C) ve mikrodalga fırında (700 W) kurutularak bir çalışma yapılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre, taze ve kuru bitkilerin yüksek miktarda K, Ca, P, Mg, Fe ve Al içerdiği görülmüştür. Mikrodalga fırında kurutma işlemine tabi tutulan örneklerin Ag, Al, B, Na, Mn, Mg ve Zn içeriklerinin, diğer yöntemlere göre daha düşük olduğu görülmüştür. Ayrıca mikrodalga fırında kurutma yöntemi ile kurutma süresi kısalmış, yüksek fenolik içerikli ve uygun renk değerlerine sahip nane örnekleri elde edilmiştir (Mengeş vd. 2010).

Kurutma işlemi, nane yapraklarının hazırlanması için önemli bir süreç gerektirir. Güneşte kurutma işlemi açık hava şartlarında yapıldığından, yapraklar genellikle kuşlar, böcekler, çöp vb. ile kirlenir ve kalitesini kaybeder. Bu problemleri ortadan kaldırmak için kurutma işleminin, özel kurutuculardа kontrollü olarak yapılması gerekir (Çolak vd. 2008).

Bitki dokusunda bulunan uçucu yağ, genelde bitkilerin hasattan sonra kuruması sonucu kaybolduğu gibi, daha başka nedenlerle de kaybolur. Su içeriği yüksek taze bitkiler veya bitki kısımları (gül, solucanotu, hintkamışı kökü) diğer bitkilere göre (havada kuru) daha fazla uçucu yağ kaybeder. Bu kayıp, buharlaşma, oksidasyon, rektifikasyon ve diğer kimyasal reaksiyonlar sonucu meydana gelir. Buharlaşma ile oluşan kayıp oksidasyon ve resinifikasyondan daha azdır. Uçucu yağın buharlaşması bitki dokusunun duvarlarından kolayca olur. Çünkü uçucu yağ, taşıyıcı ortamdan önce hidrodifüzyonla, sonra suyla veya bitki rutubeti ile yüzeye doğru taşınır. Bitkinin ince zarlı çiçekleri ve yaprakları difüzyon kuvvetini engelleyemez, çoğu durumda buharlaşma uçucu yağın düşük kaynama noktalı bileşenlere sahip terpenlerden çok, suda çözünebilen bileşenlerini etkiler. Bitkinin kurutulması sırasında buharlaşma ile meydana gelen uçucu

yağ kaybının nedeni, bitkilerin (nane bitkisi tipik örnek) destilasyonu sırasında hem bitkinin hem de yapraklarının yüksek oranda su içermesi ve bu suyun kaybına paralel olarak yağın da kayboluşundan ileri gelmektedir (Bayrak 2012).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Bu çalışmada, TC Tarım, Gıda ve Hayvancılık Bakanlığı Ankara Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsünün deneme alanlarında kurulan tarla nanesi olarak bilinen bitki, materyal olarak kullanılmıştır. Nane bitkisi 20 cm'lik kısımlar halinde üçe bölünmüş ve uç, orta, alt kısımlar elde edilmiştir. Bu kısımlar güneşte, gölgede ve etüvde kurutulmuştur. Bu kısım materyallere su destilasyonu yöntemi uygulanarak uçucu yağları elde edilmiş ve analize kadar +4 ^{0}C'da buzdolabında muhafaza edilmiştir. Analizler bu yağlar üzerinde yapılmıştır. Deneme üç tekerrürlü olarak yapılmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Kurutma

a.Güneşte Kurutma: Güneşte kurutmada 35 ^{0}C sıcaklıkta 24 saat tutularak yapılmıştır.
b.Gölgede Kurutma: Gölgede kurutmada 25 ^{0}C sıcaklıkta 48 saat tutularak yapılmıştır.
c.Etüvde Kurutma: Nane bitkileri kısımlara ayrıldıktan sonra, etüvde kurutma 70 ^{0}C sıcaklıkta 3 saat tutularak yapılmıştır.

3.2.2 Su destilasyonu yöntemiyle uçucu yağın elde edilmesi

Su destilasyonu yöntemi; bitki materyalinin boyut küçültme işlemi yapıldıktan sonra Clevenger aparatının 2 litrelik balonu damıtılacak nane bitkisi ile doldurulur, aşırı kaynamayı ve soğutucuya bitki parçacıklarının sıçramasını önlemek için balonun üzerinde geniş bir buhar boşluğu bırakılır. Bitki yığınının üzerini tamamen örtecek şekilde su ilave edilir. Balon dikkatli bir şekilde yağ toplama kısmına ve soğutucuya bağlanır. Bu sistemde kaynayan su buharlarının, soğutucu bir yüzeyde yoğunlaşması sonucu uçucu yağ ve su birlikte ayırma kabında toplanır. Bu şekilde uçucu yağın içinde bir miktar su da bulunur. Yağdan suyu uzaklaştırmak için bir miktar sodyum sülfat kullanılır ve böylece su, sodyum sülfat tarafından bağlanır. Sudan ayrılan yağ teflon

kapaklı, özel kahverengi şişelerde analize kadar buzdolabında muhafaza edilir (Guenther, 2008).

Her biri 100-200 g olan kurutulmuş örnekler, elde ufalanarak homojen hale getirilmiştir. Daha sonra her biri 29-49 g arasında tartılan homojen örnekler 500 mL'lik balona aktarılmış ve üzerine 200 ml saf su ilave edilmiştir. Clevenger aparatına saf su doldurulup düzenek kurulmuş ve ısıtıcı 200 ^{0}C'a ayarlanmıştır. Örnek kaynamaya başladıktan 3 saat sonra 1. okuma, 30 dakika sonra ise 2. okuma yapılmış, 1. ve 2. okuma aynı değeri verdiğinde ise işlem sona erdirilmiştir. Eğer değerler aynı değilse, sabit olana kadar kaynama devam ettirilmiştir.

İşlem sona erdikten sonra, Clevenger büretinde biriken uçucu yağ, bir behere aktarılmış ve suyun uzaklaştırılması amacıyla yağın üzerine bir miktar $NaSO_4$ konularak hafif çalkalanmış, suyun sodyum sülfat tarafından bağlanması için beklenmiştir. Daha sonra örnek, pastör pipetiyle çekilerek kahverengi bir cam viale aktarılmış ve analiz aşamasına kadar buzdolabında +4 ^{0}C'da muhafaza edilmiştir.

3.2.3 Su oranının tayini

Bitki materyalinde bulunan % su miktarının tayini, Guenther (2008) tarafından önerilen, Bidwell-Sterling yöntemine göre yapılmıştır. Buna göre, aparatın 500 mL'lik damıtma balonuna 5-7 g arasında ufalanmış bitki numunesi tartılmış ve üzerine 200 mL toluol ilâve edilmiştir. Balon elektrik ocağında ısıtılmış ve saniyede 2 damla dam-layacak şekilde ayarlanmıştır. Suyun büyük bir kısmı damıtıldıktan sonra, saniyede 4 damla damlayacak şekilde sıcaklık tekrar ayarlanmıştır. Suyun toplandığı ölçekli kısımda su düzeyinin artık değişmediği saptanınca, damıtmaya 15 dakika daha devam edilmiştir. Bir süre dinlendirildikten sonra ölçekli kısımdaki su ve toluol fazı birbirinden tamamen ayrılınca, su miktarı okunmuş ve alınmış olan numune miktarı ile oranlanarak bitki materyalinde bulunan yüzde su miktarı hacim/kütle cinsinden hesaplanmıştır.

3.2.4 Nane bitkisinin kısımlarına göre uçucu yağ oranının tayini

Yöntemin esası, uçucu yağ içeren bitkiden su buharı destilasyonu yöntemiyle uçucu yağın elde edilmesi ve dereceli bir bürette toplanarak hacminin ölçülmesidir. Bu yöntemle uçucu yağ miktarı, hacim/kütle olarak hesaplanır. Yağın yoğunluğu ölçülür, hacmi yoğunluk ile çarpılarak kütle/kütle olarak da % miktarı hesaplanabilir (Tanker ve Tanker 2003).

3.2.5 Uçucu yağ bileşiminin tayini

Uçucu yağın bileşimi gaz kromatografi-kütle spektrofotometresi (GC/MS) ile belirlenmiştir.

Uçucu bileşenlerin analizinde FID dedektör donanımlı Hewlett Packard 7890 gaz kromatografi cihazı ile kombine HP 5975 MS dedektörü kullanılmıştır. Analizlerde DB-624 (30m uzunluğunda, 0,25mm iç çapında, 1,4 µm film kalınlığında) kapiler kolon kullanılmıştır. Çalışma koşulları aşağıda verilmiştir.

Enjeksiyon bloğu sıcaklığı: 250 ^{o}C
Dedektör sıcaklığı: 250 ^{o}C
Taşıyıcı gaz: He
Akış hızı: 1 mL/dakika
MS kaynağının sıcaklığı: 230 ^{o}C
MS kuadropol sıcaklığı: 150 ^{o}C
Enjeksiyon modu: Bölünmesiz (Splitless)
Fırın sıcaklık programı:
40 ^{o}C 5 dak tutulur
40 ^{o}C'dan 110 ^{o}C'a kadar, dakikada 3 ^{o}C artacak şekilde
110 ^{o}C'dan 150 ^{o}C'a kadar, dakikada 4 ^{o}C artacak şekilde
150 ^{o}C'dan 210 ^{o}C'a kadar, dakikada 10 ^{o}C artacak şekilde
210 ^{o}C'da 12 dakika tutulur
Elektron enerjisi: 70 eV
Kütle aralığı: 41-400 atomik kütle ünitesi

GC/MS analizleri yapılan bileşenlerin kütle spektrumları, standart maddeler cihaza enjekte edilerek hem alıkonma süreleri hem de kütle spektrumlarından yararlanılarak tanımlama yapılmıştır. Ayrıca kütle spektrofotometrenin Wiley ve NIST kütüphanelerindeki bilgiler ile karşılaştırma yapılarak da teşhisler yapılmıştır. En son olarak alifatik hidrokarbon standart maddeleri (C4-C20) cihaza verilerek Kovats indeks (**Lineer retention indeks)** değerleri hesaplanmış ve bu da tanımlamada ayrıca kullanılmıştır.

3.2.6 Uçucu yağın antimikrobiyel etkisinin tayini

3.2.6.1 Kullanılan mikroorganizmalar ve besiyerleri

Alves vd. (2000)'ne göre, disk difüzyonu yöntemi uygulanarak yapılmıştır. Örneklerde antimikrobiyel aktivitenin saptanması amacıyla Gram + bakterilerden *Salmonella enterica serotype enteritidis* (ATTC 13076) (*S.* Enteritidis) ve *Listeria monocytogenes* (ATTC 7644), Gram - bakterilerden ise *Esherichia coli* O157H:7 (Gıda Mühendisliği Bölümü kültür koleksiyonu)*, Staphylococcus auerus* (Cowan suşu) (Gıda Mühendisliği Bölümü kültür koleksiyonu) kullanılmıştır.

Bakteri kültürleri %16 (v/v) gliserol stok kültürü olarak -25°C'de uzun süreli olarak saklanmıştır. Her denemede kullanılmak üzere bu bakteriler tryptic soy agar (TSA) (Merck, Darmstad, Almanya) ile hazırlanan yatık agarlı besiyerinde 4°C'de stok kültür olarak saklanmış ve her denemede standart inokulum hazırlanması amacıyla aktifleştirilerek kullanılmıştır. Bakterilerin aktive edilmesi ve geliştirilmesi amacıyla tryptic soy broth (TSB) besiyeri kullanılmıştır.

3.2.6.2 Bakterilerden standart inokulum hazırlanması

Yatık besiyeri stok kültüründen bir öze ucu ile alınarak 10 mL sıvı besiyerine aşılanmış ve kültür 35°C'da 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda kültürden tekrar bir öze ucu ile 10 mL sıvı besiyerine aşılanıp, 35°C'da 24 saat inkübasyona bırakılarak 2. pasaj elde edilmiştir. Daha sonra oluşan kültürde yine bir öze ucu ile 10

mL sıvı besiyerine aşılanıp, 35°C'da 18 saat inkübasyona bırakılarak 3. pasaj elde edilmiştir.

Standart inokulumdaki toplam bakteri sayısını belirlemek amacıyla 3. pasaj bakteri kültüründen ardışık seyreltmeler yapılmış, uygun seyreltilerden TSA besiyerine yayma yöntemiyle ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriler 37°C'da 24–48 saat süreyle inkübasyona bırakılmış, koloni sayımı yapılarak toplam bakteri sayısı hesaplanmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1 Standart inokulumda bakteri sayıları (n=3)

Bakteri	Bakteri sayısı (kob/mL)*
Escherichia coli O157:H7	$1{,}56 \times 10^9 \pm 2{,}06 \times 10^8$
Salmonella Enteritidis	$1{,}85 \times 10^9 \pm 4{,}90 \times 10^8$
Staphylococcus auerus	$1{,}53 \times 10^9 \pm 7{,}07 \times 10^8$
Listeria monocytogenes	$2{,}38 \times 10^9 \pm 8{,}55 \times 10^8$

*Ortalama ve standart sapma

3.2.6.3 Antimikrobiyel aktivitenin saptanması

Uçucu yağ örneklerinde antimikrobiyel aktivitenin saptanması amacıyla ilk aşamada Lenette (1985) tarafından önerilen "kuyu difüzyon yöntemi" (Alanis vd. 2005'den alınmıştır) ve disk difüzyon yöntemleri kullanılmış ve birbiriyle karşılaştırılmıştır.

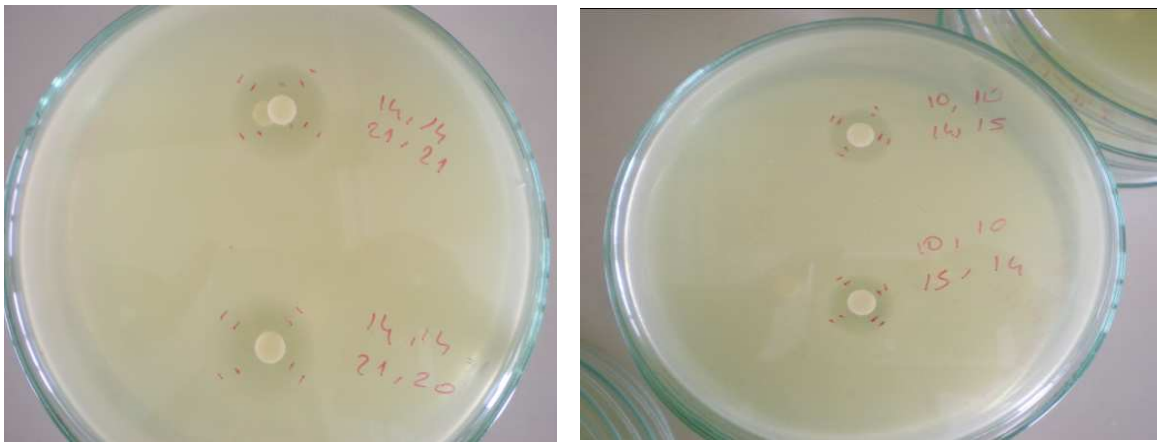
Kuyu difüzyon yönteminde "bakterilerden standart inokulum hazırlanması" başlığı altında verilmiş yöntemle hazırlanan standart inokulumdan, otoklavlandıktan sonra yaklaşık 45°C sıcaklığa soğutulmuş 25 mL TSA besiyerine %1 oranında (250 µL) ilave edilmiştir. Elde edilen bakteri-besiyeri karışımı 12 mm çapındaki steril petrilere aktarılmıştır. Böylece besiyerinin yaklaşık olarak 1×10^7 kob/mL bakteri içermesi sağlanmıştır. Besiyerleri ortam sıcaklığında (20±2°C) 10-15 dak süre içinde katılaştıktan sonra, steril bir mantar delici kullanılarak aseptik koşullarda her petriye 2 paralel olacak şekilde 9 mm çapında 4 adet kuyucuk açılmıştır. Bu kuyucuklara, her bir örnekten 2 paralel olacak şekilde 100 µL aktarılmış ve besiyerleri 35°C'da 20-24 saat

inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda besiyerinde kuyucuk etrafında oluşan zon çapı ölçülerek (kuyucuk çapı dahil) antimikrobiyel aktivite saptanmıştır.

Disk difüzyon yönteminde ise, kuyu difüzyon yönteminde kuyucuk açılması haricinde verilen aşamalar takip edilerek mikroorganizma içeren TSA besiyeri hazırlanmıştır. Diğer yandan 5 mm çapındaki steril disklere (Oxoid, İngiltere) 10 µL uçucu yağ örneği emdirilmiş ve bu diskler TSA besiyeri üzerine 2 paralel olacak şekilde yerleştirilmiş ve petriler 35°C daki inkübatörde 20-24 h süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda disklerin etrafında oluşan berrak zonların çapı (disk çapı dahil) petri kutusunun alt kısmından bakılarak her zon için en az iki ölçüm yapılarak antimikrobiyel aktivite saptanmıştır. Her iki yöntemde de ölçümler çıplak gözle veya gerektiğinde bir büyüteç veya steromikroskop altında yapılmış ve sonuçlar "mm" zon çapı olarak verilmiştir.

Antimikrobiyel aktivitenin belirlenmesinde uygun yöntemin seçimi amacıyla nane bitkisinin uç kısımlarının güneş, gölge ve etüvde kurutulmuş örneklerinden elde edilen ekstrakt 4 farklı bakteriye kuyu difüzyon ve disk difüzyon yöntemleri kullanılarak test edilmiş ve sonra da bu yöntemler karşılaştırılmıştır.

Denemelerde pozitif kontrol olarak flumequine, UB-30 (30.µg/disk), oxytetrcycline, OT-30 (30 µg/disk) ve neomycin, N-30 (30 µg/disk) ticari standart antibiyotik diskleri (Oxoid) kullanılmıştır. Antibiyotik diskleriyle besiyerinin yüzeyinde ve iç kısmında farklı çapta iki adet zon gözlenmiştir. Ekstrakt örneklerinde olduğu gibi petri kutusunun alt tarafından bakıldığında görülen zon çapları ölçülerek antibiyotik disklerinin gösterdiği antimikrobiyel aktivitesi saptanmıştır. Örnek ekstraktları için deneme her bir örnek ve bakteri için 3 tekerürlü ve en az 2 paralel olacak şekilde, standart antibiyotik diskleri için 1 tekerrürlü ve 2 paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Aşağıda bazı bakterilerin inhibisyon çaplarının ölçümü gösterilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 Bazı bakterilerin inhibisyon çaplarının ölçümü

3.2.7 İstatistik değerlendirme

Elde edilen sonuçlar, PASW Statistic 18 programı kullanılarak istatistiksel değerlendirmeye tabi tutulmuştur. Elde edilen sonuçlar faktöriyel düzende varyans analizi tekniği ile değerlendirilmiştir. Denemede kısım faktörünün 1,2,3 olmak üzere 3 seviyesi ve kurutma faktörünün 1,2,3 olmak üzere 3 seviyesi mevcuttur. Farklı grupların saptanmasında DUNCAN testi kullanılmıştır

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Araştırmada, Ankara Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsünün deneme alanlarında kurulan tarla nanesi bitkisi denemesinden elde edilen örneklerin su tayini, uçucu yağ verimi, uçucu yağın antimikrobiyel etkisi ve uçucu yağın bileşimi gaz kromatografi tekniği ile saptanmış olup bu bileşenlerle ilgili bulgular aşağıda verilmiştir.

4.1 Bitki Kısımlarının Su Oranlarına ait Bulgular

Nane bitkisinin uç, orta ve alt kısımlarının su içerikleri çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1 Nane bitkisi kısımlarının su içeriği

Bitki kısımları	Su (%)
Uç	6,8
Orta	6,8
Alt	6,8

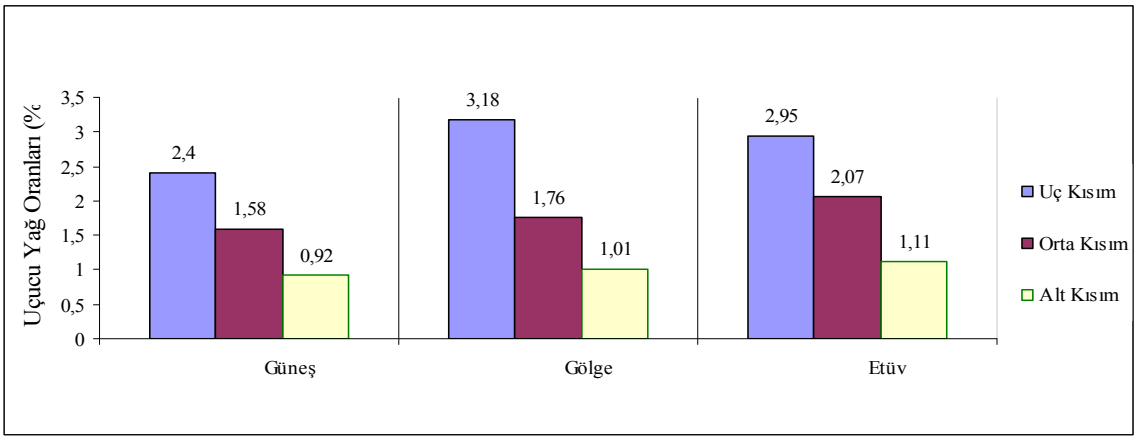
Çizelge 4.1'den görüleceği üzere, bitki kısımlarının tümünde su oranı % 6,8 olarak bulunmuştur. Kurutulmuş nane bitkilerinde genellikle su oranı % 10 civarındadır. Aksi halde bitki uzun süre bozulmadan kalamaz ve topaklaşır. Akgül (1997) baharatlar üzerine yaptığı bir derlemede bu değeri % 5-14 olarak vermektedir. Bu duruma göre çalışma materyali nanenin su oranı oldukça düşüktür.

4.2 Bitki Kısımlarının Uçucu Yağ Oranlarına ait Bulgular

Nanenin kısımlarına ve kurutma yöntemlerine göre uçucu yağ oranları, % kuru madde üzerinden çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2 Nanenin kısımlarına ve kurutma yöntemlerine göre uçucu yağ oranları, %

Kısım	Kurutma	Uçucu yağ (kuru maddede)
Uç	Güneş	2,40
	Gölge	3,18
	Etüv	2,95
Orta	Güneş	1,58
	Gölge	1,76
	Etüv	2,07
Alt	Güneş	0,92
	Gölge	1,01
	Etüv	1,11



Şekil 4.1 Nanenin kısımlarına ve kurutma yöntemlerine göre uçucu yağ oranları

Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi, kuru maddedeki uçucu yağ oranı, uç kısım için en çok %3,18 gölgede kurutma yöntemi ile elde edilmiş olup, bunu sırası ile %2,95 ile etüvde kurutma yöntemi ve %2,40 ile güneşte kurutma yöntemi izlemiştir. Orta kısım için en çok uçucu yağ oranı, %2,07 ile etüvde kurutma yöntemi ile elde edilmiş olup, bunu sırasıyla %1,76 ile gölgede kurutma yöntemi ve % 1,58 ile güneşte kurutma yöntemi takip etmiştir. Nanenin alt kısmının uçucu yağ oranları ise; %1,11 ile etüvde kurutma yöntemi, %1,01 ile gölgede kurutma yöntemi ve %0,92 ile güneşte kurutma yöntemi

şeklinde olduğu anlaşılmaktadır. Kısım, kurutma yöntemi ve yağ oranlarına ait istatistik analiz çizelge 4.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.3 Nanenin kısımlarına ve kurutma yöntemlerine göre uçucu yağ oranlarının istatistik analiz sonuçları

Uçucu yağ oranı(%)			
	Güneşte kurutma (Xort±SH)*	Gölgede kurutma (Xort±SH)	Etüvde kurutma (Xort±SH)
Uç kısım	2,40±0,16Ba	1,58±0,08Bb	0,92±0,09Ac
Orta kısım	3,18±0,03Aa	1,76±0,05ABb	1,01±0,06Ac
Alt kısım	2,95±0,07Aa	2,07±0,14Ab	1,11±0,02Ac

*Ortalama ve standart hata
Büyük harfler kurutma yöntemlerinin karşılaştırılmasında, küçük harfler ise kısımların karşılaştırılmasında kullanılmıştır.

Uçucu yağ oranı bakımından yapılan varyans analizi sonucunda kurutma X kısım interaksiyonu istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p<0,01$).

Ansari vd. (2000), taze naneden buhar destilasyonu ile elde edilen yağ oranını %0,5, İşcan vd. (2002) ise uçucu yağın antimikrobiyel etkisini araştırdıkları çalışmada yağ oranını %3,5 olarak bulduklarını bildirmişlerdir. McKay ve Blumberg (2006), nane yapraklarından %1,2-3,9 uçucu yağ elde edildiğini, Derwich vd. (2010) ise, yağ oranı ve bileşimini inceledikleri bir çalışmada bu değeri %1,02, Bassole vd. (2010) %1,9 olarak bildirmişlerdir.

Çalışma sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde yağ oranlarının hemen hemen bildirilen sınırlar arasında olduğu, McKay ve Blumberg (2006) ile İşcan vd. (2002)'un bildirdiği değerlerin çok az da olsa altında olduğu anlaşılmaktadır.

Su içeriği yüksek taze bitkiler veya bitki kısımları (gül, solucanotu, hintkamışı kökü, nane) diğer bitkilere göre (havada kuru) daha fazla uçucu yağ kaybeder. Bu kayıp, buharlaşma, oksidasyon, rektifikasyon ve diğer kimyasal reaksiyonlar sonucu meydana gelir. Buharlaşma ile oluşan kayıp oksidasyon ve resinifikasyondan daha azdır. Bitkilerin kurutulması sırasında buharlaşma ile meydana gelen uçucu yağ kaybının nedeni, destilasyon sırasında hem bitkinin hem de yaprakların yüksek oranda su

içermesi ve bu suyun kaybına paralel olarak yağın da kayboluşundan ileri gelmektedir (Guenther 2008, Bayrak 2012).

Sonuçlar ve literatürler arasındaki farklılık, muhtemelen kurutma yöntemlerine ve bitki kısımlarının birbirine göre daha fazla uçucu yağ hücresine sahip olup olmamasına göre değiştiği sanılmaktadır.

4.3 Bitki Kısımlarının Uçucu Yağ Bileşimine ait Bulgular

Nane uçucu yağlarının bileşimi gaz kromatografi ve kütle spektrofotometresi (GC-MS) ile analiz edilmiştir. Böylece bileşenlerin hem teşhisi ve hem de oranları % olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4 Nane bitkisi kısımlarının uçucu yağ bileşimi, (%)

			Uç Kısım			Orta Kısım			Alt Kısım		
Alıkonma süresi (dakika)	KI*	Bileşenler	Güneş	Gölge	Etüv	Güneş	Gölge	Etüv	Güneş	Gölge	Etüv
26,628	912	Bilinmeyen	0,35	0,32	0,58	0,43	0,50	0,40	0,43	0,64	0,42
28,611	946	α-pinen	1,02	0,86	0,84	0,78	0,74	0,70	0,63	0,7	0,62
31,181	991	sabinen	0,56	0,63	0,62	0,58	0,59	0,61	0,53	0,56	0,00
31,363	994	β-pinen	1,23	1,28	1,30	1,24	1,21	1,17	1,08	1,19	1,40
31,781	1002	β-mirsen	0,26	0,33	0,00	0,00	0,00	0,27	0,00	0,00	0,22
33,403	1035	α-terpinen	0,00	0,22	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
33,947	1046	l-limonen	2,52	2,95	2,67	2,13	2,31	2,32	1,99	2,27	1,95
34,181	1051	p-simen	0,76	0,33	0,00	0,55	0,00	0,50	0,55	0,61	0,55
34,563	1059	1.8-sineol	6,63	6,25	6,53	7,01	6,96	6,68	6,31	6,22	5,69
35,353	1075	γ-terpinen	0,33	0,46	0,49	0,45	0,00	0,40	0,00	0,00	0,24
37,455	1122	cis-sabinen hidrat	0,69	1,08	0,73	1,05	0,82	1,43	1,63	1,20	1,52
38,524	1149	α-terpinolen+ linalol	0,19	0,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
40,571	1202	mentofuran	2,12	2,98	3,04	1,36	1,34	2,17	1,89	2,65	2,68
41,116	1222	l-menton	30,93	31,38	31,29	24,23	24,89	22,22	19,12	21,25	17,85
41,214	1226	neomentol	0,93	0,51	1,13	1,66	1,28	1,37	1,61	1,42	0,00
41,442	1235	isomenton	6,42	6,03	6,08	5,26	5,56	5,34	4,17	4,36	4,27
41,630	1242	L-mentol	32,97	30,50	32,74	39,76	39,97	39,73	42,58	40,13	40,66
43,369	1310	pulegon	3,22	3,67	2,12	0,86	1,02	0,44	1,54	1,39	0,64
43,934	1338	mentil asetat	0,96	1,00	2,39	3,91	3,56	5,14	8,09	7,89	10,30

Çizelge 4.4 Nane bitkisi kısımlarının uçucu yağ bileşimi, (%) (devam)

44,032	1343	piperiton	0,83	0,83	0,86	0,82	0,85	0,86	0,76	0,77	0,00
45,863	1430	β-bourbonen	0,42	0,38	0,41	0,44	0,44	0,46	0,41	0,40	0,38
46,656	1466	β-gurjenen	0,38	0,45	0,45	0,41	0,33	0,46	0,31	0,35	0,00
46,818	1473	E-β-farnesen	0,41	0,43	0,46	0,42	0,43	0,49	0,43	0,45	0,00
46,925	1478	β-karyofillen	2,70	2,66	2,78	2,50	2,35	2,64	2,15	2,22	2,42
48,497	1540	Germakren D	0,67	0,77	0,80	0,73	0,60	0,80	0,55	0,62	0,86

Çizelge 4.5'de üzerinde durulan özellikler bakımından elde edilen gözlemler faktöriyel düzende varyans analizi tekniği ile değerlendirilmiştir. Denemede kısım faktörünün 1,2,3 olmak üzere 3 seviyesi ve kurutma faktörünün 1,2,3 olmak üzere 3 seviyesi mevcuttur. Farklı grupların saptanmasında DUNCAN testi kullanılmıştır. Analizler PASW Statistic 18 programında yapılmıştır.

Çizelge 4.5 Uçucu yağ bileşenlerinde kurutma x kısım interaksiyonuna ilişkin karşılaştırmalar

Bilinmeyen			
Kısımlar	Güneşte Kurutma	Gölgede Kurutma	Etüvde Kurutma
Uç Kısım	0,35±0,056Ba	0,32±0,023Bc	0,58±0,028Aa
Orta Kısım	0,43±0,071Aa	0,50±0,034Ab	0,40±0,047Ab
Alt Kısım	0,43±0,040Ba	0,64±0,031Aa	0,42±0,031Bb
α-terpinen			
	Güneşte Kurutma	Gölgede Kurutma	Etüvde Kurutma
Uç Kısım	0,07 ± 0,067Ba	0,22 ± 0,014Aa	0,00 ± 0,000Ba
Orta Kısım	0,14 ± 0,073Aa	0,00 ± 0,000Ab	0,15 ± 0,076Aa
Alt Kısım	0,00 ± 0,000Aa	0,00 ± 0,000Ab	0,06 ± 0,061Aa
cis-sabinen hidrat			
	Güneşte Kurutma	Gölgede Kurutma	Etüvde Kurutma
Uç Kısım	0,69 ± 0,071Ab	1,08 ± 0,110Aa	0,73 ± 0,162Ab
Orta Kısım	1,05 ± 0,167Ab	0,82 ± 0,297Aa	1,43 ± 0,121Aa
Alt Kısım	1,63 ± 0,143Aa	1,20 ± 0,113Aa	1,52 ± 0,183Aa
α-terpinolen + linalol			
	Güneşte Kurutma	Gölgede Kurutma	Etüvde Kurutma
Uç Kısım	0,19 ± 0,006Aa	0,20 ± 0,024Aa	0,00 ± 0,000Ba
Orta Kısım	0,10 ± 0,052Aab	0,00 ± 0,000Ab	0,06 ± 0,063Aa
Alt Kısım	0,00 ± 0,000Ab	0,00 ± 0,000Ab	0,04 ± 0,036Aa

* Büyük harfler kurutma yöntemlerinin karşılaştırılmasında, küçük harfler ise kısımların karşılaştırılmasında kullanılmıştır.

*Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verilmiştir.

Alfa-terpinen ve α-terpinolen+linalol ve cis-sabinen hidrat (P<0,05) bileşenleri açısından kısım x kurutma interaksiyonu istatistik olarak önemli bulunmuştur (P<0,01). Ayrıca cis-sabinen hidrat bileşeni açısından da kısım x kurutma interaksiyonu istatistik olarak önemli bulunmuştur (P<0,05). Yani kısım faktörünün seviye ortalamaları arasındaki farklılıklar kurutma faktörünün seviyelerine göre değişmektedir. Benzer şekilde kurutma faktörünün seviye ortalamaları arasındaki farklılıklar da kısım faktörünün seviyelerine göre değişmektedir.

Çizelge 4.6 Uçucu yağ bileşenlerinin kısım faktörü seviyelerinin karşılaştırılması

Bileşenler	Kısımlar		
	Uç	Orta	Alt
α-pinen	0,90±0,051A	0,74±0,016B	0,65±0,026B
sabinen	0,60±0,012	0,59±0,009	0,49±0,062
β-pinen	1,27±0,056	1,21±0,015	1,22±0,087
β-mirsen	0,26±0,035A	0,20±0,039A	0,10±0,038B
L-limonen	2,71±0,092A	2,25±0,048B	1,88±0,242B
p-simen	0,49±0,098	0,57±0,099	0,57±0,037
1,8-sineol	6,47±0,077B	6,88±0,077A	6,07±0,162C
γ-terpinen	0,43±0,030A	0,33±0,066A	0,18±0,047B
mentofuran	2,72±0,184A	1,63±0,155B	2,41±0,188A
L-menton	31,20±0,432A	23,78±0,724B	19,43±0,994C
neomenton	0,86±0,108B	1,44±0,133A	1,42±0,193A
isomenton	6,18±0,110A	5,38±0,093B	4,26±0,096C
L-mentol	32,07±0,519B	39,82±0,646A	41,12±1,070A
pulegon	3,00±0,337A	0,77±0,092B	1,19±0,148B
mentil asetat	1,45±0,267C	4,20±0,314B	8,77±0,431A
piperiton	0,84±0,010A	0,84±0,010A	0,67±0,086B
β-bourbonen	0,40±0,010B	0,45±0,011A	0,40±0,009B
β-gurjunen	0,43±0,015A	0,40±0,024A	0,30±0,040B
E-β-farnesen	0,43±0,012	0,45±0,014	0,40±0,05
β-karyofillen	2,71±0,054A	2,50±0,090B	2,27±0,052C
germakren-D	0,75±0,028	0,71±0,044	0,67±0,075

*Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verilmiştir.

Çizelge 4.7 Uçucu yağ bileşenlerinin kurutma faktörü seviyelerinin karşılaştırılması

Bileşenler	Kurutma yöntemleri		
	Güneş	Gölge	Etüv
α-pinen	0,81±0,071	0,77±0,025	0,72±0,039
sabinen	0,56±0,01	0,59±0,011	0,54±0,068
β-pinen	1,18±0,061	1,23±0,019	1,29±0,08
β-mirsen	0,16±0,041	0,17±0,053	0,23±0,032
L-limonen	2,21±0,104	2,51±0,119	2,12±0,278
p-simen	0,62±0,049	0,53±0,116	0,48±0,066
1,8-sineol	6,65±0,124	6,48±0,133	6,30±0,196
γ-terpinen	0,31±0,05	0,25±0,079	0,37±0,041
mentofuran	1,79±0,149B	2,33±0,264A	2,63±0,188A
L-menton	24,79±1,788	25,84±1,609	23,79±2,12
neomenton	1,40±0,132	1,07±0,15	1,24±0,216
isomenton	5,28±0,334	5,31±0,268	5,23±0,278
L-mentol	38,44±1,561	36,87±1,745	37,71±1,48
pulegon	1,88±0,397A	2,02±0,432A	1,07±0,291B
mentil asetat	4,32±1,047B	4,15±1,013B	5,95±1,182A
piperiton	0,81±0,019	0,82±0,018	0,73±0,094
β-bourbonen	0,42±0,012	0,41±0,011	0,42±0,014
β-gurjunen	0,37±0,02	0,38±0,022	0,39±0,05
E-β-farnesen	0,42±0,009	0,44±0,005	0,42±0,054
β-karyofillen	2,45±0,106	2,41±0,076	2,61±0,079
germakren-D	0,65±0,040B	0,66±0,038B	0,82±0,059A

*Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verilmiştir.

α–pienen, β-mirsen, limonen, 1,8-sineol, γ-terpinen, L-menton, isomenton, L-mentol, ve β-karyofillen bileşenleri açısından ise kısım faktörünün seviye ortalamaları arasındaki farklılıklar istatistik olarak önemli bulunmuştur ($P<0,01$). Ayrıca neomenton, piperiton, β-bourbonen, β-gurjunen bileşenleri açısından da kısım faktörünün seviye ortalamaları arasındaki farklılıklar istatistik olarak önemli bulunmuştur ($P<0,05$).

Mentofuran, pulegon ve mentil asetat bileşenleri açısından kısım faktörünün seviye ortalamaları arasındaki farklılıklar ve kurutma faktörünün seviye ortalamaları arasındaki farklılıklar istatistik olarak önemli bulunmuştur ($P<0,01$).

Germakren bileşeni açısından kurutma faktörünün seviye ortalamaları arasındaki farklılıklar istatistik olarak önemli bulunmuştur (P<0,05).

β-pinen, sabinen, p-simen ve E-β-farnesen bileşenleri açısından ise ne kısım faktörünün ne de kurutma faktörünün seviye ortalamaları arasındaki farklılıklar istatistik olarak önemli bulunmamıştır (P>0,05).

Çizelge 4.4' den de görüleceği üzere, nane bitkisi kısımlarının uçucu yağında toplam 24 bileşen bulunmuştur. Bunlardan bitki kısımlarının tümünde (kurutma yöntemleri de dikkate alınarak) bileşen oranları % 1'in üzerinde olanlar en az, en çok olmak üzere verilmiştir. Bunlar α-pinen % 0,7-1,02, β-pinen %1,08-1,40, limonen %1,95-2,95, 1,8-sineol (ökaliptol) % 5,69-7,01, cis-sabinen hidrat % 0,69-1,63, mentofuran % 1,34-3,04, l-menton % 17,85-31,38, neomentol % 0,0-1,66, isomenton % 4,17-6,42, l-mentol % 30,50-42,58, pulegon % 0,44-3,67, mentil asetat % 0,96-10,30, β-karyofilen % 2,15-2,78 dir.

Nane türlerinde mentol oranına ilişkin değişik görüşler vardır. Franz vd. (1984) mentol oranının yüksek sıcaklık ve özellikle kısa gün koşullarında düşük olabileceğini bildirirken, Duriyaprapan vd. (1988) ve Sing vd. (1988**)** mentol oranının yüksek sıcaklıklarda arttığını, Murray vd. (1988)**,** ise mentondan mentol ve esterlerine dönüşüm için düşük sıcaklığa ihtiyaç olduğunu belirtmektedirler.

Rohloff (1999), *M. piperita* uçucu yağı bileşimini α-pinen (%1,63), β-pinen (% 1,74), sabinen (%0,26), β-mirsen (%0,26), limonen (%2,29), 1,8-sineol (%5,79), menton (%15,34), mentofuran (%1,10), isomenton (%4,87), mentil asetat (%8,28), neomentol (%4,44), β-karyofillen (%0,88), mentol (%46,63), pulegon (%1,20) ve piperiton (%1,43) olarak tespit etmiştir.

M. piperita uçucu yağının bileşiminin mentol (%81,1), menton (%5,8), isomenton (%4,9), mentil asetat (%1,6), neomentol (%2,9) olarak belirtirken Maffei vd.(2001), mentol (%40,53), menton (%14,63), mentofuran (%4,32), mentil asetat (%4,07), pulegon (%0,8), neomentol (%2,02), 1,8-sineol (%6,53) ve limonen (%2,57) olduğunu

Ansaria vd. (2000), İşcan vd. (2002) ise *M.piperita* uçucu yağının antimikrobiyel etkisini araştırdıkları çalışmalarında uçucu yağın bileşimini limonen (%1,9), 1,8-sineol (%5,3), menton (%27,9), mentofuran (%5,5), isomenton (%3,5), linalol (%2,5), β-karyofillen (%4,2), terpinen (%1,2), mentol (%27,5), pulegon (%6,4) ve α-terpineol (%2,4) olarak bildirmektedirler.

McKay ve Blumberg (2006), *M. piperita* uçucu yağının bileşiminde; mentol (%30-60), menton (% 15-32), isomenton (%2-8), 1,8-sineol (ökaliptol) (%5-13), mentil asetat (%2-11), mentofuran (%1-10), limonen (%1-7), β-mirsen (%0,1-1,7), β-karyofilen (%2-4), pulegon (%0,5-1,6) ve karvon (%1), Yadegarinia vd. (2006) ise uçucu yağda 26 bileşen tespit etmişler ve bileşimlerinde başlıca sabinen (%1,8), β-pinen (%2,5), α-terpinen (%19,7), 1,8-sineol (%0,17), limonen (%0,7), γ-terpinen (%0,6), terpinolen (%0,08), p-simen (%0,15), menton (%0,8), isomenton (%10,3), mentol (%3,6), mentofuran (%2,3), γ-terpinol (%2,7), isomentol (%0,2), β-bourbonen (%1,2), α-garjunen (%0,14), β-karyofillen (%7,6) olduğunu bildirmişlerdir.

Nane (*M.piperita*) uçucu yağında başlıca bileşen % 50'lik bir oranla serinletici, hafif, nanemsi özellikteki mentoldür. Bunun dışında % 20 menton (keskin, sert, otsu, nanemsi), % 7 mentil asetat (hafif, çedarsı, nanemsi), % 5 1,8-sineol (taze, ökaliptüs benzeri), % 4 mentofuran (tatlı, kuru ot, nanemsi), % 3 limonen (zayıf, hafif, turunçgilsi), % 3 iso-menton (keskin, otsu, nanemsi) bulunur. Diğer önemli bileşenler; % 0,4 oktan-3-ol (otsu, yağlı), % 0,1 oct-1-en-3-ol (ham, yemeklik mantarsı), % 0,03 nane laktonu (kremsi, tatlı, nanemsi) dur (Bayrak 2006).

Aynı tür üzerinde çalışan Derwich vd. (2010), uçucu yağın bileşimini menton (%29,01), mentol (%5,58), mentil asetat (%3,34), mentofuran (%3,01), 1,8-sineol (%2,40), isomenton (%2,12), limonen (%2,10), α-pinen (%1,56), germakren-D (%1,50), β -pinen (%1,25), sabinen (%1,13) ve pulegon (%1,12), Haşimi vd.(2010) ise uçucu yağ bileşiminin β-mirsen (%0,09), p-simen (%0,51), mentofuran (%0,31), isomenton (%0,27), neomentol (%6,73), mentol (%35,64), β- bourbonen (%0,21), karyofillen (%0,48) olduğunu bildirmişlerdir.

Bassole vd. (2010), *Lippia multiflora, M.piperita ve O. basilicum* bitkilerinin uçucu yağ bileşimini araştırdıkları bir çalışmada, *M.piperita* uçucu yağının 17 bileşenini teşhis etmişler ve bunlardan bazılarını oranlarıyla vermişlerdir. Bunlar mentol (%39,3), menton (%25,2), mentofuran (%6,8), metil asetat (%6,7), isomenton (%5,3), 1,8-sineol (%4,1) ve pulegon (%1,4)dur.

Tyagi ve Malik (2011), α-pinen (%4,8), β-pinen (% 5,7), sabinen (%0,1), β-mirsen (%1,3), limonen (%10,6), 1,8-sineol (%3,6), isomenton (%14,8), metil asetat (%6,6), isomentol (%6,4), mentol (%19,1) olduğunu belirtmişlerdir.

Yapılan bu çalışmada α-pinen, β-pinen, neomentol, mentol, mentofuran değerleri Rohloff (1999), Ansari vd. (2000), Maffei vd. (2001)'un belirttiği değerlerin altında tespit edilirken, limonen, 1,8-sineol, mentofuran, menton, isomenton, pulegon, mentil asetat, β-karyofillen ise bildirilen değerlerin üzerindedir. Aynı şekilde mentofuran, pulegon, β-karyofillen değerleri İşcan vd. (2002)'un bildirdiği değerlerin üstünde, limonen,1,8-sineol, menton, isomenton, mentol, pulegon değerleri ise bulgularımızın altındadır.

Yapılan bu çalışmada bulduğumuz sonuçlardan, McKay ve Blumberg (2006)'in bulduğu sonuçlar, pulegon bileşeni hariç, diğer bütün bileşenlerin değeri daha yüksektir. Yadegarinia vd. (2006)'un ise, isomenton bileşeni için verdiği değer hariç, diğer bileşenlerin tümünün değeri düşüktür.

M. piperita üzerinde çalışan Derwich vd. (2010) ve Haşimi vd. (2010)'un α-pinen ve neomentol bileşenlerine ait sonuçlar hariç, diğer bütün bileşenlerin değeri düşüktür. Son yıllarda Bassole vd. (2010)'un yaptığı bir çalışmada ise şu sonuçlar bildirilmektedir. 1,8-sineol, menton, isomenton, mentol, pulegon, mentil asetat değerleri bulgularımızdan daha düşük, mentofuran değeri ise daha yüksek bulunurken, Tyagi ve Malik (2011)'in verdiği α-pinen, β-pinen, limonen ve isomenton değerleri yüksek, 1,8-sineol, mentol ve mentil asetat değerleri daha düşük bulunmuştur.

Taze ve kuru bitkilerden damıtılan uçucu yağların fizikokimyasal özellikleri ve kimyasal bileşimi nanede olduğu gibi büyük farklılıklar gösterir. Bu durum, taze iken çok fazla su içeren özellikle çiçekler, yapraklar, yeşil bitkiler ve kökler için geçerlidir (Guenther 2008, Bayrak 2012).

Genel olarak sonuçlar arasındaki bu farklılık; kurutma yöntemi, güneşli gün sayısı, sıcaklık gibi ana faktörler yanında, kültürel uygulamaların veya bu faktörlerin tümünün interaksiyonu sonucu oluştuğu düşünülmektedir.

4.4 Bitki Kısımları Uçucu Yağlarının Antimikrobiyel Etkisi

Çizelge 4.8'de görüldüğü gibi disk difüzyon yönteminde kuyu difüzyon yöntemine göre daha az örnek sarf edilerek daha belirgin ve geniş çaplı bir zon elde edilmiştir. Bu nedenle tüm deneme disk difüzyon yöntemiyle yapılmıştır.

Çizelge 4.8 Kuyu difüzyon ve disk difüzyon yöntemlerinin kıyaslanması (kuyu çapı 9 mm)

İnhibisyon çapları(mm)*						
Bakteriler	Kuyu difüzyonu			Disk difüzyonu		
	Güneş	Gölge	Etüv	Güneş	Gölge	Etüv
E.coli O157:H7	7,00± 0,00	7,00±0,00	8,67±0,58	9,25±0,25	9,50±0,67	9,67±0,63
*S.*Enteritidis	10,33±0,58	9,00±0,00	17,67±0,58	16,00±1,39	16,42±1,23	16,17±2,74
S. auerus	10,00±0,00	9,33±0,58	11,67±0,58	14,17±1,51	15,50±3,47	16,00±5,22
L.monocytogenes	13,67±0,58	14,00±1,00	14,33±0,58	14,98±1,03	13,25±0,66	13,50±0,00

*Sonuçlar 3 tekerrür ve 2 paralelli denemenin ortalaması ve ± standart sapması olarak verilmiştir.

Zon çapı kuyucuk çapıyla birlikte verilmiştir (Bu deneme örneklerin sadece uç kısmına aittir).

Bu yöntem kullanılarak, nanenin üç farklı kısmının üç farklı yöntemle kurutulmuş numunelerinden Clevenger yöntemiyle elde edilen uçucu yağ örneklerinin farklı bakterilere karşı disk difüzyon yöntemi ile belirlenen antimikrobiyel aktivite sonuçları çizelge 4.9' da verilmiştir.

Denemede kullanılan nanenin tüm ekstraktlarının test edilen bakterilerin hepsine karşı belirli düzeyde antimikrobiyel etkisinin olduğu saptanmıştır. Bitkinin uç, orta ve alt kısımlarından elde edilen ekstrakların aynı bakteriye karşı gösterdikleri antimikrobiyel etki bakımından karşılaştırıldıklarında aralarında önemli bir fark bulunmamıştır ($P>0,05$).

Bununla birlikte antimikrobiyel aktivite, test edilen mikroorganizma türüne göre farklılık göstermiştir. Çizelge 4.9'da görüldüğü gibi, bitki ekstraktlarının elde edildikleri tüm kısımlar ve kurutma yöntemlerine ait tüm antimikrobiyel değerlerin ortalaması ve standart sapmaları göz önüne alınarak test edilen bakteriler birbiriyle göreceli olarak kıyaslandığında, *S.* Enteritidis'in 15,50 $\pm$ 0,70 mm inhibisyon zon çapı ile en duyarlı bakteri olduğu saptanmıştır. Bunu 13,75 $\pm$ 0,80 mm zon çapı ile *S. aureus* ve 13,16 $\pm$ 1,00 mm zon çapı ile *L. monocytogenes* izlemiştir. Diğer yandan *E. coli* O157:H7'nin ise 9,40 $\pm$0,26 mm zon çapı ile bu bakteriler arasında ekstraktlara en az duyarlı olduğu saptanmıştır.

M. piperita yapraklarından etil alkollü ekstraktlarının antimikrobiyel etkisinin araştırıldığı bir çalışmada ise %10 luk ekstraktın test edilen bakteriler arasında en fazla *S. aureus*'a karşı etkili olduğu*, E. coli*'nin ise daha az duyarlı olduğu belirlenmiştir (Nascimento vd. 2009).

Elde edilen uçucu yağ ekstraktlarının pozitif kontrol olarak kullanılan antibiyotik diskleriyle karşılaştırılabilir düzeyde etkilerinin olduğu görülmektedir. Örneğin, N-30 (neomycin, 30 µg/disk) diskleriyle elde edilen zon çapları göz önüne alındığında, ekstrakt örneklerinin *S.* Enteritidis için N-30'dan daha etkili olduğu, *S. aureus* için ise hemen hemen aynı etkide olduğu görülmektedir. Benzer şekilde ekstraktların *S.* Enteritidis üzerine etkisinin OT-30'un (oxytetrcycline, 30 µg/disk) etkisine yakın olduğu görülmektedir. Benzer bir durum *L. monocytogenes'*e UB-30'un (flumequine,30 µg/disk) etkisinde de görülmektedir.

Yadegarinia vd. (2006), disk difüzyonu yöntemi kullanarak yaptıkları çalışmada *M. piperita* , 31,33 mm zon çapı oluşturarak en fazla *E.coli*'ye etki gösterirken bunu 11,67 mm zon çapıyla *S. aureus* izlemiştir.

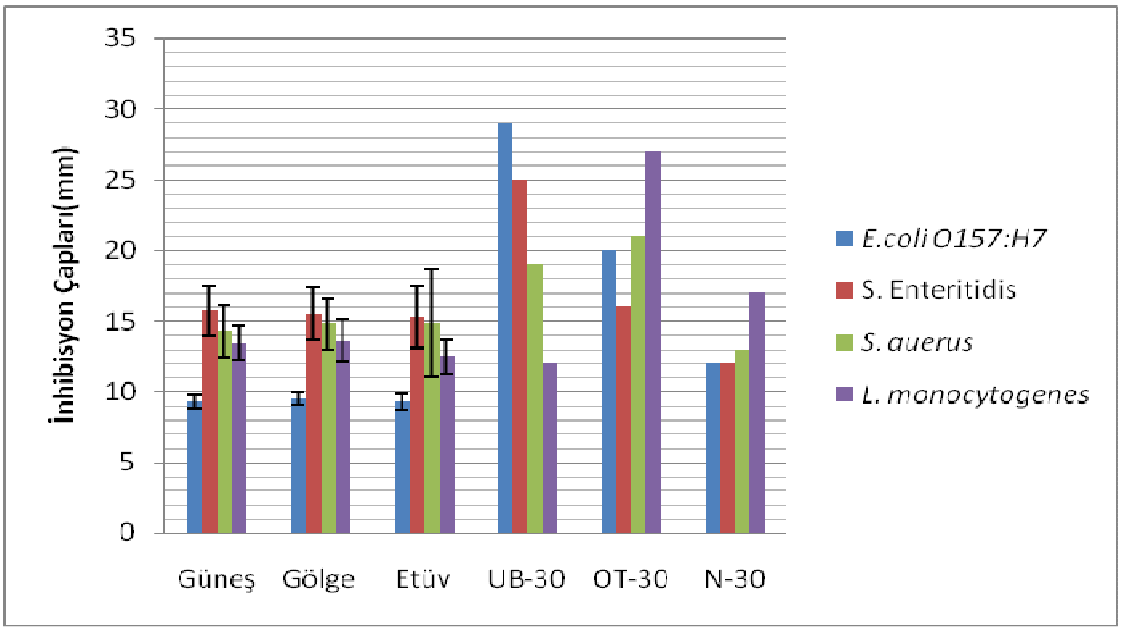
Haşimi vd. (2010), *Mentha piperita*'nın antimikrobiyel etkisini araştırdıkları bir çalışmada disk difüzyonu yöntemiyle elde ettikleri sonuçlar şu şekildedir; 15mm zon çapıyla en fazla etkiyi *Candida albicans* gösterirken bunu sırasıyla 14,3mm ile *S. aureus*, 13,6mm ile *S. pyogenes* ve 12mm ile *E. coli* izlemektedir.

Bassole vd. (2010), *Lippia multiflora*, *Mentha piperita* L. ve *Ocimum basilicum* L. uçucu yağlarının antimikrobiyel etkilerini araştırdıkları bir çalışmada, *S. aureus*'a karşı sırasıyla *L.multiflora* (39,3 ± 1,8 mm) zon çapı, *M. piperita* (27 ± 1,3 mm) zon çapı ve *O. basilicum* (23,7 ± 0,9 mm) zon çapı oluşturduğunu belirtmişlerdir. *E. coli'*ye ise sırasıyla *O.basilicum* (29,3 ± 0,9 mm) zon çapı, *L. multiflora* (14 ± 2,5 mm) zon çapı ve *M.piperita* (10,8 ± 1,1 mm) zon çapı oluşturmuştur. *L. monocytogenes*'e karşı ise sırasıyla *M. piperita* (22,3 ± 0,8 mm), O.basilicum (19,8 ± 2,3mm) ve *L.multiflora* (14,3 ± 1,6 mm) zon çapı oluşturmuştur. Bassole ve ark. yaptığı bu çalışmaya göre *M. piperita, Lippia multiflora* ve *Ocimum basilicum*'a göre en fazla *L. monocytogenes*'e karşı etki gösterirken en az *E.coli*'e karşı etki göstermektedir.

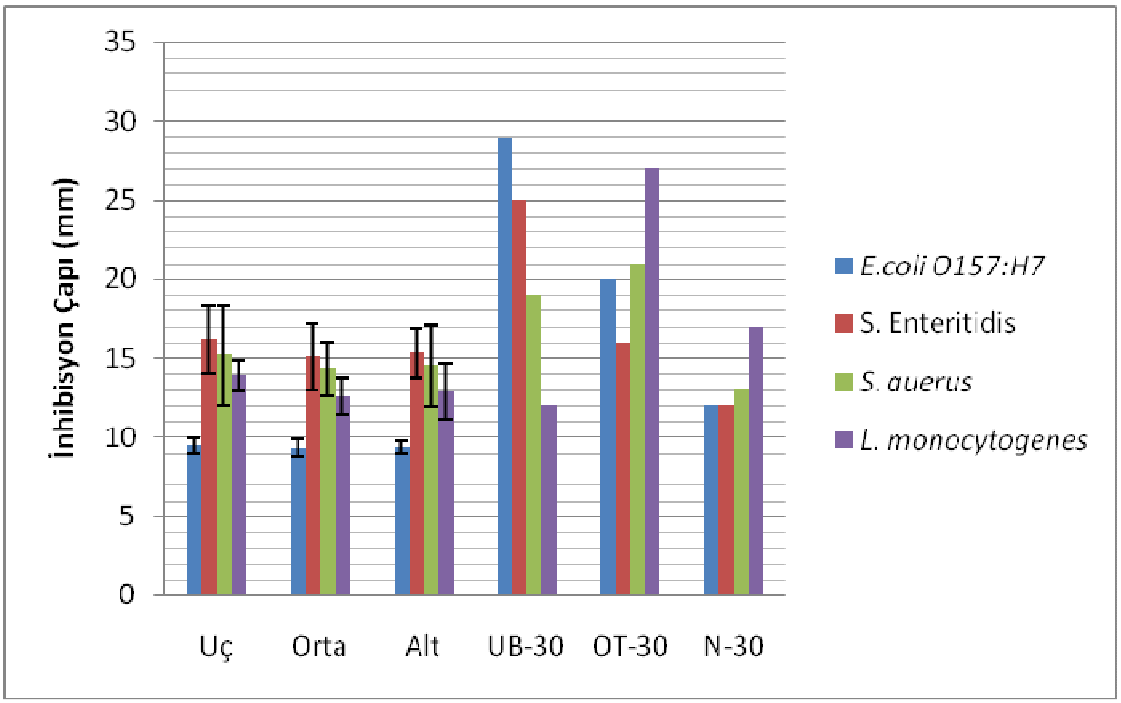
Çizelge 4.9 Bakterilerin antimikrobiyel aktivite sonuçları

İnhibisyon çapları (mm)*					
Bakteriler		*E.coli* O157:H7	*S.* Enteritidis	*S. auerus*	*L. monocytogenes*
Uç kısım	Güneşte kurutma	9,25 ± 0,27	16,00 ± 2,10	14,17 ± 1,57	14,98 ± 1,08
	Gölgede kurutma	9,50 ± 0,63	16,42 ± 1,74	15,50 ± 3,13	13,25 ± 1,44
	Etüvde kurutma	9,67 ± 0,61	16,17 ± 2,52	16,00 ± 4,73	13,50 ± 0,45
Orta kısım	Güneşte kurutma	9,58 ± 0,74	15,42 ± 1,56	13,50 ± 0,84	12,92 ± 0,49
	Gölgede kurutma	9,25 ± 0,42	15,50 ± 2,77	14,50 ± 0,89	13,17 ± 1,51
	Etüvde kurutma	9,00 ± 0,45	14,25 ± 1,97	14,75 ± 3,42	11,75 ± 1,57
Alt kısım	Güneş kurutma	9,17 ± 0,41	15,67 ± 1,69	15,17 ± 3,13	12,33 ± 2,09
	Gölgede kurutma	9,83 ± 0,23	14,58 ± 0,97	14,50 ± 1,34	14,25 ± 1,60
	Etüvde kurutma	9,33 ± 0,61	15,50 ± 2,05	13,75 ± 3,24	12,33 ± 1,63
Antibiyotikler**	UB-30	29,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	19,00 ± 0,00	12,00 ± 0,00
	OT-30	20,00 ± 0,00	16,00 ± 0,00	21,00 ± 0,00	27,00 ± 0,00
	N-30	12,00 ± 0,00	12,00 ± 0,00	13,00 ± 0,00	17,00 ± 0,00

*Sonuçlar 3 tekerrür ve 2 paralelli denemenin ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.
** Sonuçlar tek tekerrür ve 2 paralelli denemenin ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir. Zon çapı kuyucuk çapıyla birlikte verilmiştir.
UB-30, Flumequine (30.µg/disk); OT-30 oxytetrcycline (30 µg/disk); N-30, neomycin (30 µg/disk)



Şekil 4.2 Kurutma tekniğine ve antibiyotiklere göre uçucu yağın antimikrobiyel etki sonuçları



Şekil 4.3 Nane kısımlarına ve antibiyotiklere göre uçucu yağın antimikrobiyel etki sonuçları

5. SONUÇ

Nane bitkisinin üç farklı kısmından üç farklı kurutma tekniği ile elde edilen uçucu yağları analiz edilerek bileşimleri ve antimikrobiyel etkileri belirlenmiştir.

M. piperita türü nanenin bütün kısımlarında uçucu yağ oranı kuru madde üzerinden en az, en çok olmak üzere % 0,92-3,18-arasında bulunmuştur. Bitki kısımlarında en çok yağ %3,18 ile uç kısmın gölgede kurutulmasıyla, en az yağ ise % 0,92 ile alt kısmın güneşte kurutulmasıyla elde edilmiştir.

Yağın bileşiminde 24 uçucu bileşen teşhis edilmiş olup, bu bileşenlerin toplam oranı %90-98 arasındadır. Uçucu yağın bileşiminde en çok bulunanlar, l-limonen (%1,95-2,95), 1,8-sineol (%5,69-7,01), mentofuran (1,34-3,04), l-menton (%17,85-31,38), L-mentol (%30,50-42,58), pulegon (%0,44-3,67) ve mentil asetat (%0,96-10,30) dır. Bu bileşenlerin oranı bitki kısımlarına ve kurutma tekniklerine göre değişmiştir.

Farklı kısımlar ve farklı kurutma şekilleriyle elde edilen uçucu yağların bileşimleri kısımlara ve kurutma şekillerine göre önemli bulunurken ($p<0,01$), antimikrobiyel etki kısım ve kurutmaya göre önemli bulunmamıştır ($p>0,01$). Ancak *M.piperita* uçucu yağları sırasıyla en fazla *S.* Enteritidis'e, sonra *S. aureus* ve *L. monocytogenes'e* karşı, en az ise *E. coli* O157:H7'ye karşı antimikrobiyel etki göstermiştir.

Sonuç olarak nane bitkisinin uç kısmı yani yaprakları uçucu yağ bakımından daha zengindir. Kurutma yöntemlerine göre en kaliteli yağ gölgede yapılan uygulamadan elde edilmektedir. Bazı mikroorganizmalar bitki kısımlarından elde edilen yağlara seçicilik göstermemiş ve duyarlık dereceleri faklı olmuştur.

KAYNAKLAR

Akgül, A.1993.Baharat Bilimi ve Teknolojisi. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, No:15, s. 127-128.

Akgül, A. 1997. Baharatlar: Lezzet, koku ve renk dünyası. Gıda Sanayi, Sayı:48 s. 27-34.

Alanis, A.D., Calzade, F., Cervantes, J.A., Torres, J. and Ceballos, G.M. 2005. Antibacterial properties of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of gastrointestinal disorders. Journal of Ethnopharmacology, Vol.100; pp. 153-157.

Alves, T.M. Silva, A.F. Brandao, M. Grandi, T.S. Smânia, E.F. and Junior, A.S. 2000. Biological screening of Brazilian medicinal plants. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz Vol. 93; pp. 367-373.

Ansaria, M.A. Vasudevanb, P. Tandonb, M. and Razdan, R.K. 2000. Larvicidal and mosquito repellent action of peppermint (*Mentha piperita*) oil. Bioresource Technology, Vol. 71; pp. 267-271.

Bassolé, I.H.N. Lamien-Meda, A. Bayala, B. Tirogo, S. Franz, C. Novak, J. Nebié, R.C. and Dicko, M.H. 2010. Composition and Antimicrobial Activities of *Lippia multiflora* Moldenke, *Mentha piperita* L. and *Ocimum basilicum* L. Essential Oils and Their Major Monoterpene Alcohols Alone and in Combination. Molecules, Vol. 15; pp. 7825-7839.

Baydar, H. 2005. Tıbbi, Aromatik ve Keyf Bitkileri Bilimi ve Teknolojisi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Yayın: 51, s. 113-115.

Bayrak, A. 2006. Gıda Aromaları. Gıda Teknolojisi Derneği, Yayın No: 32, s. 497.

Bayrak, A. 2012. Uçucu Yağ Ders Notları (Basılmamış).

Cerit, L.S. ve Gökçe, R. 2008. Bazı Baharat Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Özellikleri. Akademik Gıda, No:6(1), s. 29-32.

Çolak, N. Kuzgunkaya, E. and Hepbaşlı, A. 2008. Exergetic assessment of drying of mint leaves in a heat pump dryer. J Food Process Eng., Number:31, pp. 281–298.

Derwich, E., Benziane, Z., Taouil, R., Senhaji, O. and Touzani, M. 2010. Aromatic Plants of Morocco: GC/MS Analysis of the Essential Oils of Leaves of *Mentha piperita.* Advances in Environmental Biology, Number:4(1), pp. 80-85.

Duriyaprapan, S., Britten, E.J. and Basford, K.E. 1988. The effect of temperature on growth, oil yield and oil quality of Japanese Mint. Annals of Botany, Number:58, pp. 729-736.

Ertürk, R., Çelik, C., Kaygusuz, R. ve Aydın, H. 2010. Ticari olarak satılan kekik ve nane uçucu yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri. Cumhuriyet Tıp Dergisi, No:32; s. 281-286.

Franz, Ch., Ceylan, A., Hölzl, J. and Vömel, A. 1984. Influence of the growing site on the quality Mentha piperita L. oil. Acta Horticulturae, Vol:144; pp. 145-150.

Guenther, E. 2008. The essential oils. Vol 1.,History Origin Plants Production, Analysis, 3rd Print. D. Van Nostrand Company Inc., pp. 427, New York.

Haşimi, N., Kızıl, S., Tolan, V., Kılınç, E. and Yüksel, U. 2010. Mineral content, essantial oil components and biological activity of two mentha species (*M.piperita* L., *M. spicata* L.).Turkish Journal of Field Crops, Vol:15(2); pp. 148-153.

İşcan, G., Kirimer, N., Kürkçüoğlu, M., Başer, K.H.C. and Demirci, F. 2002. Antimicrobial Screening of *Mentha piperita* Essential Oils, J. Agric. Food Chem. Vol*:* 50; pp. 3943-3946.

Jagetia, G.C. and Baliga, M.S. 2002. Influence of the Leaf Extract of *Mentha arvensis* Linn. (Mint) on the Survival of Mice Exposed to Different Doses of Gamma Radiation. Strahlenther Onkol, Vol: 178; pp. 91–98.

Johnson, M., Wesely, E.G., Kavitha, M.S. and Uma, V. 2011. Antibacterial activity of leaves and inter-nodal callus extracts of *Mentha arvensis* L. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, pp. 196-200.

Kocabıyık, H. ve Demirtürk, B.S. 2008. Yapraklarının İnfrared Radyasyonla Kurutulması. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, No:5(3).

Maffei, M., Camusso, W. and Sacco, S. 2001. Effect of *Mentha piperita* essential oil and monoterpenes on cucumber root membrane potential. Phytochemistry, Vol:58; pp. 703–707.

Mengeş, H.O., Arslan, D. and Özcan, M.M. 2010. Evaluation of drying methods with respect to drying parameters, some nutritional and colour characteristics of peppermint (*Mentha piperita* L.). Energy Conversion and Management, Vol.51; pp. 2769–2775.

McKay, D.L. ve Blumberg, J.B. 2006. A Review of the Bioactivity and Potential Health Benefits of Peppermint Tea (*Mentha piperita* L.). Phytotherapy Research Phytother. Res. Vol:20; pp. 619–633.

Murray, M.J., Marble, P., Lincoln, D. and Mefendehl, F.W. 1988. Peppermint oil quality differences and the reason for them, Flavors and Fragrances: A World Perspective, Proceedings of the l0th Int. Congress of Ess. Oils. Fragrances and Flavors Washington, DC. U.S.A. pp. 16-20 Nov. 1986, Elsevier Sci.P.b. Amsterdam.

Nascimento, E.M.M., Rodrigues, F.F.G., Campos, A.R. and Costa, J.G.M. 2009. Phytochemical Prospection, Toxicity and Antimicrobial Activity of *Mentha arvensis* (Labiatae) from Northeast of Brazil, J Young Pharm, Vol: 1(3); pp. 210-212.

Özgüven, M. ve Kırıcı, S. 1999. Farklı Ekolojilerde Nane (Mentha) Türlerinin Verim ile Uçucu Yağ Oran ve Bileşenlerinin Araştırılması. Tr. J. of Agriculture and Forestry, No:23, s. 465-472.

Phatak, S.V. and Heble, M.R. 2002. Organogenesis and terpenoid synthesis in *Mentha arvensis.* Fitoterapia, Vol:73, pp. 32-39.

Rajeswara Rao, B.R. 1999. Biomass and essential oil yields of cornmint (*Mentha arvensis* L. f. *piperascens* Malinvaud *ex* Holmes) planted in different months in semi-arid tropical climate. Industrial Crops and Products, Vol:10; pp. 107–113.

Rohloff, J. 1999. Monoterpene Composition of Essential Oil from Peppermint (*Mentha _ piperita* L.) with Regard to Leaf Position Using Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography/Mass Spectrometry Analysis. J. Agric. Food Chem., Vol:47; pp. 3782-3786.

Rohloff, J., Dragland, S., Mordal, R. and Iversen, T.H. 2005. Effect of harvest time and drying method on biomass production, essential oil, and quality of peppermint (*Mentha piperita* L.). J. Agric. Food Chem. Vol: 53; pp. 4143–4148.

Singh, A.K., Naqvi, A.A., Singh, K. and Thakur, R.S. 1988. Transformation of menthol, menthone and menthyl acetate in *M. arvensis* L. with relation to age of plant. Current Science. Vol: 57, Number:9; pp. 480-481.

Singh, M., Singh, A., Singh, S., Tripathi, R.S., Singh, A.K. and Patra, D.D. 2010. Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) as a green manure to improve the productivity of a menthol mint (*Mentha arvensis* L.) intercropping system. Industrial Crops and Products, Vol:31; pp. 289-293.

Sinha, R. and Chattopadhyay, S. 2011. Changes in the leaf proteome profile of *Mentha arvensis* in response to *Alternaria alternata* infection. Journal of Proteomics, Vol:74; pp. 327-336.

Sofia, P.K., Prasad, R., Vijay, V.K. and Srivastava, A.K. 2007. Evaluation of antibacterial activity of Indian spices against common foodborne pathogens. International Journal of Food Science and Technology, Vol: 42; pp. 910–915.

Soottitantawat, A., Takayama, K., Okamura, K., Muranaka, D., Yoshii, H., Furuta, T., Ohkawara, M. and Linko, P. 2005. Microencapsulation of l-menthol by spray drying and its release characteristics. Innovative Food Science and Emerging Technologies, Vol: 6; pp. 163– 170.

Tanker, M. ve Tanker, N. 1976. Farmakognazi, Cilt 2, A.Ü. Eczacılık Fakültesi, İstanbul, 200 sayfa.

Tyagi, A. K. and Malik, A. 2011. Antimicrobial Potential and Chemical of *M.piperita* oil in liquid and vapour phase against food spoling microorganisms. Food Control, Vol:22; pp. 1707-1714.

Yadegarinia, D., Gachkar, L., Rezaei, M.B., Taghizadeh, M., Astaneh, S.A. and Rasooli, I. 2006. Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils. Phytochemistry, Vol: 67; pp.1249–1255.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Elif ÖZER
Doğum Yeri : Tokat
Doğum Tarihi : 25.06.1985
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Tokat-Erbaa Yılmaz Kayalar Anadolu Lisesi (2003)
Lisans : Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü (2004-2009)
Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitisü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı (Şubat 2010-Kasım2012)