

## Çeşitli Gıda Atıklarının Toplam Fenolik Madde İçeriğinin, Antioksidan ve Antimikrobiyel Aktivitelerinin Araştırılması\*

F. Betül ZORAL, Özlem TURGAY

KSÜ, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kahramanmaraş

Geliş (Received): 19.03.2014

Kabul (Accepted): 17.09.2014

**Özet:** Bu çalışma gıda endüstrisinde kullanılan bitkilerin atık oluşturan kısımlarında (kabuk, yaprak) bulunan toplam fenolik bileşiklerin, antioksidan ve antimikrobiyel aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Çalışmada Antep fıstığı kabuğu, portakal kabuğu, nar kabuğu, ceviz kabuğu, ceviz yaprağı ve biber yaprağı kurutularak kullanılmıştır. Toz halindeki materyalin ekstraksiyonunda metoda uygun olarak seçilen solventlerden etanol, metanol, etil asetat, kloroform, aseton veya saf su kullanılmıştır. Bitkilerin toplam fenolik madde miktarları Folin-Ciocalteu metoduna göre ölçülmüştür. Toplam fenolik madde miktarı en yüksek Antep fıstığı kabuğunun saf su ekstaktlarında (2478,5 mgGAE/100g), en düşük portakal kabuğunun etil asetat ekstaktlarında (441,3 mgGAE/100g) bulunmuştur. Antioksidan aktivite; DPPH (1,1-difenil-2-pikril-hidrazil) serbest radikalleri giderme aktivitesi, indirgeme kuvveti aktivitesi ve süperoksit anyon radikali giderme aktiviteleri incelenerek belirlenmiştir. Çalışmada BHT (butillendirilmiş hidroksitoluen) kontrol olarak kullanılmıştır. DPPH serbest radikali giderme aktivitesinin 30 µg/ml bitki konsantrasyonunun etanol ile hazırlanan ekstaktlarında kalan % DPPH sırasıyla ceviz yaprağı (%66,1)> biber yaprağı (%38,2)> portakal kabuğu (%32)> BHT (%29)> ceviz kabuğu (%27,89)> nar kabuğu (%25)> Antep fıstığı kabuğu (%17,6) şeklindedir. Saf su ile hazırlanan bitki ekstaktlarının aktivitesi standart antioksidan BHT'nin aktivitesinin altında kalmıştır. Süperoksit anyon radikali giderme aktivitesi ortalama değerleri etanol ekstaktlarında %40,5, su ekstaktlarında %27,4'dır. Bitkilerin etanol ve su ekstaktlarının indirgeme kuvveti aktivitesi, BHT'nin indirgeme kuvveti aktivitesinin altında değerler vermiştir. Örneklerin antimikrobiyel aktiviteleri disk difüzyon yöntemi ile *Bacillus brevis*, *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* ve *Bacillus subtilis*'e karşı araştırılmıştır. Örneklerin oluşturduğu inhibisyon zonları 7-16 mm oranında tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Gıda Atıkları, Antimikrobiyel Aktivite, Toplam Fenolik İçerik, Antioksidan Aktivite

### A Research on Total Phenolic Content, Antioxidant Activity and Antimicrobial Effects of Various Food Wastes

**Abstract:** The objectives of the present study were to determine the antioxidant and antimicrobial effects of the phenolic components which are available in the waste parts (peel and leaves) of the plants that are used in food industry. In this study, the peels of pistachio, orange, pomegranate, walnut and leaves of walnut and pepper were used; after they had been dried. The ground plants had been extracted by appropriate solvents such as ethanol, methanol, ethyl acetate, chloroform, acetone and pure water. Total phenolic contents of each extract were determined with Folin-Ciocalteu's method. The phenolic substances were found maximum in pistachio peel pure water extracts with an amount of 2478.5 mgGAE/100g, minimum in orange peel ethyl acetate extracts with an amount of 441.3 mgGAE/100g. The antioxidant effect was defined by free radicals absorption activity in vitro DPPH (1,1-diphenil-2-pycril-hidrazil), reduction power effect and superoxide anion radical absorption activity. In this study BHT (butylated hidroksitoluen) was used as control. The percentages of DPPH available in the extracts of the 30 µg/ml plant concentration prepared by ethanol in DPPH free radical absorption activity were as follows; walnut leaves (66.1%)> pepper leaves (38.2%)> orange peel (32%)> BHT (29%)> walnut peel (27.9%)> pomegranate peel (25%)> pistachio peel (17.6%). The activity of the plant extracts which were prepared by pure water was lower than the activity of BHT which was a standard antioxidant. The average absorption activity values of superoxide anion radical were 40.5% ethanol extracts 27.4% in water extracts. The reduction power effect of the ethanol and water extracts of the plants were recorded lower than the reduction power effect of the standard antioxidant, BHT. The antimicrobial effects of the samples against *Bacillus brevis*, *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* were determined by disc diffusion method. The inhibition zones that the plants formed were detected between 7-16 mm.

**Key words:** Food Wastes, Antimicrobial Effect, Total Phenolic Content, Antioxidant Activity.

\*Bu eser Fatma Betül Zoral'ın yüksek lisans çalışmasından alınmıştır.  
Sorumlu Yazar: Turgay, Ö., ozlem@ksu.edu.tr

## GİRİŞ

Bitkisel kökenli bütün gıdalarda farklı miktar ve nitelikte çeşitli fenolik bileşikler bulunmaktadır (Belitz ve Grosch, 1995). Hava ve su kirliliği, hazır yiyecekler, yaşam tarzı, stres gibi etkenler sürekli olarak sağlık üzerine tehdit oluşturmaktadır. Bu etkenler sonucunda normal metabolizma faaliyetlerinin yanı sıra 80 farklı hastalığa neden olabileceği söylenen serbest radikaller oluşur (Eken, 2007).

Serbest radikaller, vücudun normal metabolik faaliyetleri sırasında kullanmış olduğu oksijenin bazı etmenlerin teşviki ile ortaya çıkan süperoksit ( $\bullet\text{O}_2$ ), hidroksil ( $\text{OH}\bullet$ ), peroksil ( $\text{ROO}\bullet$ ), alkoksil ( $\text{RO}\bullet$ ), semiquinon ( $\text{Q}\bullet$ ), nitrik oksit ( $\text{NO}\bullet$ ) kökleri ile hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), peroksinitrit ( $\text{ONOO}\bullet$ ) ve singlet oksijen ( $\bullet\text{O}_2$ ) gibi radikallerdir. Oksidatif stres, normal metabolik faaliyetlerin devam ettirilmesi için gerekli olan aktif oksijen-antioksidan dengesini aktif oksijen lehine bozarak; DNA, protein, karbonhidrat ve lipitleri zarara uğratarak birçok hastalığın oluşmasına neden olmaktadır (Young ve Woodside, 2001).

Gıdalar nem, ısı, ışık, metaller, metal içeren bileşikler ve enzimler ile katalizlenebilmekte böylece oksidasyon sonucu kötü koku ve lezzet gibi istenilmeyen reaksiyon ürünleri oluşmaktadır. Gıdalara uygulanan hazırlama, paketlenme ve soğutma işlemleri reaksiyon sonucu oluşan acılaşmayı geciktirmesine rağmen engelleyememektedir. Antioksidanlar genellikle yükseltgenen maddeler olup, radikal zincir tepkimesini kesintiye uğratarak rol oynamaktadır (Eken, 2007). Antioksidan maddeler sebze ve meyvelerde bol miktarda bulunmaktadır (Tosun ve Yüksel, 2002). Gıdalarda kullanılan antioksidan maddeler, doğal ve yapay olarak sınıflandırılmaktadır. Doğal antioksidan maddeler; tokoferoller, askorbik asit ve tuzları, askorbil palmitat ve askorbil stearat, glikoz oksidaz ve sülfiterlerdir. Sentetik antioksidanlar; eritorbik asit ve sodyum eritorbat, gallatlar, butillendirilmiş hidroksianisol (BHA), butillendirilmiş hidroksitoluen

(BHT), tersiyer butilhidrokinon (TBHQ) ve nordihidroguairatik asit (NDGA)'tir (Eken, 2007).

Meyve atıkları içerisinde üzüm çekirdeği ve kabuğu zengin antosiyanin ve diğer fenolik maddeler (Jayaprakasha ve ark., 2001), elma posası polifenoller ve turunçgil posaları flavanoid ve fenolik asit içerikleri nedeniyle çok önemli antioksidan kaynağıdır. Sözü edilen değerli bileşikler atıklarla birlikte doğrudan kullanılmasının yanı sıra, Süper Kritik Karbondioksit ekstraksiyonu gibi hassas tekniklerle ekstrakt edilmek suretiyle zenginleştirilerek de gıdalara eklenebilirler (Moure ve ark., 2001).

Gıda maddelerinin raf ömrünün uzatılmasında ve depolanmasında; oksidatif bozulmaya karşı ticari antioksidanlar, mikrobiyel bozulmalara karşı antimikrobiyel maddeler gıda katkı maddeleri olarak kullanılmaktadır. Ancak son zamanlarda, bu sentetik antioksidanların ve antimikrobiyellerin yan etkilerinin olduğu tespit edilmiştir (Kehrer ve DiGiovanni, 1990). Antimikrobiyel aktivite analizlerinde çeşitli bitkilerin antimikrobiyel aktiviteleri pek çok kez çalışılmıştır ve ilgi uyandırmaktadır (Erdoğan ve ark., 2001; Erdoğan, 2002; Erdoğan ve ark., 2008). Bu nedenle yeni doğal antioksidanların ve antimikrobiyellerin geliştirilmesi gerekmektedir. Çalışmamızın amacı, Türkiye'de tarımı yapılan ve gıda sanayinde hammadde olarak kullanılan 5 bitki türünün atık oluşturan (kabuk ve yaprak) kısımlarının antimikrobiyel ve antioksidan aktivitelerini belirlemektir.

## MATERYAL ve METOT

Araştırmada kullanılan bitkiler, ait oldukları familyalar, çalışmada kullanılan çeşitleri ve kısımları Tablo 1'de verilmiştir. Antimikrobiyel aktivite çalışmalarında *Bacillus brevis* (FMC 3), *Candida albicans* (ATTC 10194), *Enterococcus faecalis* (ATTC 15753), *Salmonella typhimurium* (ATTC 13311), *Klebsiella pneumoniae* (ATTC 13883), *Escherichia coli* (ATTC 8739) ve *Bacillus subtilis* (ATTC 6633) kullanılmıştır.

Tablo 1. Kullanılan bitkiler, bitkilerin bilimsel adı, kullanılan çeşidi ve kısımları

Bitkiler	Bilimsel adı	Kullanılan çeşidi	Kullanılan kısımları
Antep fıstığı	<i>Pistacia vera</i>	Halebi	Kabuk
Biber	<i>Capsicum annuum</i>	Ilıca-256	Yaprak
Ceviz	<i>Juglans regia</i>	Sütyemez 1	Kabuk, yaprak
Nar	<i>Punica granatum</i>	Devediş (V)	Kabuk
Portakal	<i>Citrus sinensis</i>	Yafa	Kabuk

## Bitkilerin Temini ve Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması

Çalışmamızda kullanılan bitkiler yetiştiği dönemlerde semt pazarlarından temin edilmiştir. Bitkilerin alımında kendine has renk, koku ve şekillerini koruması ve küflü olmamasına dikkat edilmiştir. Laboratuara getirilen örnekler yıkanıp, kurutulurak, yaprak ve kabukları serin ve rutubetsiz ortamda kurumaya bırakılmıştır. Blender ile öğütülerek toz

haline getirilen yaprak ve kabuklardan 20 g tartılıp üzerlerine 400 ml metanol % 99.8 v/v (Merck), etanol % 99.8 v/v (Merck), etil asetat % 99.5 v/v (Merck), kloroform % 99 v/v (Merck), aseton % 99 v/v (Merck) ve saf su) ilave edilmiştir.

Üç tekrar hazırlanan örneklerin karanlıkta ve oda sıcaklığında 4 saat süre ile orbital çalkalayıcıda karıştırılarak (200 rpm, Unimax 1010, Heidolph Instruments, Germany) ekstraktları hazırlanmıştır.

Ekstraktlar, Whatman No:1 (Qualitative, Circles, 125 mm) filtre kağıdından süzülerek katı partiküller ayrılmıştır. Ekstraktların içerisinde kalan çözücü 40°C'de, düşük basınç altında evaporatörde uzaklaştırılmıştır. Ekstraktlar kullanılmaya kadar 4°C'de ışık ve hava almayacak şekilde buzdolabında saklanmıştır.

#### Antimikrobiyel Aktivite Analizleri

Bitki ekstraktlarının antimikrobiyel aktivitelerini belirlemek için Bauer ve ark. (1966)'nın disk difüzyon duyarlılık testi kullanılmıştır. Bitkilerden 1 g alınıp üzerine 20 ml çözücü ilave edilerek (aseton % 99 v/v (Merck), etanol % 99.8 v/v (Merck), kloroform % 99.8 v/v (Merck), metanol %99.8 v/v (Merck), etil asetat, %99.5 v/v (Merck) ekstraktları hazırlanmıştır. Ekstraktların solventleri uçurularak son hacim 10 ml olacak şekilde konsantrasyonları artırılmıştır. Whatman No:1 (Qualitative, Circles, 125 mm Dia) filtre kağıtlarından 6 mm çapındaki diskler hazırlanmış, steril edilmiş, oda sıcaklığında karanlık ortamda kurutulmuştur. Daha sonra ekstraktlardan 30 µl emdirilmiştir.

Yatık agardaki stok kültürden, Nutrient Broth (10 ml, Merck) besiyerine aşılana mikroorganizmalar 37 °C'de 18 saat süreyle inkübe edilmiştir. Süre sonunda Mueller Hinton agar'a (100 mm petri kabında 15 ml, Merck) 1 ml (yaklaşık 10<sup>6</sup> kob mikroorganizma/ml) aktarılmıştır. Besiyeri donduktan sonra diskler steril bir pens yardımıyla besiyeri yüzeyine hassas bir şekilde eşit aralıklarla yerleştirilmiş ve buzdolabında +4°C'de 1,5 saat bekletilmiş, bu işlemden sonra 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Süre bitiminde incelenen petri kaplarında oluşan inhibisyon çapları bir cetvelle ölçülmüş ve mm olarak verilmiştir.

#### Toplam Fenolik Madde Tayini

Altı farklı solventle (aseton, etanol, etil asetat, kloroform, metanol, su) hazırlanan ekstraktlarının Folin-Ciocalteu'nun fenol reaksiyonuna göre toplam fenolik madde içerikleri belirlenmiştir.

Toplam fenolik bileşik belirleme tayini UV Spektrofotometre cihazıyla kolorimetrik olarak Singleton ve ark. (1999)'na göre yapılmıştır. Standart fenolik bileşik olarak gallik asit kullanılmıştır. Önce standart grafik oluşturmak amacıyla beş farklı konsantrasyonlarda hazırlanan gallik asit çözeltilerinden (0,1-0,5 mg/ml) tüplere alınarak hacmi 1 ml'ye saf suyla tamamlanmıştır. Folin-Ciocalteu reaktifi (2,5 ml) ve sodyum karbonat çözeltilisi (7,5 ml, %20'lik, a/h, suda) deney tüpünde karıştırılarak 2 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Metanol, etanol, etil asetat, kloroform, aseton ve saf su kullanılarak hazırlanan örnek çözeltilerinden 0,5 ml tüplere alınarak üzerine yukarıda ifade edilen Folin-Ciocalteu reaktifi ile işlem yapılmıştır. Reaksiyon sonunda örneklerin absorbans değerleri spektrofotometrede 760 nm dalga boyunda

şahide karşı okunmuştur. Örneklerdeki toplam fenolik bileşik miktarı mgGAE/100g olarak verilmiştir.

#### DPPH Serbest Radikalleri Giderme Aktivitesi Tayini

DPPH serbest radikal giderme aktivitesi Blois (1958) metoduna göre yapılmıştır. Serbest radikal olarak DPPH'nin 10<sup>-4</sup>M'lık çözeltisi kullanılmıştır. Grafik oluşturmak amacıyla farklı konsantrasyonlarda hazırlanan (0,1- 0,2 -0,3- 0,4- 0,5- 0,6- 0,7- 0,8- 0,9- 1 µg/ml) DPPH çözeltisinden tüplere alınarak hacmi 3 ml'ye destile etanol ile tamamlanmıştır. Otuz dakika oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübe edildikten sonra etanolden oluşan köre karşı 517 nm'de absorbansları kaydedilmiştir. Bitki ekstraktları 10, 20 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarında hazırlanıp tüplere aktararak, toplam hacimleri 3 ml'ye destile etanol ile tamamlanmıştır. Daha sonra her bir numune tüpüne stok DPPH çözeltisinden 1 ml ilave edilmiştir. Örneklerin absorbansları etanolden oluşan köre karşı 517 nm'de okunmuştur (t=0). Oda sıcaklığında ve karanlıkta 30 dakika inkübe edildikten sonra tekrar etanolden oluşan köre karşı 517 nm'de absorbansları kaydedilmiştir (t=30). Azalan absorbans geriye kalan DPPH çözeltisi miktarını yani serbest radikal giderme aktivitesini vermektedir.

Reaksiyon ortamında geriye kalan DPPH radikali miktarı aşağıda formülü verilen denklemden hesaplanmıştır (R<sup>2</sup>=0,9922).

Absorbans<sub>(517 nm)</sub> = 0,2228 x [DPPH(µg)] - 0,0039  
Standart grafikten elde edilen denklem yardımıyla çözelti hazırlandığında (t=0) ve 30 dakikalık inkübasyon (t=30) sonrasında aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{DPPH}_{\text{kalan}} = \frac{(\text{DPPH})_{t=30}}{(\text{DPPH})_{t=0}} \times 100$$

Kontrol amaçlı kullanılan bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) bir balon jode 0,1 g tartılıp 100 ml metonelle tamamlanmış ve ağzı kapalı olarak 200 rpm manyetik karıştırıcıda 1 saat çalkalanarak hazırlanmış ve karanlık bir ortamda saklanmıştır.

#### Süperoksit Anyon Radikali Giderme Aktivitesi Tayini

Çalışmada kullanılan bitkilerin su ve etanol ekstraktlarının süperoksit anyon radikallerini giderme aktivitesi, nitroblue tetrazolium (NBT) ürünün spektrofotometrik ölçümüyle belirlenmiştir (Zhishen ve ark., 1999). Numune ve standartların konsantrasyonları 15µg/ml olacak şekilde 0,05 M'lık ve pH'sı 7,8 olan fosfat tamponu ile hazırlanmıştır. Numune içeren tampon çözeltiliye riboflavin, metiyonin ve NBT'den 1,33x10<sup>-5</sup> M, 4,46x10<sup>-5</sup> M ve 8,15x10<sup>-8</sup> M konsantrasyonlarına denk gelen miktarları sırasıyla ilave edilmiştir. Oluşan reaksiyon karışımı oda sıcaklığında 40 dakika boyunca 20 W'lık floresan ışığı ile uyarılmıştır. Absorbans, sudan oluşan köre karşı 560 nm'de kaydedilmiştir. Ortamdan giderilen süperoksit

anyon radikalleri aşağıda verilen denklemden yüzde olarak hesaplanmıştır.

$$O_2 \text{ Giderme Aktivitesi (\%)} = \frac{(AKontrol - ANumune)}{ANumune} \times 100$$

AKontrol

Çalışmada kullanılan bitkilerden elde edilen su ve etanol ekstraktlarının süperoksit anyon radikalleri giderme aktiviteleri riboflavin/metiyonin/ışık metoduna göre yapılmıştır. Ortamdan giderilen süperoksit anyon radikalleri aşağıda verilen denklemden yüzde olarak hesaplanmıştır. Formülde verilen AKontrol kontrol numunesinin absorbans değerini, ANumune ise çalışmada kullanılan antioksidan numunelerin varlığındaki absorbans değerini vermektedir (Gülçin ve ark., 2004).

### Toplam İndirgeme Kuvveti Aktivitesi Tayini

Toplam indirgeme kuvveti tayini Oyaizu yöntemine göre yapılmıştır (Yen ve Chen, 1995). Stok çözeltiden 15, 30 ve 45 µg/ml olacak şekilde alınarak deney tüplerine aktarılmış ve hacim destile suyla 1 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra her bir tüpe 2,5 ml 0,2 M fosfat tamponu pH 6,6 ve 2,5 ml %1'lik potasyum ferrisiyanür (K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>) ilave edildikten sonra karışım

50°C'de 20 dakika inkübe edilmiştir. Bu işlemlerden sonra reaksiyon karışımına 2,5 ml %10'luk triklorasetik asit (TCA) ilave edilmiştir. Çözeltinin üst fazından 2,5 ml alınıp üzerine 2,5 ml destile su ve %0,1'lik 0,5 ml demir (III) klorür heksahidrat (FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O) ilave edildikten sonra absorbans 700 nm'de köre karşı okunmuştur. Kör olarak destile su, kontrol için ise numune yerine su kullanılmıştır.

### İstatiksel Analizler

İstatistiksel analizler; faktöriyel tesadüf parselleri deneme planına ve tek yönlü varyans analizine göre yapılmıştır. Aktiviteler arasındaki istatistiksel farklılıkları ortaya koymak için sonuçlara Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Sonuçların istatistiksel olarak önemi p<0,01 düzeyinde değerlendirilmiştir.

### BULGULAR ve TARTIŞMA

Çalışmada kullanılan bitkilerin antimikrobiyel aktivitesi Tablo2' de verilmiştir. Araştırmamızda hazırlanan biber yaprağı ve ceviz kabuğu ekstraktlarının tümü, çalışmada kullanılan hiçbir mikroorganizma türüne karşı antimikrobiyel aktivite göstermemiştir.

Tablo2. Antimikrobiyel aktivite sonuçları

Mikroorganizma	İnhibisyon Zonları ( mm )																																	
	Antep fıstığı kabuğu					Biber yaprağı					Ceviz kabuğu					Ceviz yaprağı					Nar kabuğu					Portakal kabuğu					Kontrol diskleri			
	a	b	c	d	e	a	b	c	d	e	a	b	c	d	e	a	b	c	d	e	a	b	c	d	e	a	b	c	d	e				
<i>Bacillus brevis</i>	1	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	8	1	9	-	-	8	-	-	-	-				
<i>Candida albicans</i>	7	-	-	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8	-	-	9	-	-	-	-	-	-	-	-				
<i>Enterococcus faecalis</i>	9	9	9	9	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8	-	-	-	-	1	9	-	-	-	-	-	-	-				
<i>Salmonella typhimurium</i>	1	9	8	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7	1	-	-	-	-	8	7	-	-	8	-	-	-	-				
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8	8	8	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
<i>Escherichia coli</i>	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	9	1	8	-	-	8	-	-	-	-				
<i>Bacillus subtilis</i>	1	9	8	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8	-	-	-	-	9	-	-	8	7	-	-	-	-				
	0			1	0																													

a: aseton, b: metanol, c: etanol, d: kloroform, e: etil asetat

Yiğit ve ark. (2009)'nın cevizin yeşil kabuk ve yaprağının, metanol ve su ekstraktlarının antimikrobiyel aktivitelerini araştırdığı çalışmasında, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* ve bazı *Candida albicans* ve diğer *Candida* türlerine karşı antimikrobiyel aktiviteleri belirlemiştir. Çalışmamızda Antep fıstığı kabuğu, ceviz yaprağı, nar kabuğu ve portakal kabuğunun 5 farklı çözücü ile hazırlanan ekstraktları, en fazla antimikrobiyel aktiviteyi *B. brevis* üzerinde (8-16 mm arasında) göstermiştir. Ünal (2006)'ın 25 bitki türünün su, etanol, aseton ve kloroform ekstraktlarıyla yapmış olduğu antimikrobiyel aktivite çalışmasında bakteriler arasında ekstraktlara karşı en hassas bakteri türlerinin sırasıyla *Bacillus megaterium*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus subtilis* ve *Staphylococcus aureus* olduklarını tespit etmiştir. Ünal (2006)'ın çalışmasında ve bizim çalışmamızda

bitki ekstraktlarının gram pozitif bakteriler üzerinde daha etkili olduğu bulunmuştur. Bunun nedeni gram negatif bakterilerin hücre duvarının en dışında lipopolisakkarit bir tabakanın olduğu çok tabakalı bir yapıya sahip olmasından kaynaklandığı ileri sürülebilir. Bu yapı, gram negatif bakterilerin daha dirençli olmalarını sağlamaktadır (Erdoğan, 2002; Ouattara ve ark., 1997; Urzua ve ark., 1998; Ali-Shtayeh ve ark., 1998).

Metanol ile hazırlanan bitki ekstraktlarında Antep fıstığı kabuğu, ceviz yaprağı ve nar kabuğu ekstraktlarının test mikroorganizmalarına karşı 8-14 mm arasında değişen inhibisyon zonları oluşturduğu görülmüştür. Portakal kabuğu metanol ekstraktlarında çalışmada kullanılan mikroorganizmalara karşı antimikrobiyel aktivite gözlemlenmemiştir. Bitkilerin etanol ekstraktlarının test mikroorganizmaları

üzerindeki antimikrobiyel aktivitesinde Antep fıstığı kabuğu ve nar kabuğu ekstraktları 7-12 mm arasında değişen oranlarda mikroorganizmalara karşı antimikrobiyel aktivite sergilemiştir.

Çalışmada bitkilerin kloroform ve etil asetat ekstraktları değerlendirildiğinde ceviz yaprağı kloroform ekstraktının *C. albicans* (8 mm), nar kabuğu etil asetat ekstraktının *B. subtilis* (8 mm) üzerinde antimikrobiyel aktivitesi görülmüştür. Antep fıstığı kabuğunun kloroform (8-12 mm arasında) ve etil asetat (9-16 mm arasında) ekstraktlarının, çalışmada kullanılan diğer bitkilerin kloroform ve etil asetat ekstraktlarına göre belirgin bir antimikrobiyel aktivite gösterdiği kaydedilmiştir. Erdoğan (2002)'un *Artemisia absinthium* bitkisinin kloroform ekstraktında yapmış olduğu çalışmada; *B. brevis*'te 8 mm'lik, *E. coli*'de 12 mm'lik inhibisyon zonu belirlemiştir. Çalışmamızda Antep fıstığı kabuğu kloroform ekstraktları *B. brevis*'te 16 mm'lik inhibisyon zonu oluştururken *E. coli*'de oluşturmamıştır. Çalışmada kullanılan farklı bitki ekstraktlarının aynı mikroorganizmaya karşı farklı oranda antimikrobiyel aktivite gösterdiği saptanmıştır.

Araştırmamızda bitkilerin, *C. albicans* üzerinde zayıf antimikrobiyel aktivite gösterdiği saptanmıştır. Yapılan çalışmalar bitkisel ekstraktlarının antifungal özelliklerinin antibakteriyel özelliklerine kıyasla daha zayıf olduğunu göstermektedir (Ali-Shtayeh ve ark., 1998; Ünal, 2006). Bunun durum ökaryotik hücre membranındaki sterollerden kaynaklandığı ileri sürülebilir. Antimikrobiyel ajanlar ökaryotik mantar hücrelerini inhibe etmek için hücre membranındaki sterollere bağlanmak zorundayken, böyle bir bağlanma sterol taşımayan prokaryotik bakteri hücreleri için gerekli değildir (Kara, 2002).

Çalışmamızda farklı ekstraktlardan elde edilen toplam fenolik madde miktarına ait sonuçlar Tablo 3'te verilmiştir. Buna göre farklı ekstraktlardan elde edilen toplam fenolik madde miktarı nar kabuğunda 474,1-2054,4 mgGAE/100g, portakal kabuğunda 441,3-743 mgGAE/100g, biber yaprağında 530,9-1180,1 mgGAE/100g arasında bulunmuştur. El (2008)'in yaptığı çalışmada toplam fenolik madde miktarı narda  $2046 \pm 853$  mg/kg, portakalda  $692 \pm 19$  mg/kg, tatlı yeşilbiberde  $1302 \pm 348$  mg/kg bulmuştur. Çalışmamızda bulunan toplam fenol miktarlarının, El (2008)'in yapmış olduğu çalışmalardan daha yüksek miktarlarda bulunması fenolik maddelerin bitkilerin kabuk ve yaprak kısımlarında daha yoğun olmasından kaynaklanabilir.

Antep fıstığı kabuğu ekstraktlarının toplam fenol miktarları 511,3-2478,5 mgGAE/100g arasında, kavrulmuş 5 farklı Antep fıstığının incelendiği bir çalışmada ise toplam fenolik madde miktarları 361,2-1006,7 mgGAE/100g arasında bulunmuştur (Oğuz, 2008). Oğuz (2008) 'un yapmış olduğu çalışmada Antep fıstığının toplam fenol miktarlarının çalışmamıza oranla düşük olması kavurma esnasında fenolik maddelerde oluşan kayıptan kaynaklanabilir.

Faktöriyel tesadüf parselleri deneme planına göre yapılan varyans analizi sonuçlarına göre toplam fenol miktarları bakımından bitki, solvent ve bitki-solvent interaksyon etkisi istatistiksel olarak çok önemli bulunmuştur ( $p < 0,01$ ). Toplam fenolik madde içerikleri, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre değerlendirildiğinde bitki bakımından dört farklı ortalama grubu oluşmuştur. En yüksek ortalama grubu Antep Fıstığı ve nar kabuğunda, en düşük ortalama grubu ise ceviz kabuğu ve portakal kabuğunda gözlemlenmiştir. Solvent bakımından üç farklı ortalama grubu oluşmuştur. En yüksek ortalama grubunu metanol ve saf su, en düşük ortalama grubunu ise etil asetat, kloroform ve aseton oluşturmuştur. İnteraksyon ortalamaları karşılaştırıldığında en yüksek ortalamanın Antep Fıstığı kabuğunda ve saf suda, en düşük ortalamasının ise portakal kabuğunda ve etil asetatta olduğu görülmektedir.

Bitkilerin antioksidan aktivitelerinin belirlenebilmesi için etanol ve su ile hazırlanan ekstraktlarının DPPH serbest radikallerini giderme aktivitesi, riboflavin-metiyonin-ışık sisteminde üretilen süperoksit anyon radikallerini giderme aktivitesi ve  $Fe^{+3}-Fe^{+2}$  transformasyonu metoduna göre toplam indirgeme kuvveti aktivitesi farklı konsantrasyonlarda incelenmiştir. Antioksidan aktivitenin belirlenmesinde, bitkilerin su ve etanol ile hazırlanan ekstraktları üzerinden çalışmalar yürütülmüştür.

Çalışmada kullanılan bitki konsantrasyonu arttıkça giderilen DPPH serbest radikali miktarında da orantılı olarak bir artış gözlenmiştir. Bitkilerin etanol ekstraktlarının 30 µg/ml bitki konsantrasyonunda kalan % DPPH sıralaması ceviz yaprağı (%66,1)> biber yaprağı (%38,2)> portakal kabuğu (%32)> BHT (%29)> ceviz kabuğu (%28)> nar kabuğu (%25)> Antep fıstığı kabuğu (%17,6) şeklindedir.

Su ile hazırlanan bitki ekstraktlarında 30 µg/ml'lik konsantrasyonunun kalan % DPPH sıralaması ise ceviz kabuğu (%88,9)> biber yaprağı (%86,8)> Antep fıstığı kabuğu (%83,4)> nar kabuğu (%62,7)> portakal kabuğu (%57,2)> ceviz yaprağı (%55,5)> BHT (%29) şeklindedir. Su ekstraktlarının DPPH giderme aktiviteleri standart antioksidan BHT kadar etkin değildir.

Singh ve ark. (2002)'ı nar kabuğu metanol ekstraktının DPPH radikallerini giderme aktivitesini %81 olarak rapor etmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise nar kabuğu etanol ekstraktlarının DPPH radikallerini giderme aktivitesi %75,1 olarak tespit edilmiştir.

Çalışmamızda nar kabuğu etanol ekstraktının DPPH radikallerini giderme aktivitesinin daha düşük olması; kullandığımız nar çeşidinin kabuğu veya kullanılan çözücüden (etanol) dolayı olabilir.

Süperoksit anyon radikalleri giderme aktivitesi, antioksidan aktivite kapsamında incelenmiştir. Bu metotta süperoksit anyon radikalleri riboflavin/metiyonin/ışık sisteminde çözünen oksijenden elde edilmiştir. Elde edilen süperoksit anyon

radikalleri NBT'yi NBT<sup>+2</sup>'ye yükseltir. Azalan absorbans süperoksit radikallerinin giderildiğinin göstergesidir. Süperoksit anyon radikalleri lipit peroksidasyonunu direkt başlatan oksijen merkezli radikallerdir. Bu radikaller biyolojik makro moleküller ile direkt etkileşip doku hasarlarına sebep olan reaktif radikallerden biridir (Halliwell ve Gutteridge, 1984).

Bitki ekstraktlarının 15 µg/ml konsantrasyonundaki etanol ve su ekstraktlarının süperoksit anyon radikallerini giderme yüzdeleri Şekil 1 ve Şekil 2'de gösterilmiştir.

Etanol ekstraktlarının göstermiş olduğu süperoksit anyon radikallerini giderme yüzdeleri nar kabuğu (%58,3)> Antep fıstığı kabuğu (%57,1)> BHT (%49)> portakal kabuğu (%39,3)> ceviz kabuğu (%37,2)> biber yaprağı (%25,8)> ceviz yaprağı (%25) sıralamasında kaydedilmiştir.

Su ekstraktlarının göstermiş olduğu süperoksit anyon radikallerini giderme yüzdeleri biber yaprağı (%74,7)> BHT (%49,2)> nar kabuğu (%33,3)> portakal kabuğu (%27,8)> Antep fıstığı kabuğu (%13)> ceviz kabuğu (%7,7)> ceviz yaprağı (%7,7) olarak bulunmuştur. Su ekstraktlarında yalnızca biber yaprağı (%74,7) ekstraktlarının giderme yüzdesi standart antioksidan BHT (%49)'nin üzerinde antioksidan aktivite göstermiştir. Ancak diğer su ekstraktlarının süperoksit radikalini giderme kapasitesinin BHA kadar iyi olmadığı görülmüştür (Şekil 1 ve 2).

Ak (2006)'ın antioksidan ve antiradikal özellikleri kanıtlanmış Curcumin'in etanol ekstraktları üzerinde yapmış olduğu çalışmasında süperoksit radikali giderme yüzdesini %47,7 olarak tespit etmiştir. Çalışmamızda süperoksit anyon radikali giderme yüzdeleri nar kabuğu etanol (%58,3), Antep fıstığı kabuğu etanol (%57,1) ve biber yaprağı su (%74,7) ekstraktlarında Curcumin'den daha etkin bir antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir. Nar kabuğu, Antep fıstığı kabuğu ve biber yaprağı süperoksit anyon radikalini giderme açısından etkin bir antioksidan kaynağıdır.

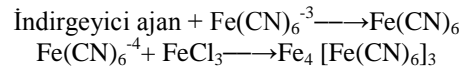
Yapılan tek yönlü varyans analizi sonuçlarına göre süperoksit anyon radikallerini giderme bakımından bitkiler arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,01).

Tukey çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre süper süperoksit anyon radikallerini giderme bakımından dört farklı ortalama grubu oluşmuştur. En yüksek ortalama grubunu Antep Fıstığı kabuğu ve nar

kabuğu, en düşük ortalama grubunu ise biber yaprağı, ceviz kabuğu ve ceviz yaprağı oluşturmuştur.

İndirgeme kapasitesi tayininde bitki ekstraktlarının Fe<sup>+3</sup>'ü Fe<sup>+2</sup>'ye dönüştürebilmesi incelenmiştir. Biyoaktif bileşiklerin indirgeme kapasitesi onun elektron transfer edebilmesiyle ilişkilidir ve potansiyel antioksidan aktivitesinin önemli bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (İşbilir, 2008).

Antioksidanlar indirgeyici olabilir ve bir maddenin başka bir maddeyi yükseltgeyerek indirgenmesi reaksiyonu olarak tanımlanan redoks reaksiyonlarında, redüktantlarla oksidanların stabilizasyonu şeklinde olabilmektedir. Bir bileşiğin ya da ham ekstraktın indirgeme kapasitesi Fe[(CN)<sub>6</sub>]<sup>+3</sup>'nin Fe[(CN)<sub>6</sub>]<sup>+2</sup>'ye indirgenmesiyle ölçülebilmektedir. İndirgenmiş ürüne Fe<sup>+3</sup>'ün ilavesi, 700 nm'de güçlü absorbansa sahip olan Prussian mavisi renginde bir kompleks olan Fe<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] oluşumuna yol açmaktadır. Absorbansdaki artış, kompleksin oluşumundan kaynaklanan artışı ve dolayısıyla artan indirgeme kapasitesini göstermektedir.



Bir bileşiğin indirgeme kapasitesi, potansiyel antioksidan aktivitesinin önemli bir göstergesidir (Köksal, 2007). Bu analizde test çözeltilerinin rengi, antioksidan örneklerin indirgeme kapasitesine bağlı olarak farklı yeşil ve mavi tonlarına dönüşmüştür.

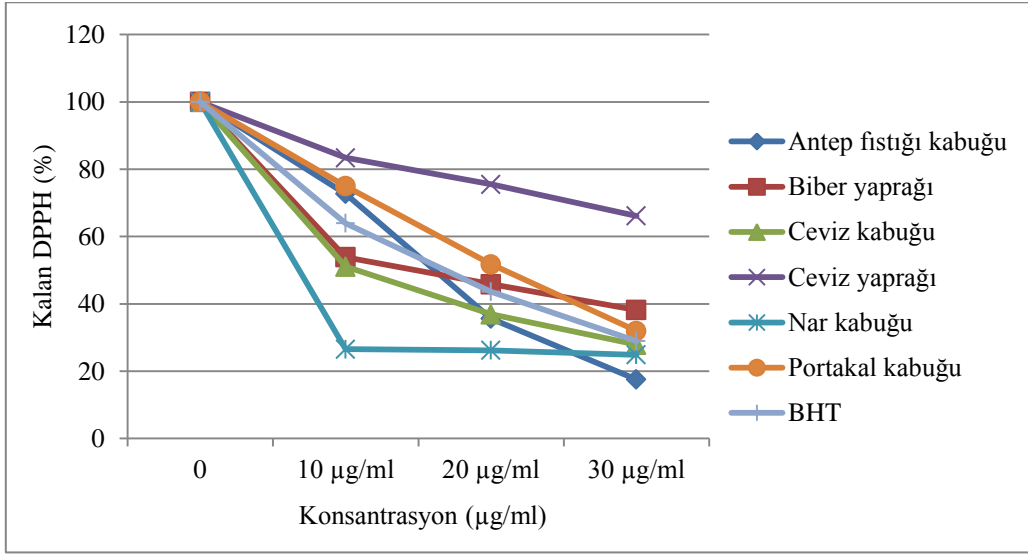
Çalışmada 15-30 ve 45 µg/ml konsantrasyonlarda, etanol ve su ile hazırlanan ekstraktlarının indirgeme kapasitesi metot için kullanılan standarttan (BHT) daha düşük indirgeme kapasitesi sergilemiştir.

İşbilir (2008)'in tere, roka, kuzukulağı, gelincik ve dereotu bitkileri üzerinde su, etanol ve aseton çözücülerıyla yapmış olduğu çalışmada ekstraktlar, standart antioksidan olarak kullanılan C vitamini, BHT, BHA ve α-tokoferol'ün altında indirgeme kapasitesi göstermiştir. Bu açıdan çalışmamızla benzerlik göstermektedir.

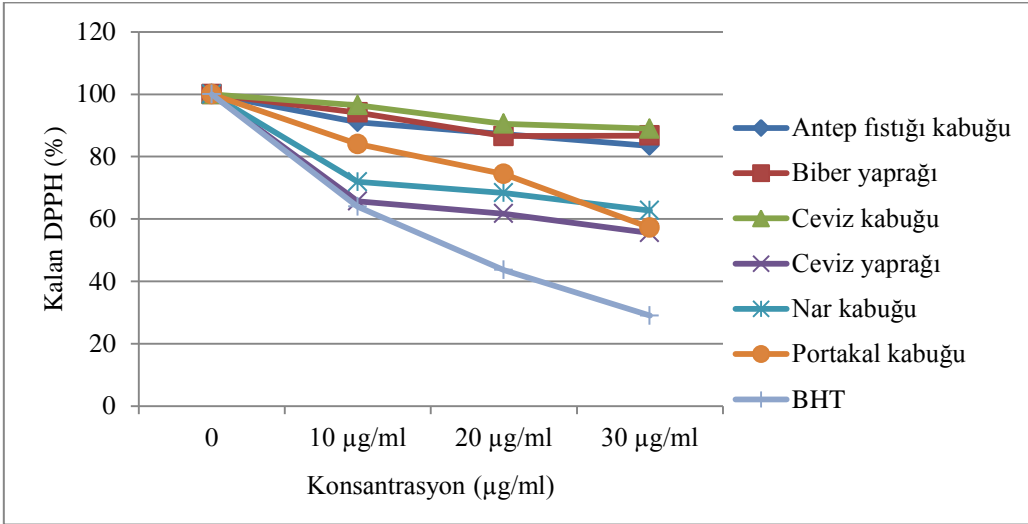
Bitki ekstraktlarının indirgeme kuvveti, etanol ile hazırlanan ekstraktlarda su ile hazırlanan ekstraktlara göre daha yüksektir. Nar kabuğu ile hazırlanan ekstraktlar standart antioksidana en yakın indirgeme kapasitesi göstermiştir. Bu bulgular gösteriyor ki ekstraktların hepsinin Fe<sup>+3</sup>'ü indirgeyebildiği gözlenmiştir ancak antioksidan mekanizması indirgeme kapasitesi üzerinde standart antioksidan kadar etkin değildir (Şekil 3).

Tablo 3. Bitki ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları

Bitki	Çözücü	Konsantrasyon (mg <sub>GAE</sub> /100g)
Antep fıstığı kabuğu	Aseton	727,7
	Etanol	1140,8
	Etilasetat	644,6
	Kloroform	511,3
	Metanol	1514,5
	Saf su	2478,5
Biber yaprağı	Aseton	727,7
	Etanol	887,2
	Etilasetat	530,9
	Kloroform	611,8
	Metanol	1180,1
	Saf su	1125,5
Ceviz kabuğu	Aseton	607,4
	Etanol	618,4
	Etilasetat	570,3
	Kloroform	544
	Metanol	664,3
	Saf su	904,7
Ceviz yaprağı	Aseton	799,8
	Etanol	1145,1
	Etilasetat	635,8
	Kloroform	655,5
	Metanol	1650
	Saf su	1064,3
Nar kabuğu	Aseton	705,8
	Etanol	1444,6
	Etilasetat	474,1
	Kloroform	474,1
	Metanol	1765,9
	Saf su	2054,4
Portakal kabuğu	Aseton	520
	Etanol	467,5
	Etilasetat	441,3
	Kloroform	743
	Metanol	500,3
	Saf su	688,3

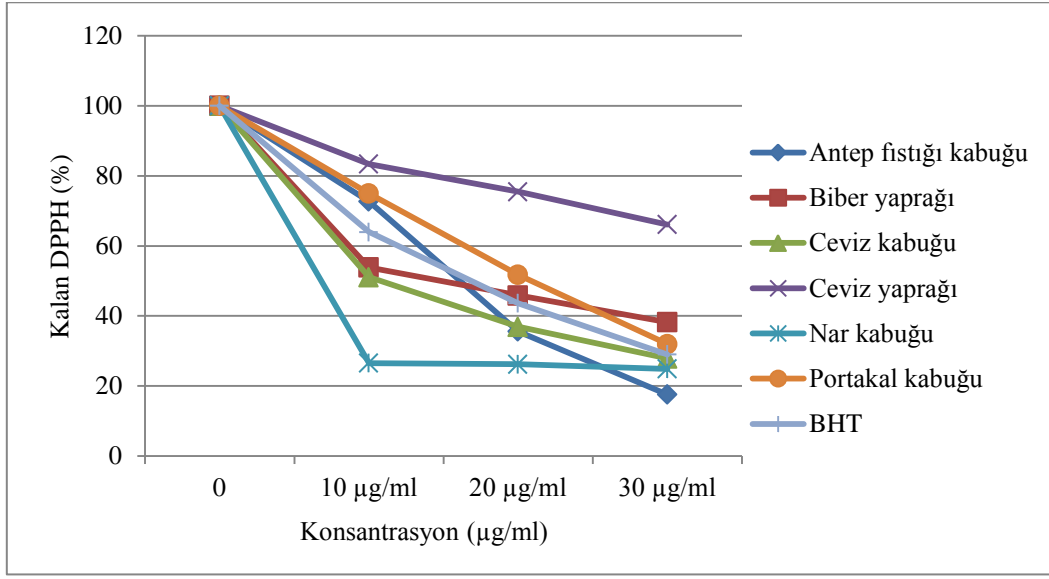


Şekil 1. Bitkilerin etanol ekstraktlarının ve standart antioksidan olan BHT'nin farklı konsantrasyonlarının (10–30 µg/ml) DPPH radikali üzerindeki serbest radikal süpürücü aktiviteleri



Şekil 2. Bitkilerin su ekstraktlarının ve standart antioksidan olan BHT'nin farklı konsantrasyonlarının (10–30 µg/ml) DPPH radikali üzerindeki serbest radikal süpürücü aktiviteleri





Şekil 3. Bitkilerin etanol ekstraktlarının ve standart antioksidan olan BHT'nin farklı konsantrasyonlarının (10-30 µg/ml) DPPH radikali üzerindeki serbest radikal süpürücü aktiviteleri

### SONUÇ

Çalışmamızda kullandığımız bitkilerin antimikrobiyel aktivitelerinde çözücülerin bitki ekstraktları üzerindeki aktiviteleri değerlendirildiğinde bütün bitkiler için geçerli olabilecek bir tek çözücü olduğunu söyleyemeyiz. Bu değerlendirmeden yola çıkarak mikroorganizma türlerine karşı belli bir bitki ekstraktının veya çözücünün antimikrobiyel etkinliğinden bahsetmek güçtür.

DPPH radikalini giderme bakımından ceviz yaprağı (%66,1), biber yaprağı (%38,2) ve portakal kabuğu (%32) etanol ekstraktları standart antioksidan BHT (%29)'den daha etkili iken, bitkilerin su ekstraktlarının hiçbiri BHT'den daha yüksek bir aktivite gösterememiştir.

Araştırmada kullanılan Antep fıstığı kabuğu (%57,1) ve nar kabuğu (%58,3) etanol ekstraktlarının, biber yaprağı su ekstraktının süperoksit anyon radikali giderme aktiviteleri standart antioksidan olan BHT (%49)'ye alternatif olarak kullanılabilir düzeydedir.

Genel bir değerlendirme yapıldığında çalışmada kullanılan bitkiler yüksek miktarlarda fenolik madde içermektedir. Bitkiler içerisinde özellikle Antep fıstığı kabuğunun; antimikrobiyel aktivitesinin diğer bitkilere kıyasla daha fazla olmasından ve etanol ekstraktının DPPH ve süperoksit anyon radikallerini giderme aktivitesinden yüksek olmasından doğal antimikrobiyel ve antioksidan kaynağı olarak kullanılabilir.

Günümüzde insanların devamlı toksik aktiviteye sahip maddelere maruz kalması, beslenmeye bağlı kalp ve damar rahatsızlıkları, kanser gibi hastalıkların artması, yeterli ve kaliteli gıdaya ulaşamaması kaliteli beslenmenin önemini daha da arttırmaktadır. Besin değeri yüksek ve raf ömrü uzun gıdalar üretme çabası; üretilen gıdalar ve kullanılan ingredientlerin kalitesi üzerindeki önemi de arttırmıştır. Sentetik antioksidan ve

antimikrobiyellerin vücutta oluşturdukları tahribattan dolayı sentetik maddelerin yerini alabilecek doğal koruyucu arayışları hızla sürmektedir. Bu tip çalışmalarla yüksek antioksidan ve antimikrobiyel aktiviteye sahip bitki ekstraktları belirlenerek, bunların gıda sistemlerindeki koruyucu etkilerinin incelenmesi ile çalışmaların endüstriyel uygulamaya yönelik devamlılığının sağlanması gerekmektedir.

### TEŞEKKÜR

Çalışma 2011/3-36 YLS kodu ile KSÜ Araştırma Fonu Projesi tarafından desteklenmiştir.

### KAYNAKLAR

- Ak, T., 2006. Curcumin'in Antioksidan ve Antiradikal Özelliklerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Erzurum, 86s.
- Ali-Shtayah, M.S., Yagmour, R.M.R., Faidi, Y.R., Salem, K., Al-Nuri, M.A. 1998. Antimicrobial Activity of 20 Plants Used in Folkloric Medicine in the Palestinian Area. Journal of Ethnopharmacology, 60(3):265-271.
- Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C., Turck, M. 1966. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. American Journal of Clinical Pathology, 45(4):493-496.
- Belitz, H.D., Grosch, W. 1995. Food Chemistry. Springer Verlag. Heidelberg, 992s.
- Blois, M.S. 1958. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. Nature, 181:1199-1200.
- Eken, S. 2007. Bazı Materyallerde Antioksidan Tayinleri. Yüksek Lisans Tezi. Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. İstanbul. 94s.

- El, S.N. 2008. Türkiye’de Sıklıkla Tüketilen Bazı Gıdaların Toplam Fenolik Madde İçerikleri ve Antioksidan Aktiviteleri. 10. Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs. Erzurum. s.45-48.
- Erdoğan, Ö., Çiftçi E., Bozdoğan, H., Toroğlu, S. 2008. Antimicrobial Activity of Black Cumin Seed (*Nigella sativa* L.). Asian Journal of Chemistry, 21(1):467-470.
- Erdoğan, Ö.T. 2002. Antibacterial Activities of Some Plant Extracts Used in Folk Medicine, Pharmaceutical Biology, 40(4):269-273.
- Erdoğan, Ö.T., Çakıroğlu, E., Karaman, S. 2001. Antibacterial Activities of *Helichrysum plicatum* subsp. *plicatum* Extracts. The Sciences, 1(3):176-178.
- Gülçin, İ., Mshvildadze, V., Gepdiremen, A., Elias, R. 2004. Antioxidant Activity of Saponins Isolated From Ivy: A-Hederin, Hederasaponin-C, Hederacolchiside-E and Hederacolchiside-F. Planta Medica, 70:561-563.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. 1984. Oxygen Toxicity, Oxygen Radicals, Transition Metals and Disease. Biochemical Journal, 219:1.
- İşbilir, Ş.S. 2008. Yaprakları Salata-Baharat Olarak Tüketilen Bazı Bitkilerin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi. Doktora Tezi. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Edirne. 117s.
- Jayaprakasha, G.K., Singh, R.P., Sakariah, K.K. 2001. Antioxidant Activity of Grape Seed (*Vitis vinifera*) Extracts on Peroxidation Models in vitro. Food Chemistry, 73:285-290.
- Kara, A.A. 2002. Bazı Şifalı Bitkilerin *Helicobacter pylori*’nin in vitro Üremesi Üzerine Aktiviteleri ve Antioksidan Özellikleri. Doktora Tezi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum. 76s.
- Kehrer, J.P., DiGiovanni, J. 1990. Comparison of Lung Injury Induced in 4 Strains of Mice by Butylated Hydroxytoluene. Toxicology Letters, 52(1):55-61.
- Moure, A., Cruz, J.M., Franco, D., Dominguez, J.M., Sineiro, J., Dominguez, H., Nunez, M.J., Parajo, J.C. 2001. Natural Antioxidants from Residual Sources. Food Chemistry, 72:145-171.
- Oğuz, A. 2008. Bazı Çerez Gıdaların Antioksidan Kapasiteleri. Yüksek Lisans Tezi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bil. Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. Tokat. 60s.
- Ouattara, B., Simard, R.E., Holley, R.A., Piette, G.J.P., Begin, A. 1997. Antibacterial Activity of Selected Fatty Acids and Essential Oils Against Six Meat Spoilage Organisms. International Journal of Food Microbiology, 37(2-3):155-162.
- Singh, R.P., Murthy, K.N., Jayaprakasha, G.K. 2002. Studies on the Antioxidant Activities of Pomegranate (*Punica granatum*) Peel and Seed Extracts Using in Vitro Models. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50:81-86.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M. 1999. Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. Methods in Enzymology, 299:152-178.
- Tosun, İ., Yüksel S. 2002. Üzümsü Meyvelerin Antioksidan Kapasitesi. Gıda Mühendisliği Dergisi, 6:40-46.
- Urzua, A., Caroli, M., Vasquez, L., Mendoza, L., Wilkens, M., Tojo, E. 1998. Antimicrobial Study of the Resinous Exudate and of Diterpenoids Isolated from *Eupatorium salvia* (Asteraceae). Journal of Ethnopharmacology, 62(3):251-254.
- Ünal, L.E. 2006. Türkiye Florasında Doğal Olarak Yetişen Bazı Bitki Türlerinin Antimikrobial ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Erzurum. 106s.
- Yen, G.C., Chen, H.Y. 1995. Antioxidant Activity of various Tea Extracts in Relation to Their Antimutagenicity. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 43:27-32.
- Yiğit, D., Yiğit, N., Aktaş, E., Özgen, U. 2009. Ceviz (*Juglans regia* L.)’in Antimikrobiyel Aktivitesi. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 39(1-2):7-11.
- Young, I.S., Woodside, J.V. 2001. Antioxidants in Health and Disease. Journal of Clinical Pathology, 54:176-186.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. 1999. The Determination of Flavonoid Contents on Mulberry and their Scavenging Effects on Superoxide Radical. Food Chemistry, 64:555-559.