T.C.
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

STERİLİZASYON YÖNTEMLERİNİN BAHARATLARIN ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİ VE RENK ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Yüksek Lisans Tezi

SİBEL ORMAN

Ana Bilim Dalı : Gıda Mühendisliği
Bilim Dalı : Gıda Bilimleri

Manisa, 2005

T.C.
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

STERİLİZASYON YÖNTEMLERİNİN BAHARATLARIN ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİ VE RENK ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Yüksek Lisans Tezi

SİBEL ORMAN

Ana Bilim Dalı : Gıda Mühendisliği
Bilim Dalı : Gıda Bilimleri

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 09.09.2005
Tezin Savunulduğu Tarih: 23.09.2005

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Neriman BAĞDATLIOĞLU (CBÜ)
Diğer Jüri Üyeleri: Prof. Dr. Yaşar HIŞIL (Ege Üniversitesi)
Prof. Dr. Cevdet NERGİZ (CBÜ)

ÖZET

STERİLİZASYON YÖNTEMLERİNİN BAHARATLARIN ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİ VE RENK ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

ORMAN, Sibel
Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Bölümü
Tez Yöneticisi: Doç Dr. Neriman BAĞDATLIOĞLU
Eylül, 2005, 70 Sayfa

Bu çalışmada, çeşitli sterilizasyon işlemlerinin adaçayı, kekik ve fesleğenin antioksidan aktiviteleri üzerine etkilerini araştırmak üzere baharat örneklerine; buharla, gama ışınlarıyla ve etilen oksitle sterilizasyon işlemleri uygulanmıştır. Örneklerde antioksidan aktiviteyi belirlemeye yönelik olarak, baharatların metanolik ekstraktlarında toplam fenolik madde, $DPPH^{\bullet}$ giderme etkisi, H_2O_2 giderme etkisi, Fe^{+2} ile şelat yapma aktivitesi, indirgeme gücü analizleri yapılmıştır. Bunların yanı sıra örnekleri karakterize etmek üzere nem içeriği, toplam canlı sayımı ve renk analizleri de (L, a, b) gerçekleştirilmiştir. Sterilizasyon yöntemlerinin baharatların antioksidan aktiviteleri üzerine olan etkileri, SAS istatistik programı kullanılarak değerlendirilmiştir.

Çalışmanın sonuçlarına göre, antioksidan aktivitede en az kayıp oluşan yöntemin buharla sterilizasyon yöntemi olduğu ve gama ışınlarıyla sterilizasyon yöntemi ile aralarında önemli bir fark olmadığı görülmüştür. Antioksidan aktiviteyi en fazla etkileyen yöntemin ise etilen oksitle sterilizasyon yöntemi olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Buhar sterilizasyonu, ışınlama, etilen oksit, adaçayı, kekik, fesleğen, antioksidan aktivite.

ABSTRACT

DETERMINATION OF THE EFFECTS OF DIFFERENT PROCESSES ON THE ANTIOXIDANT ACTIVITIES AND COLOUR OF SOME SPICES

ORMAN, Sibel
MSc in Food Engineering
Supervisor: Doç. Dr. Neriman BAĞDATLIOĞLU
September, 2005, 70 pages

The aim of this work is to study the effect of sterilization process on the antioxidant activity of oregano, sage and basil which were sterilized by steam, irradiation and ethylene dioxide. In order to find out the antioxidant activity the following analyses were carried out in methanolic extracts of samples: total phenolic compunds, $DPPH^{\bullet}$ scavenging activities, scavenging of H_2O_2, chelating activities by Fe^{+2} and reducing power. Additionaly, moisture content, total viable count, and colour values (L, a, b) were analysed to characterize the samples. The effects of sterilization techniques on antioxidant activities of sage, oregano and basil were evaluated by SAS Statistical Programme.

According to the results, steam sterilization method caused minimum loss of antioxidant activity and the difference between steam sterilization and gamma irradiation was not significant. It was found that the spices samples sterilized by ethylene oxide have got the lowest antioxidant activity.

Key Words: Steam sterilization, gamma irradiation, ethylene oxide, sage, oregano, basil, antioxidant activiy.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde bana yol gösteren ve değerli önerileri ile bana destek veren Sayın Hocam Doç. Dr. Neriman BAĞDATLIOĞLU'na,

İstatistiksel analiz için bana değerli vaktini ayıran Sayın Hocam Dr. Ersel OBUZ'a,

Baharat örneklerinin teminini ve sterilize edilmesini sağlayan SAFE-SPİCE KÜTAŞ İthalat İhracat San. ve Tic. Ltd. Şti'ye,

Tez çalışmam sırasında bana verdikleri destek, özveri ve gösterdikleri sabır için değerli AİLEME

Teşekkür ediyorum.

Sibel ORMAN

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....i
ABSTRACT.....ii
TEŞEKKÜR.....iii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....vi
ÇİZELGELER DİZİNİ..... vii
KISALTMALAR DİZİNİ.....viii
1. GİRİŞ.....1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....2
2.1. Kekik.....3
2.2. Adaçayı.....5
2.3. Fesleğen.....7
2.4. Baharatların Sterilizasyonu.....9
2.4.1. Termal İnaktivasyon.....10
2.4.2. Fumigasyon..... 12
2.4.3. Işınlama (Soğuk Pastörizasyon).....13
2.5. Oksidasyon ve Reaktif Oksijen Türleri.....16
2.6. Antioksidanlar ve Antioksidan Aktivite.....19
2.6.1. Antioksidanların Etki Mekanizması.....20
2.6.2. Baharatların Antioksidan Aktivitesi.....21
2.6.3. Antioksidanların İnsan Sağlığına Etkileri.....23
2.6.4. Antioksidan Aktivitenin Saptanması.....25
2.6.4.1. DPPH$^{\bullet}$ Radikalini Giderme.....26
2.6.4.2. Şelat Yapma.....26
2.6.4.3. TRAP Yöntemi.....26
2.6.4.4. Süperoksit Anyon Gidericiler.....27
2.6.4.5. TEAC Yöntemi.....27
2.6.4.6. ORAC Yöntemi.....27
2.6.4.7. FRAP Yöntemi.....28
3. MATERYAL VE METOT
3.1. Materyal.....29
3.2. Kullanılan Kimyasallar.....30
3.3. Metot.....30
3.3.1. Nem Tayini.....30
3.3.2. Toplam Canlı Sayımı.....31

3.3.3. Örnek Ekstraktlarının Hazırlanması.....32
3.3.4. Toplam Fenolik Madde.....32
3.3.5. Serbest Radikal Giderme Etkisinin Saptanması.....32
3.3.6. Fe^{+2} İle Şelat Yapma Aktivitesinin Saptanması.....33
3.3.7. H_2O_2 Giderme Etkisinin Saptanması.....33
3.3.8. İndirgeme Gücü.....34
3.3.9. Renk Analizi.....34
3.3.10. İstatistiksel Analiz.....34
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA
4.1. Nem Tayini.....35
4.2. Toplam Canlı Sayımı.....36
4.3. Toplam Fenolik Madde.....37
4.4. Serbest Radikal Giderme Etkisinin Saptanması.....39
4.5. Fe^{+2} İle Şelat Yapma Aktivitesinin Saptanması.....41
4.6. H_2O_2 Giderme Etkisinin Saptanması.....45
4.7. İndirgeme Gücü.....48
4.8. Renk Analizi.....52
4.9. Korelasyon Analizi.....56
5. SONUÇ.....58
6. KAYNAKLAR DİZİNİ.....60
7. ÖZGEÇMİŞ.....70

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Kekikten izole edilen bazı antioksidatif bileşiklerin yapıları…….....4

Şekil 2.2 Adaçayından izole edilen bazı antioksidatif bileşiklerin yapıları…….....6

Şekil 2.3 Fesleğenden izole edilen bazı antioksidatif bileşiklerin yapıları…….....8

Şekil 4.1 Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş kekiklerin şelat aktiviteleri.....42

Şekil 4.2 Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş adaçaylarının şelat aktiviteleri.....43

Şekil 4.3 Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş fesleğenlerin şelat aktiviteleri.....43

Şekil 4.4 Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş kekiklerin H_2O_2 Giderme Etkisi.....46

Şekil 4.5 Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş adaçaylarının H_2O_2 Giderme Etkisi.....46

Şekil 4.6 Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş fesleğenlerin H_2O_2 Giderme Etkisi.....47

Şekil 4.7 Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş kekiklerin İndirgeme Gücü değerlerinin değişimi.....50

Şekil 4.8 Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş adaçaylarının İndirgeme Gücü değerlerinin değişimi.....50

Şekil 4.9 Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş fesleğenlerin İndirgeme Gücü değerlerinin değişimi.....50

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Kekiğin kompozisyonu (100 g) ……..……..4
Çizelge 2.2 Adaçayının kompozisyonu (100 g.) ……..……7
Çizelge 2.3 Fesleğenin kompozisyonu (100 g.)……..……...9
Çizelge 2.4. Baharatlardaki mikrobiyal kontaminasyon ……..……10
Çizelge 2.5 İyonize radyasyonun yaklaşık öldürücü dozu ……..……..15
Çizelge 2.6 Reaktif oksijen türleri (ROT) ……..……18
Çizelge 4.1 Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş baharat örneklerinin nem içerikleri.....35
Çizelge 4.2 Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş baharatların toplam canlı sayısı.....36
Çizelge 4.3 Baharatların Toplam Fenolik Madde Değerleri.....37
Çizelge 4.4 Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş baharatların Toplam Fenolik Madde değerleri.....38
Çizelge 4.5 Baharatların DPPH$^{\bullet}$ Giderme Aktiviteleri.....40
Çizelge 4.6 Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş baharatların DPPH$^{\bullet}$ Giderme Aktivitesi.....40
Çizelge 4.7 Baharatların Şelat Yapma Aktiviteleri.....42
Çizelge 4.8 Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş baharatların Şelat Yapma Aktiviteleri.....44
Çizelge 4.9 Baharatların H_2O_2 Giderme Etkisi.....45
Çizelge 4.10 Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş baharatların H_2O_2 Giderme Etkisi.....48
Çizelge 4.11 Baharatların İndirgeme Gücü Değerleri.....49
Çizelge 4.12 Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş baharat örneklerinin İndirgeme Gücü değerleri.....51
Çizelge 4.13 Baharatların L, a, b Değerleri.....52
Çizelge 4.14 Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş baharatların ortalama L değerleri.....53
Çizelge 4.15 Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş baharatların ortalama a değerleri.....54
Çizelge 4.16 Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş baharatların b değerleri.....55

KISALTMALAR DİZİNİ

KISALTMALAR	AÇIKLAMA
BHA	Bütillendirilmiş hidroksianisol
BHT	Bütillendirilmiş hidroksitoluen
TBHQ	Tersiyer Bütillenmiş Hidroksiquinone
ICMSF	Uluslararası Mikrobiyolojik Spesifikasyonlar Komisyonu
FDA	Food and Drug Administration (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi)
ISO	Uluslarası Standard Organizasyonu
LPSS	Low Pressure Superheated Steam-Düşük Basınçta Süper Isıtılmış Buhar
Co^{60}	Kobalt 60
Cs^{137}	Sezyum 137
MeV	Milyon elektron volt
Gy	Gray
KGy	Kilo gray
Rad	Radyan
Megarad	Megaradyan
FAO	Gıda ve Tarım Organizasyonu
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
R	Serbest radikal
$O^{\bullet}_2^-$	Superoksit anyon radikali
$OH^{\bullet}$	hidroksil radikali
H_2O_2	Hidrojen Peroksit
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
$RO^{\bullet}$	Alkoksil radikali
$ROO^{\bullet}$	Peroksil radikali
$X^{\bullet}$	Bir metal iyonu ya da hidroperoksitin parçalanması sonucu oluşan bir radikal
AH	Antioksidan
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
p-Av	p-Anisidin Değeri
DPPH	1,1-Difenil 2- pikril hidrazil

PCA	Plate Count Agar
GAE	Gallik Asit Eşdeğeri
EC_{50}	Efficient Concentration Başlangıçtaki $DPPH^{\bullet}$ konsantrasyonunu %50 azaltan örnek miktarı
Abs	Absorbans Değeri
SC-CO_2	Süperkritik karbondioksit
U.V.	Ultraviyole
A/h	Ağırlık/Hacim
TRAP	Toplam radikal önleme değeri
ORAC	Oksijen Radikali absorbsiyon kapasitesi
FRAP	Ferrik indirgeme gücü

1. GİRİŞ

Baharatlar, diğer adıyla aromatik bitkiler, bundan 5000 yıl önce Çin İmparatoru Fo Hi tarafından yaraların tedavisinde ve zihnin açılmasında ilaç olarak kullanılmaya başlanmıştır. İnsanlık tarihi kadar eski olan baharatlar daha sonraları dini törenlerde, mumyalama, ölü gömme ve koku maddeleri üretiminde kullanılmıştır. Günümüzde de gıdalara lezzet vermek amacıyla oldukça yaygın bir kullanım alanı bulunmaktadır (Akgül, 1993; Farrell, 1985). İnsanlık tarihi boyunca baharatlar için savaşlar yapılmış, efsaneler türetilmiştir. Hippocrates, Marco Polo, Magellan, Coloumbus ve Hz. Muhammet gibi önemli kişiler baharat ticareti ile ilgilenmişlerdir. Baharat 13. yüzyılda altın kadar kıymetli ve dolayısıyla para olarak kullanılan bir gıda katkısı olmuştur (Dziezak, 1989). Tarih boyunca baharat ticaretini elinde tutan ülkeler güçlü ve zengin olmuşlardır.

Funk ve Wagnall'ın tanımına göre baharat "odunsu doku içermeyen ve çiçeklenmeden sonra kuruyup ölen bitkilerdir". Von Nostrand'ın kimya sözlüğüne göre "ilaç yapımında ve yemek pişirmede kullanılabilen bitki veya bitkilerin bir bölümüdür". Collier'in ulusal ansiklopedisinde "küçük veya hiç odunsu doku içermeyen, yer altında tomurcuğu olmayan ve yetişme dönemi sonunda ölen bitkilerdir" (Farrel, 1985).

Uluslararası Standartlar Organizasyonu (ISO)'nun yaptığı tanıma göre baharatlar ve çeşniler gıdalara renk ve koku kazandırmak için kullanılan doğal bitkisel ürünler yada bunların karışımıdır. Baharat bitkinin bütünü veya öğütülmüş tohumu, meyvesi, kabuğu ya da kökü olabilir. Aromatik bitki ise tek ya da çok yıllık bitkilerin ve çalıların yaprak kısımlarıdır (Tainter, 1992). Türkçe'de her ikisi için de genelde baharat terimi kullanılmaktadır.

Eski çağlardan beri baharatların gıdaların raf ömrünü uzattığı bilinmektedir ve son yıllarda yapılan çalışmalarda baharatların bu yeteneklerinin antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinden kaynaklandığı saptanmıştır (El-Alim ve ark., 1999; Javanmardi ve ark., 2003).

Gıdaların işlenmesi, ısı uygulamaları ve depolanması sırasında meydana gelen lipid oksidasyonu gıdaların besin değerinin azalmasına, acılaşmasına ve bozulmasına neden olmakta ve gıdaların koku, tat, doku, kıvam ve görünüşünü değiştirmektedir (Kaur ve Kapoor, 2001; Kähkönen ve ark., 1999; Karpińska ve ark., 2001; Cardeñosa ve ark., 2002). Gıdalarda oksidasyonu önlemek amacıyla antioksidan kullanımı kaliteyi korumakta, toksik bileşiklerin oluşumunu önlemekte ve vitamin kayıplarını büyük ölçüde azaltmaktadır. Antioksidanlar uzun yıllardan beri gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Bütillendirilmiş hidroksianisol (BHA), bütillendirilmiş hidroksitoluen (BHT), propil gallat ve tersiyer bütilhidrokinon (TBHQ) gıdalarda en sık kullanılan sentetik

antioksidanlardır. Fakat bunların sentetik antioksidanlar olmaları, toksik etkileri, yüksek maliyetleri ve tüketicilerin katkı maddeleri hakkındaki endişeleri nedeniyle son yıllarda doğal antioksidanların kullanımı artmıştır (Sherwin, 1990; Zheng ve Wang, 2001; Wanasundara ve Shahidi, 1998).

Son yıllarda endüstriyel alanda ve bilimsel araştırmalarda antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinden dolayı baharatlara olan ilgi artmıştır (Zheng ve Wang, 2001; Calucci ve ark., 2003). Baharatların antioksidan aktiviteleri içerdikleri fenolik bileşiklerden kaynaklanmaktadır (St. Angelo ve ark., 1990; Wang ve ark., 1995). Bazı baharatlar bol miktarda antioksidan, E ve C vitaminleri ve karotenoid içermektedir (Velioğlu ve ark., 1998). Özellikle Lamiaceae familyasına ait adaçayı, kekik ve fesleğen gibi pek çok baharat, biberiye, karanfil, tarçın, karabiber, zerdeçal, zencefil, sarımsak ve soğan antioksidan aktiviteye sahiptir (Javanmardi ve ark., 2003; Chang ve ark., 1977; Wu ve ark., 1982; Ramanathan ve Das, 1993; Deighton ve ark., 1993).

Gıdalarda kullanılan baharatların büyük bir bölümünün değişen düzeylerde bakteri, maya ve küf ile kontamine olduğu bilinmektedir (Tainter, 1992). Bu yüzden de gıdalarda direkt veya ekstraktı şeklinde kullanılan baharatlar sterilize edilmeden kullanılamamaktadır. Baharatların sterilizasyonunda fumigasyon (etilen oksit gibi), termal inaktivasyon ve soğuk pastörizasyon (ışınlama uygulamaları) yöntemleri sıklıkla kullanılmaktadır (Gould, 1996; Leistritz, 1997).

Bu çalışmada etilenoksitle, buharla ve gama ışınlarıyla sterilize edilen kekik, adaçayı ve fesleğenden metanolle elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri spektrofotometrik yöntemlerle saptanarak baharatların antioksidan aktivitelerini en iyi şekilde koruyan sterilizasyon yönteminin saptanması amaçlanmıştır. Ayrıca farklı yöntemlerle sterilize edilmiş baharatların renklerinde meydana gelen değişimler incelenmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Türk Gıda Kodeksi Baharat Tebliğinde (Anon., 2002a) verilen tanıma göre, çeşitli bitkilerin tohum, çekirdek, meyve, çiçek, kabuk, kök, yaprak gibi kısımlarının bütün halde ve/veya parçalanması, kurutulması, öğütülmesi ile elde edilen gıdalara renk, tat, koku ve lezzet verici olarak katılan doğal bileşikler ve bunların karışımına baharat denilmektedir.

Baharatları içerdikleri esansiyel yağlara göre beş grup altında sınıflandırmak mümkündür;

1. Grup: Sineol içeren baharatlar;
- Defne
-Biberiye
-İspanya adaçayı

2. Grup: Timol ve/veya karvakrol içeren baharatlar;
-Kekik (Tyhmus)
-Yabani kekik
-Kekik (oregano)
-Yabani mercanköşk
-Meksika adaçayı

3. Grup: Alkol içeren baharatlar;
-Fesleğen
-Mercanköşk
-Tarhun

4. Grup: Thujone içeren baharatlar;
-Dalmaçyalı adaçayı
-Yunan adaçayı
-İngiliz adaçayı

5. Grup: Mentol içeren baharatlar;
-Nane (*Mentha piperita*)
-Bahçe nanesi

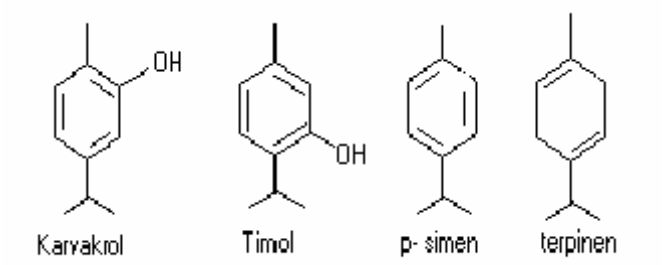
(Farrell, 1985).

2.1. Kekik

Kekik, *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* bitkisinin yaprak ve çiçeklerinin kurutulmasıyla elde edilen, yıllık, nane ailesine ait, Akdeniz mutfağına özgü, antioksidan aktivitesi çok iyi bilinen bir baharattır (Economou ve ark., 1991). Türk Gıda Kodeksi, Baharat Tebliğinde yer alan tanıma göre; kekik, Origanum, Satureja, Tyhmus, Thymbra ve Majorona cinslerine giren bitkilerin tekniğine uygun olarak kurutulduktan sonra ufalanarak saplarından ayrılmış yaprak, çiçek ve sürgün uçları karışımıdır (Anon., 2002a). Karvakrol ve timol bu aktiviteden sorumlu iki fenolik bileşiktir ve kekikte bulunan esansiyel yağların %78-82'sini oluşturmaktadır (Adam ve ark., 1998; Yanishlieva ve ark. 1999, Farrell, 1985). Ayrıca toplam yağın %5'ini oluşturan γ-terpinen ve %7'sini oluşturan p-simen gibi monoterpen hidrokarbon da içermektedirler (Adam ve ark., 1998; Kokkini, 1994). Kekik uçucu yağlar, flavonoid, tanen, fenolik asit, saponin, reçine ve triterpen içermektedir (Akgül, 1993).



Kekik çalımsı, gövdesi kırmızımsı, kuru baharat rengi soluk grimsi yeşil, aroması güçlü, kafur kokulu bir bitkidir. Kekiğin aromasını uçucu yağlar oluşturur. Origanum ve thymus türleri birbirine çok fazla karıştırılmaktadır, fakat thymus çeşidinde fenolik maddenin çoğunluğunu karvakrol oluşturmaktadır. Kekiğin 100 gramına ait kompozisyonu Çizelge 2.1'de verilmiştir (Farrell, 1985).



Şekil 2.1. Kekikten izole edilen bazı antioksidatif bileşiklerin yapıları

Çizelge 2.1. Kekiğin kompozisyonu (100 g) (Farrell 1985)

Su	7.2 g	Demir	42.0 mg
Enerji	306.0 kcal	Magnezyum	270.0 mg
Protein	11.0 g	Fosfor	200.0 mg
Yağ	10.3 g	Potasyum	1669.0 mg
Toplam karbonhidrat	64.4 g	Sodyum	15.0 mg
Lif	15.0 g	Çinko	4.0 mg
Kül	7.2 g	Niasin	6.0 mg
Kalsiyum	1576.0 mg	A vitamini	6903 IU

Kekik mutfakta her türlü et ürünlerinde, sos, çorba, sebze, turşu, peynir, zeytin, baharat karışımında, gıda sanayinde likör ve alkolsüz içeceklerde, şekerleme, fırın ürünleri, çeşni ürünleri, ciklet üretiminde kullanılmaktadır. Timol güçlü bir antimikrobiyaldir; bazı ülkelerde tek başına gıda aroma katkısı olarak da kullanılabilmektedir. Gıda dışında eczacılık, kozmetik ve parfümeride kullanılmaktadır (Akgül, 1993). Kekik eski çağlardan beri soğuk algınlığı, öksürük, boğaz ağrısı, baş ağrısı, adele ağrısı, böcek ısırması ve sokması gibi rahatsızlıkların tedavisinde ve antispazmatik, antibakteriyel, antiviral, balgam söktürücü olarak kullanılmaktadır (Ebadi, 2002; Meister ve ark., 1999; Essawi ve Srour, 2000; Ismaili ve ark., 2004).

Kekiğin kuru yaprak ve çiçekleri, organik çözgenle elde edilen ekstraktları ve esansiyel yağları hepsi gıdalara eklendiğinde lipid oksidasyonunu inhibe etmektedirler (Botsoglou ve ark., 2002). Vekiari ve ark. (1993) kekikten elde edilen ekstraktların kızartma sıcaklığına gelen yağlarda antioksidan aktivite gösterdiklerini rapor etmişlerdir. Diğer bir çalışmada, kekik ve kekik ekstraktı eklenmiş cipslerin kızartıldıktan sonra 63°C'da 6 gün depolanması sırasında kekiğin oksidasyonu önlemede TBHQ kadar etkili olduğu saptanmıştır (Lolos ve ark. 1999).

Çeşitli aromatik bitkilerden elde edilen esansiyel yağların antioksidan aktiviteleri ile ilgili çalışmalar sonucunda timol ve karvakrolca zengin olan kekik esansiyel yağının domuz eti oksidasyonunda etkili bir antioksidan etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir (Lagouri ve ark., 1993; Tsimidou ve Boskou, 1994). Yanishlieva ve Marinova (1995) Bulgaristan'da yetişen kekiklerin hegzan ekstraktlarının antioksidan aktivitesi ve saf timol ve karvakrolun etki mekanizmasını araştırmışlardır (Yanishlieva ve ark., 1999).

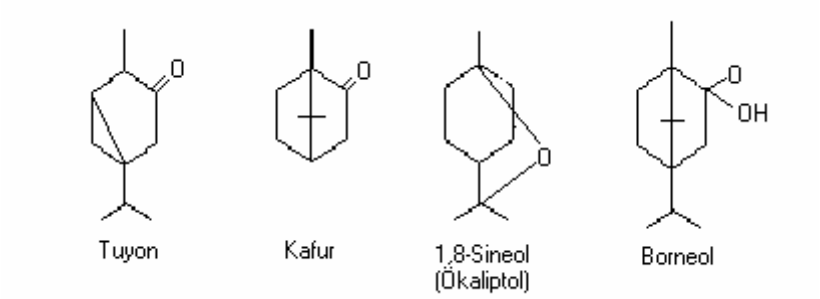
2.2. Adaçayı

Adaçayı (*Salvia officinalis*), başta Arnavutluk ve Yunanistan olmak üzere Akdeniz bölgesinin kuzeydoğu kıyısına ait bir bitkidir. Arnavutluk, Kıbrıs, Dalmaçya Adaları, Adriyatik Denizi, Güney Fransa, Büyük Britanya, İtalya, Portekiz, İspanya, Türkiye, Yugoslavya, Kanada ve Amerika Birleşik Devletlerinde yetişmektedir (Farrell, 1985). Salvia türleri pek çok ülkede aromatik özelliklerinden dolayı ticari olarak yetiştirilmekte ve esansiyel yağları yaygın olarak kullanılmaktadır (Milliauskas ve ark., 2004). Avrupa Konseyi adaçayını "Doğal Gıda Lezzetlendiricisi" olarak adlandırmıştır (Areias ve ark. 2000).



Ballıbabagillerden olan adaçayı, dişotu ve meryemiye adları ile de tanınır. 30-70 cm boyunda olan bitkinin menekşe renkli çiçekleri halka dizilişlidir. Eterli uçucu yağlar, %30 thujon, %5 cineol, linalol, borneol, salven, pinen ve kafur; tanenler, triterpenoitler, flavonlar; strojen benzeri maddeler; reçineli bileşikler içermektedir. Adaçayının 100 gramına ait kompozisyonu Çizelge 2.2'de verilmiştir (Ebadi, 2002; Farrell, 1985; Akgül, 1993).

Adaçayının kokusu kuvvetli, aromatik, tuyonsu, kafursu, sineolsü; lezzeti özgün, ağır, acımsı, buruk, baharlı ve yakıcıdır (Akgül, 1993).



Şekil 2.2. Adaçayından izole edilen bazı antioksidatif bileşiklerin yapıları

Çizelge 2.2. Adaçayının kompozisyonu (100 g) (Farrell 1985)

Su	8.0 g	Magnezyum	428.0 mg
Enerji	315.0 kcal	Fosfor	91.0 mg
Protein	10.6 g	Potasyum	1070.0 mg
Yağ	12.7 g	Sodyum	11.0 mg
Toplam karbonhidrat	60.7 g	Çinko	5.0 mg
Lif	18.1 g	Askorbik asit	32.0 mg
Kül	8.0 g	Niasin	6.0 mg
Kalsiyum	1652.0 mg	A vitamini	5900 IU
Demir	28.0 mg		

Adaçayı, esansiyel yağ içeriğinden dolayı tercih edilen bir baharat olmasına rağmen daha çok polar bileşiklerin rol aldığı kaynatılıp demlenen bir ürün olarak kullanılmaktadır. Bu polar bileşikler arasında birçok fenolik asit ve flavonoidin (15'den fazla aglikon) varlığı saptanmıştır (Wang ve ark., 2000; Areias ve ark., 2000). Areias ve ark. (2000)'nın yaptıkları çalışmada adaçayında başlıca 6 fenolik bileşik saptanmıştır, bunlar; kaffeik asit, luteolin 7-*o*-glukozit, rosmarinik asit, apigenin, hispidulin ve cirsimaritindir.

Adaçayı çok eski ve önemli bir baharattır. Mutfakta taze ve kurutulmuş olarak et, çorba, makarna, salata, sos, dolmalık harç, omlet, peynir, kabak, patlıcan, fasulye vb sebzelerde kullanılmaktadır (Akgül, 1993). Adaçayı larenjit, iltihaplı hastalıklar, yaraların iyileşmesi, korku, depresyon tedavisinde kullanılmakta ancak rahim kaslarını uyardığı için gebelik sürecinde kullanılmamaktadır (Ebadi, 2002).

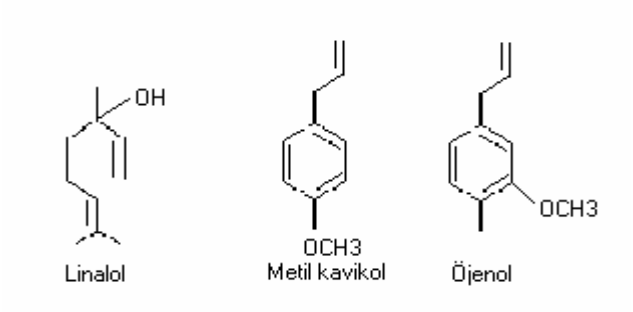
2.3. Fesleğen

Türk Gıda Kodeksi, Baharat Tebliğinde yer alan tanıma göre fesleğen-reyhan; *Ocimum basilicum L.* türüne giren bitkilerin tekniğine uygun olarak kurutulduktan sonra saplarından ayrılmış yaprak, çiçek ve sürgün uçları karışımıdır (Anon., 2002a). Fesleğen (*Ocimum basilicum L.*), diğer adıyla reyhan, Lamiaceae familyasına ait, Hindistan, İran ve Afrika kökenli, yıllık ve otsu bir bitkidir. Hindistan'da 50 türü bulunmaktadır. Tohumla üretilir. Fransa, Belçika, Bulgaristan, Macaristan, İtalya, Polonya, İspanya ve Amerika'da yetiştirilmektedir (Javanmardi ve ark., 2002; Farrell, 1985).

Fesleğen, beyaz-mor çiçekli, güzel kokulu, alçak boylu, nane ailesinden, tatlımsı, anasonsu, aromatik, linalolsü, çiçeksi kokuda; baharlı, hafif yakıcı ve acımsı lezzette bir baharattır. Uçucu yağ, tanen, saponin içermektedir (Akgül, 1993).



Fesleğenin esansiyel yağları %40 d-linalol, % 25 metil kavikol ve diğerleri; öjenol, sineol ve jeraniol içermektedir. Fesleğenin 100 gramına ait kompozisyonu Çizelge 2.3'de verilmiştir (Farrell, 1985).



Şekil 2.3. Fesleğenden izole edilen bazı antioksidatif bileşiklerin yapıları

Fesleğen, Akdeniz mutfağında yaygın olarak kullanılan bir baharattır. Domates, domates ürünü, sebzeler, salata, pizza, et, omlet, pilav, pesto sosu vb. ve baharat karışımlarında kullanılmaktadır (Akgül, 1993). Halk arasında fesleğen, baş ağrısı, öksürük, ishal, kabızlık, siğil, kurt, böbrek yetmezliği gibi rahatsızlıkların tedavilerinde şifalı bitki olarak kullanılmaktadır. Ayrıca fesleğen böcek ısırmalarında merhem olarak kullanılmakta, fesleğen yağı ise akne tedavilerinde deriye direkt olarak uygulanmaktadır (Javanmardi 2002). Fesleğenden elde edilen doğal bileşikler uzun süredir gıdalarda aroma verici ve diş ve ağız ürünlerinde kullanılmaktadır (Waltz, 1996; Simon, 1995).

Çizelge 2.3. Fesleğenin kompozisyonu (100 g) (Farrell 1985)

Su	6.4 g	Fosfor	490.0 mg
Enerji	251.0 kcal	Potasyum	3433.0 mg
Protein	14.4 g	Sodyum	34.0 mg
Yağ	4.0 g	Çinko	6.0 mg
Toplam karbonhidrat	61.0 g	Askorbik asit	61.2 mg
Lif	17.8 g	Tiamin	0.1 mg
Kül	14.3 g	Riboflavin	0.3 mg
Kalsiyum	2113.0 mg	Niasin	6.9 mg
Demir	42.0 mg	A vitamini	9375 IU
Magnezyum	422.0 mg		

2.4. Baharatların Sterilizasyonu

Baharatlar hijyen koşullarının yeterince sağlanamadığı dere yatağı gibi bölgelerde yetiştirilip hasat edilmekte ve bu nedenle de kullanıldıkları gıdalar için iyi birer kontaminasyon kaynağı olmaktadırlar (Tainter, 1992; Baxter ve Holzapfel, 1982; Abbas ve Halkman, 2003). Baharatların mikrobiyel yükü yetiştirildiği yere, iklim şartlarına, hasat, paketleme ve taşıma gibi işlem basamaklarına göre değişmektedir (Farrel, 1985). Baharatlar nemli ortamda depolanırsa küf, bunun yanı sıra saprofit bakteri, termofilik bakteri ve sporlar ve maya gelişimi gözlenmektedir (Reineccius, 1994).

Baharatlarda bulunan mikroorganizmalar genellikle hareketsiz durumdadırlar ve baharat nemli bir gıdada kullanıldığı anda sporlar aktive olarak gıdada mikrobiyal bozulmaya neden olmaktadırlar. Mikroorganizmaları inaktive etmek için baharat ve aromatik otlar sterilizasyon işlemlerine tabi tutulmaktadır. Mikrobiyal yükü fazla olan baharatlar sterilize edilmeden kullanılırsa gıdalarda özellikle de turşu, salam, sucuk ve konservelerde bozulma, gıda zehirlenmesi ve gıda kaynaklı hastalıklara neden olmaktadır (Hayashi ve ark., 1994; Abbas ve Halkman, 2003). Uluslararası Mikrobiyolojik Spesifikasyonlar Komisyonu (ICMSF) tarafından gıdalarda mikrobiyolojik kontaminasyonun 10^4/g'ı geçmemesi istenmektedir. Baharatlar özellikle et işlemede önemli bir kontaminasyon kaynağıdır. İşlenmiş etler yeterince ısıl işlem görmedikleri için kullanılan baharatın her bir gramıyla binlerce veya milyonlarca mikroorganizma et karışımına bulaşabilmekte ve çoğalabilmektedir (Marcotte, 2001; Abbas ve Halkman, 2003).
Baharatların mikrobiyal yükü Çizelge 2.4'de verilmiştir.

Çizelge 2.4. Baharatlardaki mikrobiyal kontaminasyon (Reineccius 1994)

Öğütülmüş Baharatlar	Koloni oluşturan bakteri ve küf sayısı / gram	
	37'C	Oda sıcaklığı
Tarçın	8.000	600
Karanfil	190	0
Coriander	410.000	80.000
Zencefil	60.000	2.000
Hindistan cevizi	1.200	700
Karabiber	10.400.000	1.300.000
Beyaz biber	42.000	9.000
Adaçayı	550.000	70.000
Kekik	35.000	30.000
Soğan tozu	6.000	0

Doğal kontaminasyon kaynağı olan baharatlar yüksek risk taşıdıkları için sterilize edilmeden ithalat ve ihracatına izin verilmemektedir. Genelde baharatlardaki bulaşma seviyesi 10^5-10^8 mikroorganizma/g düzeylerinde bulunmaktadır (Bertteli ve ark., 2004).

Baharatların sterilizasyonunda kullanılan yöntemler;

(1) termal inaktivasyon,
(2) fumigasyon
(3) ışınlama

şeklinde sınıflandırılmıştır (Özlem ve Marangoz, 1999; Abbas ve Halkman, 2003).

Önemli olan aroma, lezzet ve son ürünü en az etkileyecek ve başlangıç mikroorganizma yükünü azaltacak en uygun yöntemi kullanmaktır (Reineccius, 1994).

2.4.1 Termal İnaktivasyon

Dehidrasyon gıdaları korumada en populer ve ucuz yöntemlerden birisidir. Bu yöntemde su aktivitesi düşürülerek mikroorganizma gelişimi azaltılmakta ve biyokimyasal reaksiyonlar yavaşlatılmaktadır. En yaygın dehidrasyon aracı sıcak havadır, fakat sıcak hava ürünlerin fizikokimyasal özelliklerinde istenmeyen değişiklikleri tetiklemektedir. Özellikle baharat ve aromatik otlarda bulunan uçucu bileşiklerin sıcak hava ile etkileşimleri pek çok bilim adamı tarafından incelenmiştir. Sıcak havanın yan etkisinden dolayı alternatif bir yöntem olan düşük basınçta süper ısıtılmış buhar (LPSS-Low Pressure Superheated Steam) uygulamaları geliştirilmiştir (Yousif ve ark. 1999, Barbieri ve ark. 2004). Bu uygulama düşük sıcaklıkta ve oksijensiz ortamda

gerçekleşmektedir. Son ürün orijinal rengini ve şeklini korumakta ve ayrıca sıcak hava uygulamalarından daha az enerji kullanılmaktadır (Barbieri ve ark. 2004). Baharat ve aromatik otların mikrobiyolojik olarak güvenilirliğini sağlamak amacıyla geliştirilen koruma tekniklerinin yan etkilerini azaltmak amacıyla pek çok çalışma yapılmaktadır. İyonize radyasyon uygulamaları, hidrostatik basınç uygulamaları, yüksek basınçta doymuş buhar uygulamaları ve mikrodalga radyasyon uygulamaları gibi koruma teknikleri arasında yüksek basınçta doymuş buhar uygulamaları giderek yaygınlaşmaktadır (Kispéter ve ark. 2003).

Baharatların sterilizasyonunda son zamanlarda en sık kullanılan yöntemlerden birisi buharla sterilizasyondur ve bu yöntemde düşük sıcaklıkta, vakum altında pamuk çuvallar içinde bulunan baharatlara buhar uygulanmaktadır. Sıcaklık düşük olduğu için aroma kaybı daha azdır fakat tamamen önlenememiştir. Muhtemelen ısı etkisi ile yağ bazlı antioksidan bileşikler uçmakta veya fenolik bileşikler diğer bileşiklerle reaksiyona girmektedirler (Manzocco ve ark., 1998; Berteli ve ark., 2004). Ayrıca bu yöntemde baharattaki nem düzeyi yükselmekte ve bu da küf gelişme olasılığını artırmaktadır. Bu yüzden bu baharatlar sterilize edildikten sonra kalite üzerine yan etkisi olmayan ve üretim maliyetini artırmayan bir yöntemle tekrar kurutulmalı ve baharat koton çuvallardan kontaminasyona yol açmayacak cam, kraft veya polietilen poşetlere konulmalıdır (Marcotte, 2001; Abbas ve Halkman, 2003).

Buhar uygulamaları özellikle karabiber gibi kalın kabuklu baharatların sterilizasyonu için gerekli olan uzun süreli sıcaklık uygulamalarını ortadan kaldırarak renk, aroma ve uçucu bileşen kayıplarını ortadan kaldırmaktadır. Uygulama kısa sürede aşırı vakum ve ısı uygulaması ile gerçekleşmektedir. Böylece renk, aroma ve uçucu madde kayıpları en aza indirilmektedir. Bu sistemin en göze batan özelliği ısının arkasından uygulanan vakum uygulaması sayesinde ürün sıcak havayla fazla temas etmemekte ayrıca ortamda hava azalmakta ve böylece ürünün oksidasyonunu önlenmektedir. Aynı zamanda ortamdaki hava vakumla çekildiği için aerobik mikroorganizma gelişimi önlenmekte ve hızlı soğutma ile de termofilik mikrorganizmaların gelişimi önlenmektedir. Burada önemli olan sterilizasyon sonrası ürünün kontaminasyonunu önlemektir. Bu amaçla iyi üretim uygulamalarına uygun steril bir ortam gerekmektedir. Ülkemizde de buharla baharat sterilizasyonu kullanılmaktadır. Bunun için baharatlar pamuk çuvallara alınarak sterilizasyon tünellerine yerleştirilmektedir. Kapalı ve kesikli sistem çalışan tünelde baharatlara buhar verilmekte ve daha sonra içeride vakum oluşturulmaktadır. Yüksek sıcaklık ve düşük basınçta buhara maruz kalan mikroorganizmalar ölmekte ve bu esnada baharatlar bir miktar nem çekmektedir. Sterilize olmuş baharatlar daha sonra aseptik koşularda ayıklama-temizleme ünitesinden geçirilerek kraft çuvallarda ambalajlanmaktadır (Anon., 2005).

Baharatların buharla sterilizasyonu yöntemi ile ilgili bir patent Inglis ve Lark tarafından (BOC Gases Australia Ltd, Chatswood, New South Wales 2057, Australia) PCT International Patent Application WO 96/36237'dan alınmıştır. Bu yöntemde baharat ve aromatik otlar <0°C soğutulmakta, daha sonra sıcaklık hızlı bir şekilde pastörizasyon veya sterilizasyon sıcaklığına yükseltilmektedir. Isıtma ve tekrar soğutma basamakları >1 bar basınç altında gerçekleştirilmektedir (Anon., 1997). Bu yöntemde baharata ısıl işlem uygulanmaktadır. Baharatlar 121°C'da 15 dak. direkt ısıya veya vakum altında ısıya maruz kalmaktadır.

2.4.2 Fumigasyon

Fumigasyon baharatların sterilizasyonunda en etkili yöntemlerden biridir. Bu yöntemde baharatlar etilenoksit, propilen oksit, metilbromit gibi kimyasallarla tütsülenmektedir (Tainter, 1992; Vajdi ve Pereira, 1973; Abbas ve Halkman, 2003).

Etilen okside karşı en az dirençli mikroorganizmalar küfler ve mayalar olup, 22°C'da %30 bağıl nemde 1 dakika 400 mg/L etilen oksite maruz kalmaları yeterli olmaktadır. Etilen oksidin etkili bir koruyucu olmasının nedeni; alkilasyon sırasında etilen oksidin hidroksi etil gruplarının hidrojen atomları ile yer değiştirmesi ve böylece önemli metabolik reaksiyonlarda gerekli olan birçok reaktif grubun bloke edilmesi olduğu bilinmektedir. Etilen oksit plastik, kağıt ve kumaş gibi pek çok organik materyalden içeriye difüzlenebilidiği için gıdalar paketlendikten sonra da sterilze edilebilmektedir (Ova, 2001).

Bu yöntemin dezavantajları arasında kanserojen olması ve kalıntı bırakması yer almaktadır. Etilenoksit, propilen oksit, metilbromit vb. kimyasallarla yapılan fumigasyon gıdalarda duyusal kaliteyi azaltmakta ve bunun yanında başta kanser olmak üzere bıraktıkları kalıntılar çeşitli hastalıklara neden olmaktadır. FDA kalıntı miktarı olarak 50 ppm'e kadar izin vermektedir (Tainter, 1992; Abbas ve Halkman, 2003). Kanserojen etkisinin yanında etilen oksidin düşük konsantrasyonlarda bile patlayıcı olması, maruz kalındığında sinir sistemini bozması ve genetik bozukluklara yol açması kullanımını sınırlamaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde sadece baharatlarda etilen oksit kullanımına izin verilmektedir (Ova, 2001).

Sterilize edilmiş baharatlar kalıntı problemini azaltmak için havalandırıldıktan sonra paketlenip depolanmaktadırlar (Abbas ve Halkman, 2003). Fumigasyon sonrası etilenoksit kalıntısının uzaklaştırılması için ortalama 1 haftaya gerek vardır ve mikrobiyolojik analizlerin ortalama 2-3 gün sürmesi elde edilen mikrobiyolojik sonuçlara göre sterilizasyon yetersiz ise tekrar fumigasyon yapılması ve buna bağlı olarak kalıntı miktarının artması zaman ve ekonomik kayıplara neden

olmakla beraber sağlık risklerini arttırmaktadır (Marcotte, 2001; Abbas ve Halkman, 2003). Bu nedenle etilenoksit kullanımı bazı ülkelerde yasaklanmıştır.

2.4.3. Işınlama (Soğuk Pastörizasyon)

Gıda ışınlaması fiziksel bir uygulama olup; geniş bir bakış açısıyla Kobalt-60 (Co^{60}) veya Sezyum-137 (Cs^{137}) gibi radyonüklid kaynaklardan elde edilen gama (γ) ışınları, ≤0 milyon elektron volt (MeV) enerji düzeyindeki makine kaynağından (akselatör) üretilen elektron bombardımanları ve ≤5 MeV enerji düzeyindeki makine kaynağından elde edilebilen X ışınları gibi iyonlaştırıcı enerji ile gerçekleştirilebilmektedir. Işınlamanın sıcaklık uygulaması gibi gıdalarda koruma özelliğinde olduğu, ancak bu uygulama ile gıdalarda önemli bir sıcaklık artışı meydana gelmediği ifade edilmektedir. Bu nedenle "Soğuk Sterilizasyon veya Pastörizasyon" olarak tanımlanmaktadır. Işınlanan madde tarafından absorbe edilen enerji miktarı "doz" olup, yeni sisteme göre birimi Gray (Gy)'dır ve 100 rad = 1 Gray veya 1 Megarad = 10 KGy olarak verilmiştir (Topal, 1988).

Gıdalarda ışınlama 3 şekilde uygulanmaktadır;

-**Radappertizasyon:** İyonize radyasyonun yüksek dozda (10kGy ve üzeri) uygulamalarına radapertizasyon denilmekte ve ticari sterilizasyon olarak kullanılmaktadır.

-Radisidasyon spor oluşturmayan patojen mikroorganizma yükünün azaltılmasında ≤10kGy gibi daha düşük dozda ışınlama uygulamaları kullanılır ve buna da radisidasyon denilmektedir.

-Radurizasyon ise gıdaların kalitesini korumak, raf ömrünü uzatmak için uygulanan ve spesifik mikroorganizma populasyonunu azaltan dozlarda (≤1kGy) ışınlama uygulaması olarak tanımlanmaktadır (Monk et al., 1995,).

Işınlama hiçbir atık içermeyen fiziksel bir proses olması nedeniyle taze ve kolay bozulabilen gıdaların korunmasında uygulanan etkin bir yöntemdir (Lagunas-Solar, 1995). Ancak her gıda ışınlamaya elverişli değildir. Yağlı gıdalarda ışınlama sonucu acılaşma, yüksek proteinli gıdalarda ise kötü tat ve koku meydana gelmesi radyasyon uygulamalarını sınırlamaktadır. İyonize radyasyon baharatlar, taze ve dondurulmuş meyve, sebze ve meyve suları, soğan, sarmısak, pirinç, baklagiller, tahıl ve ürünleri, patates, yenilebilir sert kabuklular ve tohumlar, salça, et, kanatlı ve ürünleri, taze ve kurutulmuş deniz ürünleri, çikolata, çay ve ekstraktlarında kullanılmaktadır (Olson, 1998).

Ülkemizde, başta baharat olmak üzere, kurutulmuş sebzeler, bazı kuru yemişler (badem, hurma, çam fıstığı, kuş üzümü), balık, tavuk eti, karides, işkembe ve kurbağa budu ışınlama yöntemi ile sterilize edilmektedir (Alkan, 2003). 1980 yılında FAO-IAEA-WHO Ortak Uzmanlar Komitesi tarafından yapılan açıklamaya göre 10kGy'a kadar ışınlama yapmanın gıda maddesinde

toksikolojik, biyolojik, nutrisyonel ve kimyasal bir tehlike oluşturmayacağı saptanmıştır (Lacroix ve Quattara, 2000). Günümüzde de pek çok ülkede baharatların 10 kGy doz absorblayacak şekilde ışınlanmasına izin verilmektedir. Yapılan çalışmalarda yoğun mikroorganizma içeren baharatın 10 kGy dozunda ışınlanması ile kalitesinde bir kayıp olmadan mikroorganizmaların elimine edildiği ve küflerin elimine edilmesi için 5 kGy dozun yeterli olduğu saptanmıştır (Munasiri ve ark., 1987; Abbas ve Halkman, 2003; Korel ve Orman, 2005).

Buharla sterilizasyonda uçucu yağ asitlerinde kayıplar meydana gelebilmektedir. Etilen oksitle sterilizasyonda ise etilen oksitin toksik etkisinden dolayı kullanımında kısıtlamalar söz konusudur. Bu durumda gama ışınlaması baharatlarda aroma kalitesini değiştirmeyen ve mikrobiyal kontaminasyonu önleyen etkin bir metot olarak görülmektedir (Farkas, 1988, Korel ve Orman, 2005).

Yapılan araştırmalar ışınlama uygulaması ile yaygın gıda patojenleri olan *Salmonelle, E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* ve *Campylobacter jenuni*'de en az %99,9 indirgeme sağlanabildiğini göstermiştir. Son zamanlarda baharat ve aromatik bitkilerin ışınlanması giderek yaygınlaşmaktadır (Anon., 2002b; Abbas ve Halkman, 2003). Yapılan araştırmalar ışınlanmış ve ışınlanmamış baharatlar arasında kalite parametreleri açısından önemli bir farklılık olmadığını göstermiştir (Hayashi ve ark., 1994; Piggott ve Othman, 1993; Abbas ve Halkman, 2003). Işınlamanın lezzet ve aroma üzerine hiçbir olumsuz etkisi belirlenememiştir (Snyder ve Poland, 1995; Abbas ve Halkman, 2003). Baharat sterilizasyonunda ışınlama en güvenilir ve en etkili yöntem olarak bilinmektedir (Hayashi ve ark ,1994; Abbas ve Halkman, 2003).

Çizelge 2.5 İyonize Radyasyonun Yaklaşık Öldürücü Dozu

(Snyder ve Poland, 1995, Abbas ve Halkman, 2003).

Organizma	**Öldürücü doz (kGy)**
Böcekler	0,22 -0,93
Virüs	10-40
Mayalar (fermentatif)	4-9
Mayalar (ince tabaka halinde)	3,7-18
Küfler (sporlu)	1,3-11
Patojen Bakteriler	
Mycobacterium tuberculosis	1,4
Staphylococcus aureus	1,4-7,0
Cornybacterium diphteriae	4,2
Salmonella spp.	3,7-4,8
Gram negatif Saprofitler	
Escherichia coli	1,0-2,3
Pseudomonas aeruginosa	1,6-2,3
Pseudomonas fluorescens	1,2-2,3
Enterobacter aerogenes	1,4-1,8
Gram pozitif Saprofitler	
Lactobacillus spp.	0,23-0,38
Streptococcus faecalis	1,7-8,8
Leuconostoc dextranicum	0,9
Sarcina lutea	3,7
Sporlu Bakteriler	
Bacillus subtilis	12-18
Bacillus coagulans	10
Clostridium botulinum (A)	19-37
Clostridium botulinum (E)	15-18
Clostridium perfringens	3,1
Bacillus stearothermophilus	10-17
Putreaktif anaeroblar	23-50

2.5. Oksidasyon ve Reaktif Oksijen Türleri

Oksidasyon, başlangıç, ilerleme ve sonlanma basamaklarından oluşan zincirleme reaksiyonlar yoluyla gerçekleşen bir radikal prosesidir. Başlangıç basamağında oksijen molekülleriyle reaksiyon sonucu alkil radikaller oluşmakta ve ilerleme basamağı boyunca da bu radikaller hidroperoksit ve peroksit radikallerini oluşturmaktadır. İki radikalin stabil bir ürün oluşturmak için birleşmesiyle de sonlanma basamağı gerçekleşmektedir (Brand-Williams ve ark, 1995). Serbest radikaller ($R^{\bullet}$), bir veya daha fazla paylaşılmamış elektron içeren, bağımsız olarak hareket eden türler olarak tanımlanmaktadır. Serbest radikallerin oluşumundan sorumlu faktör oksijendir (Youdim ve Deans, 1999).

Superoksit anyon radikali ($O^{\bullet}_2{}^-$), hidroksil radikali ($OH^{\bullet}$), singlet oksijen gibi serbest radikalleri ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi serbest olmayan radikal türlerini içeren reaktif oksijen türleri (ROT), oksijenin çeşitli şekilde aktive olmuş formlarıdır ve genellikle biyolojik reaksiyonların veya dış faktörlerin oksidasyon ürünleri tarafından oluşturulmaktadırlar (Ceruitti, 1991; Yıldırım ve ark., 2001; Gülçin ve ark., 2004).

Son yıllarda reaktif oksijen türleri bilim adamlarının ilgisini uyandırmıştır. Canlı organizmalarda çeşitli reaktif oksijen türleri farklı yollarla oluşmaktadır. Normal oksijenli solunum polimorfonükleer lökosit ve makrofajları uyarmakta ve peroksizomlar hücreler tarafından üretilen en önemli endojen oksidan kaynağı olmaktadırlar. Reaktif oksijen türlerinin ekzojen kaynakları ise sigara dumanı, çevre kirliliği, organik çözgenler ve pestisitlerdir (Halliwell ve Gutteridge, 1989; Davies 1994; Robinson ve ark., 1997). Reaktif oksijen türleri gıdalarda bozulmaya neden olan lipid peroksidasyonuna neden olmaktadırlar (Miller ve ark., 1995; Sasaki ve ark., 1996).

Gıdalarda bulunan yağlar veya yağlarda bulunan maddeler havaya maruz kaldığı anda oksidatif bozulma başlamaktadır. Oksidasyon gıdaların işlenmesi sırasında gıdaları etkilemekte ve duyusal açıdan son üründe acılaşmaya yol açarken vitamin kayıpları, besin kaybı ve renksizleşme gibi bozulmalara da neden olmaktadır (Sherwin, 1978). Yağ asitleri $OH^{\bullet}$ gibi Reaktif Oksijen türlerine (ROT) karşı hassastır. Doymamış yağ asitlerinden hidrojenin ayrılması doymuş yağ asitlerine göre daha kolaydır ve bu yüzden de doymamış yağ asitleri ROT' lere karşı daha hassastır (Gülçin ve ark., 2004). Ayrıca lipitler, nükleik asitler, proteinler, aminler, deoksiribonükleik asit ve karbonhidratlar gibi biyomoleküllerin oksidatif bozulmasında reaktif oksijen türlerinin rol aldığı çok iyi bilinmektedir. Bu bozulma yaşlanma, kanser, malaria, kalp hastalıkları, felç, diyabet ve kalp damar sistemi bozuklukları gibi bazı hastalıklara neden olmaktadır (Kehrer, 1993; Aruoma, 1994).

Oksidasyona neden olan, superoksit, hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve singlet oksijen gibi reaktif oksijen türleri, vücutta mitokondride normal aerobik solunum ve polimorfonükleer lökositlerin makrofaj ve peroksizomların uyarılması gibi normal fizyolojik olaylar, egzersiz, inflamasyon (çeşitli mikrobik ajanlar veya toksinlerine karşı vücudun göstermiş olduğu; hararet artması, kızarıklık ile karakterize iltihabi reaksiyon) esnasında sürekli üretilmekle beraber, sigara dumanı, radyasyon, çevre kirliliği, radyasyon, UV ışık, pestisitler, anestetikler, herbisitler ve organik çözgenler gibi dış faktörlerden de kaynaklanabilmekte ve antioksidan savunma mekanizması tarafından atılmaktadır (Kaur ve Kapoor, 2001; Cardeñosa et al., 2002, Gündüç, 2000; Halliwell ve ark., 1992). Metabolizma sonucu oluşan serbest radikaller bağışıklık sisteminde virüs ve bakterileri nötralize etmek için kullanılırlar. Ancak serbest radikallerin aşırısı oksidasyona ve hücre veya doku hasarına yol açmaktadırlar (Kaur ve Kapoor, 2001). Süperoksit dismutaz ve katalaz gibi enzimler ve askorbik asit, tokoferol ve glutatyon gibi antioksidan bileşikler vücutta serbest radikallere karşı koruyucu olarak görev alırlar (Gülçin ve ark., 2004). Organizmalarda reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve antioksidan sistemler arasında bir denge mevcuttur. Hastalık durumunda bu denge bozularak reaktif oksijen türlerinin üretimi artar ve lipit peroksidasyonu ve oksidatif stres ile sonuçlanır. Reaktif oksijen türleri ve antioksidan savunma mekanizması arasındaki dengesizlik hücresel membran veya intracellular moleküllerde oksidatif modifikasyona yol açmaktadır (El-Habit ve ark., 2000). Serbest radikal reaksiyonları sonucu lipid oksidasyonu, hücre ve memran hasarları, LDL ve DNA hasarı, mutasyon ve yaşlanma gerçekleşmektedir (Gündüç, 2000). Serbest radikallerin oluşturdukları bu hasarlar sonucu kalp hastalıkları, arterosklerozis, böbrek bozukluğu, immun sistem bozukluğu, beyinle ilgili rahatsızlıklar, katarakt ve kanser gibi ciddi hastalıklar ile vücudun savaşma yeteneği azalmaktadır (Yen ve Wu, 1999; Kaur ve Kapoor, 2001; Frankel ve Meyer, 2000).

Gıdaların depolanması, işlenmesi, ısı uygulamaları ve son ürünün depolanması esnasında meydana gelen lipid oksidasyonu gıdaların besin değerinin azalması, acılaşması ve bozulmasına neden olmakta ve gıdaların koku, tat, doku, kıvam ve görünüşünü değiştirmektedir (Kaur ve Kapoor, 2001; Kähkönen ve ark., 1999; Karpińska ve ark., 2001; Cardeñosa ve ark., 2002). Bu reaksiyonlar sadece gıdanın kalitesini etkilemez, aynı zamanda karsinogenezis, mutagenezis, yaşlanma ve arterosklerozis gibi olaylarla yakından ilişkilidir (Yen ve Wu, 1999). Lipid oksidasyon ürünleri diğer gıda bileşenlerini de etkilemekte ve bu ürünler protein ve folik asit absorbsiyonuna müdahale etmektedirler. Aynı zamanda sindirim sistemine ait mukoz membranlarda patolojik değişimlere neden olmakta, enzim aktivitesini inhibe etmekte, kolestrol seviyesini arttırmakta ve kan serumunda perokside olarak arterosklerozis prosesini aktive etmektedirler (Karpińska ve ark., 2001).

Serbest radikaller ortamdaki diğer bileşiklerle çok çabuk reaksiyona girerler ve stabilite kazanmak için gereksinim duydukları elektronları ele geçirmeye çalışırlar. Genellikle serbest radikaller en yakın stabil moleküle saldırır ve elektronlarını almaya çalışırlar. Bu moleküle saldırıldığında ve

elektronunu kaybettiğinde, molekülün kendisi serbest radikale dönüşür ve zincir reaksiyonlar başlar. Reaksiyonlar bir kere başladığında durması çok zordur (Kaur ve Kapoor, 2001).
İnsan vücudunda ve gıdalarda bulunan ROT'lar Çizelge 2.6'de verilmiştir.

Çizelge 2.6. Reaktif oksijen türleri (ROT), (Aruoma, 1997)

Hücrede	Gıdada
$O_2^{\bullet -}$	$O_2^{\bullet -}$
O_2	singlet O_2
H_2O_2	H_2O_2
Lipid peroksitleri	Lipid peroksitleri
HOCl	–
$RO^{\bullet}$ (alkoksil radikali)	$RO^{\bullet}$
$ROO^{\bullet}$ (peroksil radikali)	$ROO^{\bullet}$
$NO^{\bullet}$, $NOO^{\bullet}$, $ONOO^{-}$	$NO^{\bullet}$, $NOO^{\bullet}$, $ONOO^{-}$
$^{\bullet}OH$	$^{\bullet}OH$

Lipidlerin oksidasyonu üç aşamada gerçekleşmektedir :

$X^{\bullet}$ **:** bir metal iyonu ya da hidroperoksitin parçalanması sonucu oluşan bir radikal

R **:** doymamış lipid molekülü

1. *Başlangıç (Initation) Aşaması*

$X^{\bullet} + RH \rightarrow R^{\bullet} + XH$

$R + \text{enerji} \rightarrow R^{\bullet}$ (serbest radikal oluşumu)

2. *Yayılma-Hızlanma (Propogation) Aşaması*

$R^{\bullet} + O_2 \rightarrow ROO^{\bullet}$ (serbest peroksil radikali)

$ROO^{\bullet} + RH \rightarrow ROOH$ (hidroperoksit) $+ R^{\bullet}$

$ROOH \rightarrow RO^{\bullet} + OH^{\bullet}$

3. *Sonuçlanma (Termination) Aşaması*

$ROO^{\bullet} + ROO^{\bullet} \rightarrow$

$ROO^{\bullet} + R^{\bullet} \rightarrow$ sekonder ürünlerin oluşumu

$R^{\bullet} + R^{\bullet} \rightarrow$

Lipidlerin oksidasyonunda başlangıç aşamasında düşük konsantrasyonlarda pek çok radikaller oluşmaktadır. Primer oksidasyon ürünleri hidroperoksitlerdir ve kolaylıkla alkoksil radikallerine ($RO^{\bullet}$) parçalanmaktadırlar. Bunların lezzet ve koku bozulmasına bir etkisi bulunmamaktadır. Gıdaya istenmeyen tat ve kokuyu veren maddeler aldehit gibi sekonder oksidasyon ürünleridir (Şengün, 2001).

2.6. Antioksidanlar ve Antioksidan Aktivite

Gıdalarda antioksidanlar "çok az miktarları bile yağ gibi kolay okside olabilen maddelerin oksidasyonunu büyük ölçüde yavaşlatan veya önleyebilen maddeler" olarak tanımlanmaktadır. Biyolojik sistemlerde "çok düşük konsantrasyonlarda bile lipid, protein, DNA ve karbonhidrat gibi okside olabilen substrat ile karşılaştığında substratın oksidasyonunu geciktiren veya önleyen madde" olarak tanımlanmaktadır (Frankel ve Meyer, 2000).

Oksijene bağımlı biyolojik sistemlerde meydana gelen serbest radikaller ve diğer oksidanların (ROT), DNA ya da lipidler gibi biyolojik moleküller üzerine oksidatif hasarına karşı hücre içi ve dışı antioksidan aktivite söz konusudur (Gündüç, 2000). Bunlar; enzim sistemleri (superoksit dizmutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz enzimi vs.), vitaminler (E ve C vitaminleri), provitaminler (karotenoidler), ürik asit ve minerallerdir (çinko, demir, bakır, selenyum) (Velioğlu, 2000).

Antioksidanlar lipid oksidasyonunda serbest radikal içeren yağlara elektron veya hidrojen vererek veya yağ zinciri ile bir serbest radikal arasında kompleks oluşturarak serbest radikal zincirine son veren bileşikler olarak da tanımlanırlar (Kaur ve Kapoor, 2001; Yen ve Duh, 1994; Duh, 1998). Antioksidanlar, kendi elektronlarını vererek serbest radikalleri nötralize eder ve elektron verdikleri halde kendileri serbest radikallere dönüşmezler, çünkü antioksidanlar her iki formda da kararlıdırlar (Kaur ve Kapoor, 2001). Antioksidanlar gıda endüstrisinde oksidasyon prosesini geciktirmek için kullanılmaktadır (Brand-Williams, 1995).

Antioksidanlar çalışma mekanizmalarına göre dört grupta toplanabilir:

1. zincir kırıcılar (veya serbest radikal inhibitörleri),
2. singlet oksijen gidericiler,
3. metal inaktive ediciler (antioksidanların lipid oksidasyonunu katalizleyen bakır ve demir gibi metal iyonlarını bağlayan şelat yapıcılar)
4. oksidatif enzimleri inhibe ediciler

(Frankel ve Meyer, 2000; Kaur ve Kapoor, 2001; Yen ve Duh, 1994).

Antioksidanlar bir yere lokalize olmuş oksijen konsantrasyonunu azaltır, başlangıç radikallerini gidererek zincir reaksiyonların başlamasını önler, radikal oluşumunu önlemek için metal iyonları gibi katalistleri bağlar, peroksitleri bozar ve böylece yeniden radikale dönüşümlerini engeller ve zincir kırarlar (Shahidi ve ark., 1992).

2.6.1. Antioksidanların Etki Mekanizması

Zincirleme reaksiyon teorisine göre enerji emilimi ile aktive edilen madde (lipid molekülü) oksijenle birleşerek okside olmakta ve bu şekilde meydana gelen aktiflenmiş peroksit molekülleri enerjilerini maddenin okside olabilen başka moleküllerine aktarmakta ve otooksidasyon devam etmektedir. Antioksidanların kullanımı ile aktivasyon enerjisini antioksidan molekülü kullanmakta, bu enerjiyi başka moleküllere aktaramamaktadır. Antioksidan molekülünün araya girmesi ile oksidasyon yavaşlamış kısmen durdurulmuş olmaktadır (Şengün, 2001).

Ortamdaki oksijen aşırı olmadığında (sınırlandırılmış oksijen koşullarında) antioksidan (AH), lipid radikallerine ($R^{\bullet}$) hidrojen atomu bağışlar.

$$R^{\bullet} + AH \rightarrow RH + A^{\bullet} \qquad (1)$$

Hidroperoksitler alkoksil radikali ($RO^{\bullet}$) oluşturarak bozulurlar, böylece aldehit ve diğer bozulma ürünleri oluşur ve gıdalarda lezzet bozulmaları meydana gelir.

$$R_2 - \downarrow - CH(O^{\bullet}) - \downarrow - R_1 -$$

Aldehit + bozulma ürünleri

Antioksidanlar bu bozulma reaksiyonlarını alkoksil radikalleriyle reaksiyona girerek inhibe edebilirler. Kararlı hidroksi bileşiği oluşturmak için ya hidrojen verirler *(2)* ya da antioksidan radikali ile reaksiyona girerler *(3)*.

$$RO^{\bullet} + AH \rightarrow ROH + A^{\bullet} \qquad (2)$$

$$RO^{\bullet} + A^{\bullet} \rightarrow ROA \qquad (3)$$

Antioksidan (AH), atmosferik koşullarda hidrojen atomunu peroksil radikaline ($ROO^{\bullet}$) vererek radikal zincirini kırar. Atmosferik koşullarda $R^{\bullet}$'nin hava oksijeni ile hızlı reaksiyonu nedeniyle dört numaralı reaksiyon gıdalarda ve biyolojik sistemlerde daha yaygın olarak görülmektedir.

$$ROO^{\bullet} + AH \rightarrow ROOH + A^{\bullet} \qquad (4)$$

Scoot (1997), antioksidanları peroksil radikalleriyle reaksiyona giren elektron verici zincir kırıcılar (4) ve serbest lipid radikalleriyle reaksiyona giren elektron alıcı zincir kırıcılar (5) olarak tanımlamıştır.

$$R^{\bullet} + A^{\bullet} \rightarrow RA + R^{*} + AH \quad (5)$$

R^{*} yeni çift bağ içeren lipid molekülünü gösterir (Frankel ve Meyer, 2000).

2.6.2. Baharatların Antioksidan Aktivitesi

Bir çok baharat ve ekstraktı antioksidatif etkili bileşik içermektedir. Pek çok aromatik bitki ve baharat antioksidan özellikleri nedeniyle yağlarda ve yağlı gıdalarda lipit peroksidasyonunu geciktirmektedir (Kulisic ve ark., 2003). Antioksidatif etkisi kanıtlanmış biberiye (Inatani ve ark., 1983), adaçayı (Cuvelier ve ark., 1994), kekik (Miura ve Nakatani, 1989) ve yaz savory (Bertelsen ve ark., 1995) gibi baharatların özelliklerinin içerdikleri fenolik bileşiklerden kaynaklandığı teşhis edilmiştir (Madsen ve ark., 1996). Baharatların bu özellikleri içerdikleri vitamin, flavonoid, terpenoid, karotenoid, kumarin, kurkumin gibi bazı aktif fitokimyasallardan kaynaklanmaktadır. Fitokimyasallar, bitki ve bitki kökenli gıdalarda doğal olarak bulunan, besleyici özelliği olmayan kimyasallardır (Anon, 2003). Fitokimyasallar, biyokimyasal reaksiyonlarda kofaktör olarak, enzimatik reaksiyonlarda inhibitör olarak, bağırsaklarda istenmeyen bileşenleri bağlayan absorbantlar olarak, reaktiflerin ve toksik kimyasalların temizleyicileri olarak görev yapmaktadırlar. Başlıca fitokimyasallar; terpenoidler, fenolik bileşikler ve alkoloidlerdir (Dillard ve German, 2000). Fenolik bileşikler doğal antioksidanların önemli bir kısmını oluşturur ve birçok doğal ekstraktın antioksidan aktivitesi fenolik bileşiklerden kaynaklanmaktadır (St Angelo ve ark., 1990; Wang ve ark., 1995). Bitki fenolikleri ve polifenolik bileşikler insan diyetinde sebzelerde, meyvelerde, tahıllarda, çayda, kahvede, kırmızı şarapta, baharatlarda ve doğal baharat ekstraktlarında yaygın olarak bulunan bilşiklerdir (El-Alim ve ark., 1999). Flavonoidler antioksidan vitaminlerden daha güçlü antioksidandırlar (Duthie, 1999). Baharatların çoğunda flavonoid ve fenolik antioksidana rastlanmıştır (Justesen ve Knuthsen, 2001). Bu besin ögeleri nedeniyle baharat ve aromatik otlar yaşlanmayı geciktirme ve serbest radikallerin neden olduğu biyolojik doku bozulmalarını önlemede diyet veya ilaç tedavisi şeklinde esansiyel olarak kullanılmaktadır. Ayrıca biberiye ve adaçayı gibi bazı aromatik otlar dünya farmakoloji pazarının önemli bir kısmını oluşturan fitofarmakolojikler olarak sınıflandırılan ilaçların üretiminde kullanılmaktadır (Madsen ve ark., 1996; Kähkönen ve ark., 1999; Zheng ve Wang, 2001; Ng ve ark., 2000; Liu ve Ng, 2000).

Radikal giderici fenolik antioksidanlar (tokoferoller, gallik asit ve esterleri, polifenolik flavanoller, flavonoidler ve fenolik asitler) hidrojen bağışlama yeteneğine sahiptiler (Frankel ve Meyer, 2000).

Doğada değişik aktivitede antioksidan maddeler teşhis edilmiştir. Bunların antioksidan etkileri kimyasal yapılarında bulunan hidroksil gruplarıyla ilgilidir (Shahidi, 2000; Shahidi, 1992; Vekiari ve ark., 1993). Karnosol, quercetin, kafeik asit ve rosmarinik asit gibi pek çok uçucu olmayan bileşik iyi birer serbest radikal giderici olmakla birlikte esansiyel yağlarda bulunan bazı uçucu bileşikler de gıdaları korumada kullanılan doğal ajanlardır (Lagouri ve ark., 1993, Tsimidou ve Boskou, 1994).

Houhoula ve ark. (2003) tarafından yapılan bir çalışmada kekiğin, patates kızartmalarında kullanılan pamuk çekirdeği yağının oksidatif stabilitesi ve patates cipslerinin depolanma stabilitesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Kızartmalık yağlarda antioksidan kulanımının birinci nedeni, kızartma boyunca lipid oksidasyonunu yavaşlatmasıdır. Aynı zamanda antioksidanlar kızartılmış gıdanın depolanmasında oksidasyonu geciktirerek raf ömrünü uzatmakda önemli rol oynamaktadır. Houhoula ve ark. (2003) tarafından yapılan bu çalışmada kızartma işleminden önce kekik baharat olarak ve etanolik ekstraktı yağa 2 g/l konsantrasyonda eklenmiş ve çalışmanın sonunda baharat olarak kekiğin ve etanolik ekstraktının kızartma yağında p-anisidin (p-Av) değerini, konjuge dien, polar bileşikler, polimerize trigliseritler ve dimerik trigliseridlerin oluşum hızını düşürdüğü gözlenmiştir. İstatistiksel olarak kekiğin baharat olarak veya ekstraktının kullanımı arasında bir fark bulunamamıştır.

Şengün (2001) tarafından yapılan bir çalışmada, Süperkritik-CO_2 (SC-CO_2) ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen biberiye ekstraktlarının, ayçiçek yağındaki antioksidan aktivitesi araştırılmıştır. SC-CO_2 ile elde edilen biberiye ekstraktı, 5 farklı konsantrasyonda (% 0.02, % 0.05, % 0.1, % 0.2 ve % 0.3 (a/h)) ayçiçek yağına ilave edilmiş ve ayçiçek yağında gelişen oksidasyon 9 ay boyunca periyodik olarak yapılan analizlerle takip edilmiştir. Oksidasyon gelişimini gözlemek amacıyla hızlandırılmış oksidasyon (Ransimat Tayini), peroksit değeri tayini, p- Anisidin değeri tayini ve oksidasyon ürünlerinin spektrofotometrik analizi yapılmıştır. Sonuçta biberiye ekstraktlarının oksidasyonu büyük ölçüde yavaşlattığı, yani antioksidan aktivite gösterdiği görülmüştür.

Che Man ve Jaswir (2000) ile Che Man ve Tan (1999) adaçayı ve biberiye ekstraktlarının rafine edilmiş, ağartılmış ve kokusu giderilmiş palm yağında kızartma esnasında meydana gelen fizikokimyasal değişimler üzerine etkilerini araştırmışlardır. Sonuç olarak her iki baharatta yağın bozulmasını geciktirmiş ve patates cipslerinin raf ömrünü uzatmıştır.

Calucci ve ark. (2003) tarafından yapılan bir çalışmada, dokuz baharat ve aromatik ot örneği (fesleğen, kuş biberi, karabiber, tarçın, hindistancevizi, kekik, maydanoz, biberiye ve adaçayı) 10kGy dozunda γ-ışınlarıyla ışınlanmıştır. Işınlamanın örneklerin organik radikal ve bazı besin öğeleri üzerine etkisi kromatografik ve spektroskopik tekniklerle araştırılmıştır. Sonuç olarak ışınlanan tüm örnekler quinon radikal içeriğinde genel bir artış göstermiştir. Bu radikallerin 3 ay

depolamadan sonraki oranları da araştırılmıştır. Bazı örneklerde selüloz radikali gözlenmiştir. Karabiber, tarçın, Hindistan cevizi, kekik ve adaçayının toplam askorbat miktarında önemli bir kayıp gözlenmiş ayrıca tarçın, kekik, maydanoz, biberiye, kuş biberi ve adaçayının karotenoid miktarında da önemli bir azalma gözlenmiştir.

Javanmardi ve ark. (2003) tarafından yapılan çalışmada İran'da yetiştirilen 23 fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) örneklerinin antioksidan aktivitesi saptanmıştır. Toplam fenolik madde miktarı Folin Ciocalteu reaktifi kullanılarak spektrofotometrik teknikle saptanmış ve toplam fenolik madde içeriği 22,9-65,5 mg gallik asit/g kuru madde olarak hesaplanmıştır. Toplam antioksidan aktivite ise Trolox eşdeğeri cinsinden hesaplanmış ve 10,8-35,7 µM Trolox olarak bulunmuştur. Antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde içeriği arasında lineer ve pozitif bir ilişki saptanmıştır. Bu çalışmada İran fesleğenlerinin mutfakta ve medikal kullanımda güçlü bir radikal giderici ve önemli derecede antioksidan özelliğe sahip olduğu gözlenmiştir.

2.6.3. Antioksidanların İnsan Sağlığına Etkileri

Tüm kanserlerin %80-90'ının potansiyel olarak kontrol edilebilir nedenlerden oluştuğu ve %30-35'inin doğrudan diyetle ilgili olduğu düşünülmektedir. Bulunduğumuz ortam ve diyet ile vücuda karsinojenik maddeler alınmaktadır (Velioğlu, 2000). Fitokimyasallar karsinojenleri parçalayan enzimlerin üretimine yardım ederek hücre, doku ve organellerin bozulmasından sorumlu karsinojenleri durdurmaktadır (Kaur ve Kapoor, 2001). Normal bir hücrenin kanserleşmesi 3 aşamada gerçekleşmektedir. Bunlar başlangıç, gelişme ve son aşamadır. Bu aşamaların birinden diğerine geçişi karsinojen bileşikler indükler ve aşamalar arasındaki geçiş süreleri 10-30 yıl olabilir. Sürenin uzun olması ve geri dönüşümün söz konusu olması nedeniyle bu süreç gelişmeyi önleyici bileşikler açısından çok önemlidir. Kanser oluşturucu diyetetik ve çevresel faktörler, aktif oksijen ve süperoksit olarak adlandırılan radikalleri üretme kapasitesindendir. Bunların etkilerini ortadan kaldırmak için antioksidanlar üzerinde çok durulmaktadır (Velioğlu, 2000).

İnsan ölüm nedenlerinden biri de kardiyovasküler hastalıklardır. Krizlerde en önemli rol arterosklerozdan kaynaklanmaktadır. Burada sorun kan damarlarının iç kısmının (intima) kalınlaşmasıdır. Damar iç kısmının mekanik stres veya oksidatif zararlanma sonucunda tahrip olması ile arterosklerotik plaklar oluşmaya başlamaktadır. Bunu takiben aktive olmuş monositler ve makrofajlar oksijen radikali ve hidrojen peroksit üretmektedirler. Koroner kalp hastalıklarının yüksek kolesterol, yüksek tansiyon ve sigara gibi klasik risk faktörleri vardır. Temel çoklu doymamış yağ asitlerinin ve temel antioksidanların potansiyel olumlu etkileri vardır. Eğer serbest radikaller arterosklerozu başlatıyorsa veya bunun patolojisine etki ediyorsa, antioksidan alımı, özellikle de yağda çözünen ve zincir kırıcı antioksidanların alımı yararlı olabilir. Çoklu doymamış yağ asitlerinin

oksidasyonu sırasında oluşan radikallerin zararına karşı doğal antioksidanlar koroner kalp hastalıklarında koruyucu etki göstermektedirler (Velioğlu, 2000).

Merkezi sinir sisteminin travmatik, vasküler ve dejeneratif hastalıklarında; antioksidan savunma sistemindeki değişiklikleri araştıran çok sayıda çalışma yapılmıştır. Son yıllarda serbest radikal metabolizmasında bozukluğun veya antioksidan savunma sistemindeki yetersizliğin, şizofreninin patolojisi, kliniği ve seyrinde de önemli rolleri olduğu ileri sürülmektedir. Beyin; oksijen tüketiminin fazla olması, kolaylıkla peroksitlenebilen fosfolipidlerin yüksek oranda bulunması ve nöronların yenilenememesi gibi sebeplerle serbest radikal hasarına özellikle duyarlıdır (Derin ve ark., 2001). Nörodejeneratif hastalıklar oksidatif mekanizma içermektedirler. Örneğin insan beyninde substantia nigra (orta beyinde yer alan basal ganglion olarak sınıflandırılan ve vücudun motor fonksiyonunda rol alan çekirdek) demirce zengindir. Beyin travma veya işemia (felç esnasında olur) tarafından zarar gördüğünde, hücre ölümü başlar ve demir iyonları serbest kalır. Bu demir iyonları çevredeki serbest radikal reaksiyonlarını teşvik eder ve yıkımın artmasını sağlar. Parkinson hastalığına substantia nigradaki hücrelerin ölümü neden olur. Parkinson hastalarının oksidatif baskı altında olduğu ve serbest radikal reaksiyonlarının substantia nigranın yıkılmasına katkıda bulunduğu hususunda kanıtlar bulunmaktadır (Doğan, 2002).

Yaşlanma, hücre, doku ve organ dejenerasyonu ile ilişkilidir ve bu dejenerasyonlar sonucu kanser, kardiyovasküler hastalıklar, katarakt, Alzeimer ve böbrek yetmezliği gibi hastalıklar oluşabilmektedir. Birçok bilim adamı yaşlanma ile oluşan doku ve organ dejenerasyonunun nedenlerini araştırmakta ve yaşla fizyolojik olaylar arası ilişkiyi saptamaya çalışmaktadır. Oksijence zengin bir ortamda yapılan solunum sırasında serbest radikallerin oluştuğu, bunların yaşlanmaya ve sonuçta ölüme sebep olduğu öne sürülmüştür. Yaşlanma ile insan vücudunda demir miktarının arttığı ve yüksek oksijen kısmi basıncında bu metalin oksidatif tepkimeleri hızlandırdığı bulunmuştur. Vücutta üretilen oksijen radikallerinin çok yönlü hasarlara neden olduğu artık kesin olarak bilinmektedir. Bu radikaller hücre zarlarının temel yapısında bulunan lipidleri, proteinleri, proteinlerdeki -SH gruplarını yükseltger, -S-S- gruplarını indirger, protein-protein çapraz bağlantıları oluşturur, peptidleri parçalar, aldehitlerle reaksiyona girer, özellikle aktif merkezlerinde Fe-S bulunan enzimleri inaktive ederler. Nükleik asitlere de etki ederek temel yapıdaki çifte sarmalın kırılmasına, yeni baz ve şeker gruplarının eklenmesine ve moleküller arası çapraz bağlanmalara, yani büyük hasarlara neden olurlar. Hücre hasarı hızı, reaktif oksijen radikallerinin üretim hızı, bunların ortamdan atılma hızı ve hasar tamir hızına bağlıdır. Oksidatif hasar hızı arttıkça da yaşam süresi azalır. O halde radikal oluşturucu ve oksidatif hasar yapıcı etken ve maddelerin ortamdan uzaklaştırılması ile vücutta radikaller ve bunların sebep olduğu hasarlar azaltılarak yaşam süresi artırılabilir. Diyetetik kısıtlamanın veya bir başka deyişle bilinçli beslenmenin bir sonucu olarak serbest radikal oluşumu ve bu radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonu azaltılabilir. Sonuçta

DNA ve sitosolik (hücresel) savunma sistemi daha az zarar görür, yaşlanma yavaşlar (Doğan, 2002).

Sağlıklı insanlarda bağışıklık hücreleri ve bunların salgıları ile patojenler tahrip edilirler. Bağışıklık sistemi, vücut hücrelerini kansere dönüşebilecek değişimlere karşı korur. Bağışıklık sisteminde, yapısı değişmiş hücreler işgalci olarak tanımlanır ve yok edilir. Bağışıklık sisteminin bazı hücreleri serbest radikal ve reaktif oksijen üretir ve bunu kullanır. Ancak bu reaktif türler gereğinden fazla üretilirse kendisini ve komşu hücre ve dokuları da tahrip edebilir. İnsan bağışıklık sisteminin iyi çalışması antioksidan olarak etki edebilecek mikronutrientlerin vücuda alımına bağlıdır. Bazı çevresel faktörler bağışıklık fonksiyonunu azaltabilir. Bunlar arasında daha önce sayıldığı üzere UV ışık, sigara dumanı, çevre kirliliği, bazı ilaç ve ksenobiyotiklerin metabolizması gelir. Antioksidanlar bağışıklık sisteminin düzeninde önemli bir bileşendir. Sentetik antioksidanlar ve antioksidan ilaçların yan etkileri söz konusudur. Doğal antioksidanlar ise vücutta rahatlıkla tolere edilebilirler ve uzun süreli kullanımda herhangi bir yan etki oluşturmamaktadırlar (Velioğlu, 2000). Bilim adamları E vitamini ve β-karoten gibi antioksidanların hastalarda bağışıklık sistemi düzensizliklerinin başlangıç aşamalarını, enfeksiyon ve klinik semptomların görülmesi arasındaki süreyi uzatarak geciktirdiklerini belirtmişlerdir. HIV bulaşmasında ve AIDS görülmesinde antioksidanlar ilaçların toksisitesini azaltmakta ve HIV virüsünün ilaca karşı direncinin azalmasına yardımcı olmaktadırlar (Kaur ve Kapoor, 2001).

2.6.4. Antioksidan Aktivitenin Saptanması

Gıdalarda ve biyolojik sistemlerde bulunan doğal antioksidanların fonksiyonları ve yararlarına olan ilginin artmasıyla birlikte antioksidan aktivitenin saptanmasına yönelik çalışmalar ve kullanılan yöntemler de ilgi çekmeye başlamıştır. Antioksidan testleri için kullanılan pek çok metod olmasına rağmen onaylanmış standard bir metod bulunmamaktadır. Gıdalarda ve biyolojik sistemlerde standard koşullarda lipid veya lipoprotein substratlarının oksidasyonundan yola çıkarak antioksidan testleri kullanılmaktadır. Bu yöntemlerde oksidasyonun ne kadarının önlendiği saptanarak antioksidan aktivite tayin edilmektedir (Frankel ve Meyer, 2000).

Antioksidanlar, lipit oksidasyonu boyunca metal iyonlarını bağlayarak, radikalleri gidererek ve peroksitleri bozarak değişik şekillerde hareket ederek oksidasyonu durdurmakta veya önlemektedirler. Her antioksidanın etki mekanizması farklıdır ve dolayısıyla analiz mekanizması da farklı olmaktadır (Aruoma, 1998; Aruoma, 1999).

Okside olmuş bir organik bileşikte bulunan oksijen perokside dönüşmektedir. Oluşan peroksidi saptamak için genelde geleneksel metod olarak peroksit değeri veya PV (örneğin kilogramında

bulunan peroksidin miliequvalan değeri) saptanmaktadır. Peroksit değeri spektroskopik, polarografik veya kromatografik metodlarla da doğrudan ölçülebilmektedir. Spektroskopik ve kolorimetrik yöntemler kuvvetli absorban maddelerinin oluşumuna dayanmaktadır. Metodların birinde ferro (Fe^{+2}) tuzu ferrik (Fe^{+3}) türlere okside olarak peroksitlerin yetenekleri saptanmaktadır. Bu metodlar iodimetreye karşı duyarlıdırlar fakat özellikle havalandırılmış sistemlerde büyük hatalara neden olurlar. Spesifik Fe^{+3} kompleks bileşenleri (tiyosiyanat, o-fenantrolin, vs.) eklenmesi bu metodların duyarlılığını arttırmaktadır (Larson, 1997).

2.6.4.1. DPPH• Radikalini Giderme

DPPH• radikali (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), fenolik antioksidanların aktivitesi ile ilgili çalışmalarda kullanılan önemli bir sentetik radikaldir. Bu radikal antioksidan (AH) tarafından indirgenen oksidasyon radikali olarak görev yapar.

$$DPPH^{\bullet} + AH \rightarrow DPPH\text{-}H + A^{\bullet}$$

DPPH• radikalinin azalması 515 nm'de absorbansın düşmesiyle gözlenmektedir. Absorbansın sabitlenmesi 20 dak'dan 6 saate kadar değişebilir (Brand-Williams ve ark. 1995).

2.6.4.2. Şelat Yapma

Metal iyonları çok az miktarda hidroperoksit varlığında gıdalarda ve biyolojik sistemlerde lipid oksidasyonunu başlatmaktadır. Cu ve Fe gibi geçiş metalleri üç veya daha fazla çift bağ içeren çoklu doymamış lipidlerde önemli olan hidroperoksitlerin bozulmasını katalizler. Metal şelatörleri geçiş metalleriyle kompleks yaparak önleyici antioksidan olarak görev yaparlar. Böylece metallerin katalizlediği başlangıç reaksiyonlarını ve lipid hidroperoksitlerinin bozulmasını önlemiş olurlar (Frankel ve Meyer, 2000).

2.6.4.3. TRAP Yöntemi

Toplam radikal önleme değeri (Total Radical Trapping Parameter) yöntemi plasma veya serumlarda toplam antioksidan kapasiteyi ölçmek için geliştirilmiştir. Bu yöntemde 2,2'-azobis(2-amidinopropane)hydrochlorid (ABAP) tarafından oluşturulan peroksil radikali kullanılmaktadır. Antioksidan kapasite suda çözünen bir E vitamini analoğu olan Troloksun antioksidan aktivitesi ile karşılaştırılarak, Troloks eşdeğeri şeklinde hesaplanmaktadır (Frankel ve Meyer, 2000).

2.6.4.4. Süperoksit Anyon Gidericiler

Süperoksit radikal anyonu ($O_2^{\bullet -}$) lipit oksidasyonunu tek başına başlatamasa da bu yöntem antioksidan aktivite tayininde kullanılmaktadır. Metal iyonları varlığında Fenton reaksiyonu sonucu aşırı reaktif hidroksil radikali, $^{\bullet}OH$, oluşabilmektedir. Aşırı reaktif olan bu anyonu giderme aktivitesi antioksidan aktivite için önemli bir parametredir. Ancak lipit oksidasyonunu önlemek için $O_2^{\bullet -}$ gidermek tek başına yeterli değildir (Meyer ve ark., 1994, Constantino ve ark., 1992).

2.6.4.5. TEAC Yöntemi

H_2O_2 varlığında metmiyoglobinin peroksidaz aktivitesi sonucu oluşan 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonat) ($ABTS^{\bullet +}$) radikali spektrofotometrik olarak 734 nm'de saptanabilmektedir. $ABTS^{\bullet +}$ oluşmadan ortama ilave edilen antioksidan hidrojen peroksidin radikal oluşturmasını engellemekte ve antioksidan aktivite saptanmaktadır. TEAC değeri Troloks (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkromon-2-karboksilik asit) eşdeğeri cinsinden verilmektedir (Miller ve ark., 1995).

2.6.4.6. ORAC Yöntemi

Oksijen radikali absorbsiyon kapasitesi (ORAC) yönteminde hidroksil veya peroksil radikaline karşı antioksidanların sağladığı koruma yetenekleri ölçülmektedir. Bu yöntemde farklı serbest radikal üreticileri veya oksidanlar kullanılabilmektedir. Peroksil radikali, en sık kullanılan ve vücutta yaygın olarak bulunan bir radikaldir. Bu yöntemin diğer yöntemlerden farkı, serbest radikallerin antioksidanlar tarafından hem inhibisyon süresi hem de inhibisyon derecesi saptanabilmektedir. Diğer yöntemler, belli bir inhibisyon derecesindeki inhibisyon süresini veya belli bir inhibisyon süresindeki inhibisyon derecesini vermektedir (Wang ve ark., 1996, Kaur ve Kapoor, 2001).

ORAC yöntemi COBAS FARA II santrifüjlü analiz cihazı kullanılarak yapılmaktadır. Bu yöntemde serbest radikal olarak 2,2'-azobis(2-amidinopropane)dihydrochloride (AAPH) ile birlikte R- veya β-phycorerythrin kullanılmaktadır. Peroksil ve hidroksil radikalleri oluşturmak amacıyla sırasıyla Cu^{+2} ve H_2O_2 kullanılmaktadır. Suda çözünebilen E vitamini analoğu olan Troloks antioksidan standardı olarak kullanılmakta ve ORAC değeri Troloks eşdeğeri cinsinden verilmektedir (Kaur ve Kapoor, 2001).

2.6.4.7. FRAP Yöntemi

Antioksidanların ferrik indirgeme gücü (FRAP) yöntemi, antioksidanın düşük pH'da ferrik tripyridyl triazine kompleksini (Fe^{+3}–TPTZ) ferro kompleksine (Fe^{+2}–TPTZ) indirgeme kabiliyetine bakılmaktadır. Oluşan mavi renk spektrofotometrik olarak 593 nm'de ölçülmektedir. Absorbans ile antioksidanların toplam indirgeme gücü arasında lineer bir ilişki bulunmaktadır. Bu yöntemin dezavantajı hesaplanan indirgeme kapasitesinin direkt antioksidan aktiviteyi yansıtmamasıdır. Eğer substrat okside olabilecek bir bileşen içermiyorsa antioksidanın koruyucu özelliği ile ilgili bilgi sağlanamamaktadır (Frankel ve Meyer 2000).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Araştırma materyalleri olarak Safe Spice firmasından temin edilen kuru, ayıklanmış ve öğütülmüş, direkt baharat olarak kullanıma hazır kekik (*Origanum vulgaris* L.), adaçayı (*Salvia officinalis* L.) ve fesleğen (*Thymus vulgaris* L.) kullanılmıştır. Her baharat çeşidinden işlem görmemiş (kontrol), buharla, etilen oksitle ve gama radyasyonu ile sterilize edilmiş olmak üzere toplam dört farklı materyal kullanılmıştır.

Kekik, adaçayı ve fesleğen örneklerinin buharla sterilize edilme işlemleri Safe Spice firmasında gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla pamuklu kumaştan yapılmış torbalara baharatlardan birer kg konularak ağızları dikilmiştir. Kapalı ve kesikli sistem çalışan tünelde buhar verilerek ve vakum uygulanarak örnekler sterilize edilmiştir. Bu esnada örneklere uygulanan sıcaklık 100-102°C ve süre 20 dakika olarak tespit edilmiştir.

Etilen oksitle sterilizasyon işlemi de yine Safe Spice firması tarafından gerçekleştirilmiştir. Pamuklu çuvallarda birer kg olarak hazırlanan baharat örnekleri kapalı bir kabinde etilen oksit gazı verilerek sterilize edilmiştir.

Gama ışınları ile sterilizasyon işlemi Türkiye Atom Enerjisi Kurumunda yaptırılmıştır. Örnekler 500 g'lık polietilen ambalajlara konularak ağızları ısı ile kapatılmıştır. Işınlama işlemi Co^{60} güç kaynaklı laboratuvar tipi cihazda 10 kGy dozda yapılmıştır.

Baharat örnekleri çalışma süresince buzdolabı sıcaklığında (+4°C) ve karanlıkta saklanmıştır. Çalışma iki tekrar ve iki paralel şeklinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmada örneklere uygulanan sterilizasyon işlemleri kısaca şu şekilde ifade edilmiştir:

Kontrol : Herhangi bir sterilizasyon işlemi uygulanmamış örnekleri
Gama : Gama ışınları ile ışınlanmış örnekleri,
Buhar : Buharla sterilize edilmiş örnekleri,
Etilen oksit : Etilen gazı ile sterilize edilmiş örnekleri ifade etmektedirler.

3.2. Kullanılan Kimyasallar

Mikrobiyolojik analizde kullanılan kimyasallar:
- Peptonlu Su (Carlo Erba)
- Plate Count Agar, PCA (Merck)

Nem tayininde kullanılan kimyasallar:
-Toluen (Carlo Erba)

Ekstraksiyon için kullanılan kimyasallar:
- Metanol (Carlo Erba Reagent)

Toplam fenolik madde analizinde kullanılan kimyasallar:
- Gallik asit standardı (Fluka)
- Folin Ciocalteu Reaktifi (Merck)
- Sodyum karbonat, Na_2CO_3 (Fluka)

DPPH$^{\bullet}$ radikalini giderme aktivitesi tayininde kullanılan kimyasallar:
- 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil, DPPH$^{\bullet}$ radikali (Fluka)

Fe^{+2} ile şelat yapma aktivitesi tayininde kullanılan kimyasallar:
- Demir (II) klorür, $FeCl_2$ (GPR^{TM})
- 3,2-(pyridyl)-5,6-bis(4-phenylsulfonicacid)-1,2,4-tyrazine, ferrozin (Fluka)

Hidrojen Peroksit giderme aktivitesi tayininde kullanılan kimyasallar:
- H_2O_2 (%35, Merck)
- Fosfat tamponu pH 7 (Oxoid)

İndirgeme gücü tayininde kullanılan kimyasallar:
- Potasyum ferrisiyanid, $[K_3Fe(CN)_6]$ (Merck)
- Trikloro asetikasit, TCA (Merck)
- Demir (III) klorür, $FeCl_3$ (Merck)

3.3. Metot

3.3.1. Nem Tayini

Yöntem, su ile karışmayan organik bir çözücü kullanılarak, suyun damıtma ile alınıp dereceli bölümde toplanması ve miktarının belirlenmesi ilkesine dayanmaktadır. Bunun için az miktarda su ile çalkalanarak doyurulmuş damıtılmış toluen kullanılmıştır.

Balona 40 g deney numunesi alınmış ve üzerine yaklaşık 75 mL toluen ilave edilmiştir. İlave edilen çözücünün örneği örtmesine dikkat edilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi cihazın parçaları

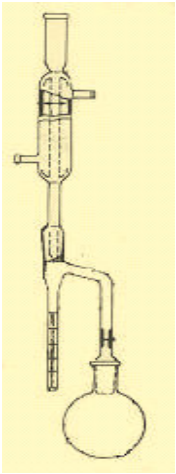
yerleştirilmiştir. Dereceli boru, fazlası balona akana kadar çözücü ile doldurulmuştur. Geri soğutucunun tepesine bir pamuk gevşek olacak şekilde yerleştirilmiş ve balon, damıtma hızı dakikada 100 damla olacak şekilde ısıtılmıştır. Suyun büyük bir kısmı toplandıktan sonra damıtma hızı 200 damla olacak şekilde ısıtıcının sıcaklığı arttırılmış ve bu işleme artık taksimatlı boruda toplanan su seviyesi artmayıncaya kadar devam edilmiştir. Geri soğutucunun çeperlerinde kalan nemi toplamak için geri soğutucunun içerisi yaklaşık 5 mL toluen ile yıkanmış ve geri soğutucunun tepesinden sokulan bakır tel yardımı ile dereceli kabin içinde toplanan suyun toluenden ayrılarak dibe toplanmasi sağlanmıştır. Su seviyesi değişmeyinceye kadar damıtma işlemi sürdürülmüş ve ısıtıcı kapatılmıştır.

Dereceli kısım oda sıcaklıgında su içerisine daldırılmış ve çözücü berraklaşana kadar bekletilmiştir. Sonra dereceli kısımdakı suyun hacmi ölçülmüştür . Baharatların nem miktarları aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır;

Nem % = (V/m) x100

V = Toplanan su, mL

m = Alınan örnek numunesi, g



3.3.2. Toplam Canlı Sayımı

Baharatlarda mikrobiyolojik analiz ASTA (American Spice Trade Association)'nın mikrobiyolojik metotlar standardında yer alan toplam canlı sayımı metoduna göre yapılmıştır (Anon., 1976). Bunun için 10 g baharat örneği aseptik olarak tartılmış ve 90 ml peptonlu suya aktarılarak iyice çalkalanmıştır. Bu şekilde hazırlanan 10^{-1}'lik dilüsyondan 9 ml'lik peptonlu su kullanılarak gerekli diğer dilusyonlar hazırlanmıştır**.** Her bir dilüsyondan çift paralelli olarak steril petri kaplarına 1'er ml aktarılıp üzerine daha önceden steril edilmiş 45-50°C'lik su banyosunda bekletilen Plate Count Agar (PCA) besiyeri (yaklaşık 15-20 ml) dökülerek inokülüm ve besiyeri karıştırılmıştır. Petriler inkübatörde 30°C'da 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır (Ünlütürk ve Turantaş, 2002).

3.3.3. Örnek Ekstraktlarının Hazırlanması

Ekstraksiyon hazırlama metodu olarak El ve Karakaya (2004)'nın kullandığı metod modifiye edilmiştir. Bunun için iki buçuk gram baharat 50 ml'lik behere tartılarak üzerine 20 ml metanol ilave edilmiş, 5 dak. Ultra-Turrax (IKA-Ultra Turrax® T25) ile parçalanmış ve ağzı kapatılarak 5 dak. bekletildikten sonra üstteki süzüntü süzgeç kağıdından (595, S&S) süzülmüştür. Beherde kalan baharat parçalarının üzerine 10 ml. metanol eklenmiş ve yeniden parçalama-bekletme-süzme işlemlerinden geçirilmiştir. Bu işlemler toplam 40 ml metanol kullanılacak şekilde tekrarlanmış ve kalan 10 ml metanol ile Ultra-Turrax yıkanarak metanol ekstraktın içine aktarılmıştır. En son ekstrakt da süzüldükten sonra süzüntü soğutmalı santrifüj (Hettich Zentrifugen-Universal 32R) ile +4°C'da 5 dak. 3600 rpm santrifüj edilerek süzgeç kağıdından (Mavi Bant No 589) süzülmüş ve hacim 50 ml' ye tamamlanmıştır. Ekstraktlar iki paralel olarak hazırlanmıştır.

3.3.4. Toplam Fenolik Madde

Toplam fenolik madde miktarı Gallik asit eşdeğeri (GAE) cinsinden saptanmıştır (Singleton ve ark., 1999). Bunun için 50 mg/ml'lik stok ekstraktlardan kapaklı deney tüplerine 2,5-20 mg/ml'lik dilüsyonlar metanol kullanılarak hazırlanmış ve hazırlanan dilüsyonlardan 0,1 ml, 10 ml'lik deney tüplerine aktarılarak üzerine 0,5 ml Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiştir. Yaklaşık 1 dak. sonra 1,5 ml %20'lik Na_2CO_3 eklenmiş ve hacim saf suyla 10 ml'ye tamamlanmıştır. Tüpler 1 saat 25°C'da inkübe edildikten sonra spektrofotometrede (Shimadzu UV-1601) 760 nm'de absorbansları ölçülmüştür. Spektrofotometreyi sıfırlama çözeltisi olarak örnek içermeyen kör çözelti hazırlanmıştır.

Aynı zamanda günlük olarak değişik konsantrasyonlarda hazırlanan gallik asit çözeltileriyle Gallik Asit Standard Eğrisi hazırlanmış ve ekstraktların toplam fenolik madde miktarı mg GAE/g ekstrakt cinsinden hesaplanmıştır. Deneyler iki paralel olarak tekrarlanmıştır.

3.3.5. Serbest radikal giderme etkisinin saptanması

Elde edilen ekstraktların ortama ilave edilen 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil ($DPPH^{\bullet}$) radikalini giderme etkisini saptamak için Brand-Williams ve ark. (1995) ve Parejo ve ark. (2000) tarafından tanımlanan yöntemler modifiye edilerek kullanılmıştır. Bu amaçla, elde edilen ekstraktlardan metanol ile 0,4-5 mg/ml arasında en az 5 adet dilüsyon hazırlanmıştır. Her bir dilüsyondan 0,1 ml alınarak üzerine 3,9 ml 6×10^{-5} M metanolle hazırlanmış $DPPH^{\bullet}$ çözeltisi eklenmiş ve iyice karıştırıldıktan sonra örneklerin reaksiyonu sabitlenene kadar karanlıkta ve oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bekletme süresi kullanılan örneğe göre 10-20 dak. ile 6 saat arasında değişmektedir. Daha sonra

spektrofotometrede 515 nm'de absorbansları ölçülmüştür. Spektrofotometre metanol ile sıfırlanmıştır. Örneksiz $DPPH^{\bullet}$ radikalinin absorbansının okunması kontrol okumadır ve bu okuma günlük yapılmıştır. Deney iki paralel olarak tekrarlanmıştır.

$DPPH^{\bullet}$ (6 x 10^{-5} M) stok çözeltisinden yedi farklı konsantrasyonda hazırlanan seri çözeltilerin 515 nm'de absorbansları okunarak konsatrasyonlara karşı absorbansların lineer regresyon denklemi oluşturulmuştur.
Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan örnek serilerinin okunan absorbans değerlerine karşılık gelen arta kalan $DPPH^{\bullet}$ konsantrasyonları hesaplanmış ve buradan da arta kalan $DPPH^{\bullet}$ yüzdesi:

$$\% \text{ arta kalan } DPPH^{\bullet} = [DPPH^{\bullet}]_{örnek} / [DPPH^{\bullet}]_{kontrol} \times 100$$ eşitliği ile hesaplanmıştır.

Arta kalan $DPPH^{\bullet}$ yüzdesi ile deney ortamındaki örnek miktarının $DPPH^{\bullet}$ miktarına oranı (mg örnek/mg $DPPH^{\bullet}$) arasında lineer regresyon denklemi oluşturulmuş ve bu denklemden yararlanılarak kekik, adaçayı ve fesleğen için başlangıçtaki $DPPH^{\bullet}$ konsatrasyonunu %50 azaltan örnek konsantrasyonu (efficient concentration = EC_{50}) değerleri saptanmıştır. Buradan da $1/EC_{50}$ değeri yani antiradikal aktivite (AE) hesaplanmıştır.

3.3.6. Fe^{+2} ile şelat yapma aktivitesinin saptanması

Örneklerin Fe^{+2} ile şelat yapma aktivitesini saptamada Rival ve ark. (2001) ve Duh ve ark. (2001) tarafından uygulanan yöntemler modifiye edilerek kullanılmıştır. Bunun için 0-50 mg/ml arasında değişen farklı konsantrasyonlarda hazırlanan örnek ekstraktlarından 1 ml alınmış ve 3,7 ml deiyonize su ile karıştırılmıştır. Üzerine 0,1 ml 2 mM $FeCl_2$ çözeltisi eklenmiş, iyice karıştırılarak 70 dak. karanlıkta ve oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra 0,2 ml 5 mM ferrozin (3,2-(pyridyl)-5,6-bis(4-phenylsulfonicacid)-1,2,4-tyrazine) eklenerek tekrar karıştırılmış ve 10 dak. sonra oluşan Fe^{+2}- ferrozin kompleksinin absorbansı 562 nm'de ölçülmüştür. Kontrol okumada örnek yerine 1 ml su kullanılmıştır. Deneyler iki paralel olarak tekrarlanmıştır. Örneklerin Fe^{+2} ile şelat yapma kapasitesi aşağıdaki denklem ile hesaplanmışır (Yen ve Wu 1999):

% şelat yapma aktivitesi = [1- (örnek absorbansı / kontrolün absorbansı)] x 100

3.3.7. H_2O_2 giderme etkisinin saptanması

Baharat ve bitki ekstraktlarının H_2O_2 giderme yeteneği spektrofotometrik olarak saptanabilmektedir (Ruch ve ark. 1989, El ve Karakaya, 2004). Bunun için 1 ml (2-10 mg/ml) ekstrakt, 2,4 ml 0,1 M fosfat tamponu (pH 7) ve 0,6 ml aynı tamponda hazırlanmış 43 mM H_2O_2 ile karıştırılmış ve 60 dak.

sonra 230 nm'de karışımın absorbansı ölçülmüştür. Her örnek konsantrasyonu için H_2O_2 içermeyen kör çözelti hazırlanmıştır. Ortamdaki reaksiyona girmemiş H_2O_2 (mM) konsantrasyonunu saptamak için lineer regresyon denklemi kullanılmıştır. Bunun için 3,4 ml fosfat tamponuna 0,6 ml 10, 15, 25, 43 ve 50 mM H_2O_2 çözeltisi eklenmiş ve 230 nm'de absorbansları ölçülmüş, konsantrasyona karşı absorbansların grafiği çizilerek lineer regresyon denklemi oluşturulmuştur.

Örneklerin H_2O_2 giderme kapasitesi aşağıdaki denklemle hesaplanmıştır:

$$H_2O_2 \text{ giderme kapasitesi (\%)} = [1 - (\frac{\text{örnekte bulunan } H_2O_2 \text{ konsantrasyonu}}{\text{kontrolün } H_2O_2 \text{ konsantrasyonu}})] \times 100$$

Deneyler iki paralel olarak tekrarlanmıştır.

3.3.8. İndirgeme Gücü

Baharat ve bitki ekstraktlarının demir (III)'i (Fe^{+3}') demir (II)'e (Fe^{+2}) indirgeme aktivitesi spektrofotometrik olarak, Perl's Prusya renginde kompleks oluşumu sonucu saptanabilmektedir (Yıldırım ve ark., 2000). Bunun için 1 ml (0,5-2,5 mg/ml) ekstrakt, 2,5 ml fosfat tamponu (0,2 M, pH 7) ve 2,5 ml %1'lik (w/v) $[K_3Fe(CN)_6]$ karıştırılmış ve 50°C'da 30 dak. inkübe edildikten sonra 2,5 ml (%10, w/v) TCA eklenerek karışım 10 dak. (1800 rpm) santrifüj edilmiştir. Daha sonra üstteki fazdan 2,5 ml alınarak 2,5 ml su ve 0,5 ml (%0,1 w/v) $FeCl_3$ eklenmiş ve 700 nm'deki absorbansları kaydedilmiştir. Örnek içermeyen kör çözelti hazırlanmış ve spektrofotometreyi sıfırlamak için kullanılmıştır. Çözeltilerin absorbans değerleri düştükçe indirgeme gücü de düşmektedir. En az absorbans değerine sahip olan örnek en düşük indirgeme gücüne sahiptir. Deneyler iki paralel olarak tekrarlanmıştır.

3.3.9. Renk Analizi

Baharatlarda renk analizleri Minolta CR 300 serisi renk ölçer ve CR 310 ölçüm kafası kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Anon, 1991). Cihazda okunan L, a, b değerleri 5 ölçüm ortalamasıdır.

3.3.10. İstatistiksel Analiz

Bu tez çalışmasında SAS İstatistik Programı ve Tamamen Rastgele Dizayn (Completely Randomized Design) kullanılmıştır. Elde edilen tüm verilerin LSD ve P değerlerine bakılarak istatistiksel olarak karşılaştırma yapılmıştır (SAS, 1999).

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1. Nem Tayini

Buharla, etilen oksitle ve gama ışınlarıyla sterilize edilen kekik, adaçayı ve fesleğen örnekleri ile işlem görmemiş kontrol baharat örneklerinin nem sonuçları Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Kekik örnekleri içinde en fazla neme sahip örnek gama ışınları ile sterilize edilen örnekler (% 10,9 ± 0,5) olmuştur. Bunu sırasıyla buharla sterilize edilen örnekler (% 9,1 ± 0,2) ve etilen oksit ile sterilize edilen örnekler (% 6,9 ± 0,5) takip etmiştir.

Adaçayı örnekleri içinde en fazla neme sahip örnek yine kekikte olduğu gibi gama ışınları ile sterilize edilen adaçayı (% 9,3 ± 0,0) olmuştur. Bunu sırasıyla etilen oksit ile sterilize edilen adaçayları (% 6,9 ± 0,2) ve buharla sterilize edilen adaçayı örnekleri (% 6,5 ± 0,4) izlemiştir.

Fesleğen örnekleri içinde en yüksek neme sahip örnek gama ışınları ile sterilize edilen fesleğen (% 10,5 ± 0,4), sonra buharla sterilize edilen fesleğen (% 9,9 ± 0,5) örnekleri olmuştur. En düşük neme sahip olan fesleğen örneği ise etilen oksitle sterilize edilen fesleğen (% 8,6 ± 0,2) örnekleri olmuştur.

Çizelge 4.1. Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş baharat örneklerinin nem içerikleri (%)

ÖRNEK	NEM (%) ± SD[1]
Kontrol Kekik	9,0 ± 0,4
Gama Kekik	10,9 ± 0,5
Buhar Kekik	9,1 ± 0,2
Etilen oksit Kekik	6,9 ± 0,5
Kontrol Adaçayı	7,1 ± 0,2
Gama Adaçayı	9,3 ± 0,0
Etilen Oksit Adaçayı	6,9 ± 0,2
Buhar Adaçayı	6,5 ± 0,4
Kontrol Fesleğen	11,0 ± 0,7
Gama Fesleğen	10,5 ± 0,4
Buhar Fesleğen	9,9 ± 0,5
Etilen Oksit Fesleğen	8,6 ± 0,2

[1] Standard Sapma

Bu çalışmada örneklerin nem değerleri antioksidan aktiviteyi hesaplarken elde edilen sonuçların kuru madde üzerinden değerlendirilmesinde kullanılmıştır. Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş ve işlem görmemiş kontrol örneklerinin hepsi Safe Spice firmasından alınmış, işlem görmemişler pamuk çuval ve naylon poşetlerde saklanmış, buharla sterilize edilecek örnekler pamuk çuvallarda sterilize edilmek üzere Safe Spice firmasında bırakılmış, etilen oksitle sterilize edilecek örnekler Safe Spice firmasının başka bir işletmesine gönderilmiş ve gama ışınları ile sterilize edilecek örnekler ise polietilen poşetlerde paketlenip Türkiye Atom Enerjisi Kurumuna gönderilmiştir. Kısacası farklı şekillerde sterilize edilen örnekler farklı ortamlarda kontrolümüz dışında depolanmıştır. Dolayısıyla her baharatın nem içerikleri birbirinden bağımsız olarak artmış veya azalmıştır.

4.2. Toplam Canlı Sayımı

İşlem görmemiş (kontrol) ve buharla, gama ışınlarıyla ve etilen oksitle sterilize edilmiş adaçayı, kekik ve fesleğen örneklerinde yapılan toplam canlı sayımının sonuçları Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş baharatların toplam canlı sayısı (kob/g)[*]

ÖRNEK	kob/g ± SD	P Değeri
Kontrol Kekik	$4{,}8.10^{2} \pm 28{,}3^{a}$	< 0,0001
Etilen oksit Kekik	$1.10^{2} \pm 0{,}0^{b}$	
Buhar Kekik	$8{,}5.10^{1} \pm 7{,}1^{b}$	
Gama Kekik	$1.10^{1} \pm 0{,}0^{c}$	
Kontrol Adaçayı	$7{,}8.10^{2} \pm 99{,}0^{a}$	0,0003
Buhar Adaçayı	$7{,}5.10^{1} \pm 14{,}1^{b}$	
Etilen Oksit Adaçayı	$3{,}3.10^{1} \pm 3{,}5^{b}$	
Gama Adaçayı	$2.10^{1} \pm 0{,}0^{b}$	
Kontrol Fesleğen	$2{,}9.10^{4} \pm 6363{,}0^{a}$	0,002
Buhar Fesleğen	$3{,}2.10^{2} \pm 200{,}0^{b}$	
Gama Fesleğen	$2.10^{2} \pm 0{,}0^{b}$	
Etilen Oksit Fesleğen	$1.10^{1} \pm 0{,}0^{b}$	

* Farklı harf alan ortalamalar P < 0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır

Sterilizasyon işleminden sonra yapılan toplam canlı sayımı sonuçlarına göre kekik örnekleri için mikroorganizma sayısını en aza düşüren yöntem gama ışınlarıyla radyasyon uygulamaları (1.10^{1} ± 0,0 kob/g) olmuştur. Bunu daha sonra buharla sterilizasyon ($8{,}5.10^{1}$ ± 7,1 kob/g) ve en son da etilen oksitle sterilizasyon (1.10^{2} ± 0,0 kob/g) izlemiştir. Elde edilen verilere göre etilen oksit ile sterilize edilen kekik örnekleri ile buhar ile sterilize edilen kekik örneklerinin toplam canlı sayıları arasında istatistiksel olarak bir fark gözlenmezken, gama ışınları ile sterilize edilen kekik

örnekleri istatistiksel açıdan diğerlerinden farklı ve en düşük toplam canlı sayısına sahip olmuştur.

Adaçayı örnekleri içinde mikroorganizma sayısını en fazla düşüren sterilizasyon yöntemi kekikte olduğu gibi gama ışınlarıyla radyasyon uygulamaları (2.10^1 ± 0,0 kob/g) olmuştur. Bu yöntemi sırasıyla etilen oksitle tütsüleme ($3,3.10^1$ ± 3,5 kob/g) ve buharla sterilizasyon ($7,5.10^1$ ± 14,1 kob/g) yöntemleri izlemiştir. Ancak adaçayına uygulanan sterilizasyon yöntemleri arasında toplam canlı sayısı bakımından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir.

Fesleğen örnekleri için mikroorganizma sayısını en fazla düşüren sterilizasyon yöntemi etilen oksitle sterilizasyon yöntemi (1.10^1 ± 0,0 kob/g) olmuştur. Bunu sırasıyla gama ışınlarıyla sterilizasyon (2.10^2 ± 0,0 kob/g), daha sonra da buharla sterilizasyon ($3,2.10^2$ ± 200,0 kob/g) yöntemleri izlemiştir. Ancak fesleğen örneklerine uygulanan sterilizasyon yöntemleri arasında istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir.

4.3. Toplam Fenolik Madde

Fenolik bileşikler içerdikleri hidroksil grupları nedeniyle çok önemli bitkisel besin öğeleridir (Hatano et al., 1989). Yapılan araştırmalardan elde edilen sonuçlara göre maddelerin fenolik madde içerikleri sahip oldukları antioksidan aktivite ile yakından ilişkilidir (Duh et al., 1999). Maddelerin içerdikleri fenolik madde miktarı arttıkça ekstraktların bir gramının eşdeğer geldiği Gallik Asit miktarı (GAE) artmakta ve buna bağlı olarak da antioksidan aktivite artmaktadır.

Bu çalışmada kullanılan işlem görmemiş kekik, adaçayı ve fesleğen örneklerinin toplam fenolik madde değerleri Çizelge 4.3'de görüldüğü üzere istatistiksel olarak birbirinden farklı bulunmuştur. En yüksek toplam fenolik madde değerine adaçayı (279,1 ± 7,1 mg GAE / g) sahipken, bunu sırasıyla kekik (258,3 ± 0,2 mg GAE / g) ve fesleğen (84,4 ± 3,8 mg GAE / g) izlemiştir.

Çizelge 4.3. Baharatların Toplam Fenolik Madde Değerleri (mg GAE/g)

ÖRNEK	mg GAE / g ± SD
Adaçayı	279,1 ± 7,1 [a]
Kekik	258,3 ± 0,2 [b]
Fesleğen	84,4 ± 3,8 [c]

* Farklı harf alan ortalamalar P < 0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır

P < 0,0001

Bertelli ve ark. (2004)'nın yaptığı bir çalışmada sterilize edilmemiş ve mikrodalga uygulanmış kekik, adaçayı ve fesleğen örneklerinin antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Bu çalışmaya göre sterilize edilmemiş kekik örneklerinin toplam fenolik madde değeri 135,3±43,8 mg GAE/g iken mikrodalga uygulanmış kekik örneği 112,1±39,9 mg GAE/g (P=0,0005) olarak saptanmıştır. Ayrıca sterilize edilmemiş adaçayı örneklerinin toplam fenolik madde değeri 48,29±5,59 mg GAE/g, mikrodalga uygulanmış adaçayı örneklerinin toplam fenolik madde değeri 52,12±5,62 mg GAE/g (P=0,01) olarak tespit edilmiştir. Sterilize edilmemiş fesleğen örneklerinin toplam fenolik madde değeri 44,68±13,3 mg GAE/g olarak bulunurken mikrodalga uygulanmış fesleğen örneklerinin toplam fenolik madde değeri 40,05±8,82 mg GAE/g (P=0,416) olarak tespit edilmiştir.

Buharla, etilen oksitle ve gama ışınlarıyla sterilize edilmiş ve sterilize edilmemiş kekik, adaçayı ve fesleğen örneklerinin toplam fenolik madde içerikleri Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.4. Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş baharatların Toplam Fenolik Madde değerleri (mg GAE/g)

ÖRNEK	mg GAE / g ± SD	P Değeri
Kontrol Kekik	258,3 ± 0,2 [a]	0,001
Gama Kekik	253,7 ± 4,2 [a,b]	
Buhar Kekik	249,4 ± 0,6 [b]	
Etilen Oksit Kekik	226,9 ± 1,0 [c]	
Kontrol Adaçayı	279,1 ± 7,1 [a]	0,015
Buhar Adaçayı	271,3 ± 1,3 [a]	
Gama Adaçayı	270,2 ± 1,5 [a]	
Etilen Oksit Adaçayı	254,2 ± 3,4 [b]	
Kontrol Fesleğen	84,4 ± 3,8 [a]	0,001
Buhar Fesleğen	76,6 ± 3,2 [b]	
Gama Fesleğen	75,6 ± 1,2 [b]	
Etilen Oksit Fesleğen	52,1 ± 1,5 [c]	

Farklı harf alan ortalamalar P < 0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır

Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş kekik örnekleri içinde toplam fenolik madde içeriğini en az etkileyen yöntem gama ışınları ile sterilizasyon yöntemi (253,7 ± 4,2 mg GAE/g) olarak saptanmış ve işlem görmemiş kontrol kekik ile arasında toplam fenolik madde değeri bakımından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir. Buharla sterilize edilmiş kekik örneklerinin toplam fenolik madde değeri 249,4 ± 0,6 mg GAE / g olarak bulunmuş ve gama ışınlarıyla sterilize edilen kekiklerin toplam madde içeriği ile arasında istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir. Etilen oksitle sterilize edilen kekiklerin toplam fenolik madde değeri (226,9 ± 1,0

mg GAE / g) istatistiksel olarak diğer örneklerin toplam fenolik madde değerlerinden farklı bulunmuştur.

Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş adaçayı örneklerinden buharla (279,1 ± 7,1 mg GAE / g) ve gama ışınlarıyla (270,2 ± 1,5 mg GAE / g) sterilize edilmiş örnekler ile işlem görmemiş kontrol örneği (279,1 ± 7,1 mg GAE / g) arasında bir fark gözlenmemiştir (P = 0,015). Kekik örneklerinde olduğu gibi adaçayı örneklerinde de en düşük toplam fenolik madde değerine sahip örnek etilen oksit ile sterilize edilen örnek (254,2 ± 3,4 mg GAE / g) olmuştur.

Fesleğen örneklerinden işlem görmemiş kontrol örneğinin toplam fenolik madde içeriği sterilize edilmiş fesleğen örneklerinden farklı bulunmuştur (P = 0,001). Buharla ve gama ışınlarıyla sterilize edilen örneklerin toplam fenolik madde değerleri arasında bir fark gözlenmezken, etilen oksitle sterilize edilen fesleğen örneklerinin istatistiksel olarak diğerlerinden farklı ve en düşük değere sahip olduğu görülmüştür.

4.4. Serbest Radikal Giderme Etkisinin Saptanması

Kısmen stabil bir organik radikal olan $DPPH^{\bullet}$ bir çok bitki ekstraktlarının ve bir çok bileşiğin antioksidan aktivitesini saptamada kullanılmaktadır (Yen ve Duh 1994, Brand-Williams ve ark. 1995). Bu yöntem hidrojen bağışlayıcı antioksidan varlığında alkollü $DPPH^{\bullet}$ radikali miktarının azalması prensibine dayanmaktadır.

$$DPPH^{\bullet} + AH \rightarrow DPPH\text{-}H + A^{\bullet}$$

$DPPH^{\bullet}$ çözeltisi koyu menekşe renktedir ve 517nm'de güçlü bir absorbsiyon aralığına sahiptir. DPPH-H'a dönüştükçe renksizleşmekte ve buna bağlı olarak da absorbsiyon düşmektedir. Absorbsiyonun düşmesi $DPPH^{\bullet}$'ın stokiyometrik olarak azaldığını göstermektedir (Blois 1958).

Başlangıçtaki $DPPH^{\bullet}$ konsantrasyonunu %50 azaltan örnek miktarı değeri (EC_{50}) antioksidan aktiviteyi ölçmek için kullanılmaktadır. EC_{50} değeri düştükçe antioksidan güç artmaktadır. Antiradikal Aktivite Değeri (AE) için ise tam tersi söz konusudur. Yani AE değeri ne kadar yüksek olursa antioksidan aktivite de o kadar yüksektir.

Kekik, adaçayı ve fesleğen örneklerinin $DPPH^{\bullet}$ giderme aktiviteleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak üç baharat da birbirinden farklı bulunmuştur. Baharatların $DPPH^{\bullet}$ giderme aktiviteleri Çizelge 4.5'de verilmiş olup içlerinde en düşük $DPPH^{\bullet}$ giderme aktivitesine sahip olan baharatın fesleğen (9,26 ± 0,01) olduğu saptanmıştır. Kekiğin $DPPH^{\bullet}$ giderme aktivitesi (2,64 ± 0,04), adaçayından

düşük fesleğenden yüksek olup en yüksek aktiviteye sahip olan baharat adaçayı (2,07 ± 0,06) olmuştur.

Çizelge 4.5. Baharatların DPPH• Giderme Aktiviteleri*

ÖRNEK	EC_{50} ± SD	AE ± SD
Fesleğen	9,26 ± 0,01 [a]	0,108 ± 0,000
Kekik	2,64 ± 0,04 [b]	0,379 ± 0,006
Adaçayı	2,07 ± 0,06 [c]	0,484 ± 0,015

P < 0,0001
*Farklı harf alan ortalamalar P < 0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır

Bertelli ve ark. (2004)'nın yaptığı çalışmadan elde edilen verilere göre; sterilize edilmemiş kekik örneklerinin DPPH• giderme aktivitesi (EC_{50}) 34,22±17,5 ve mikrodalga uygulanmış kekik örneklerinin DPPH• giderme aktivitesi (EC_{50}) 21,46±8,15 (P=0,061), sterilize edilmemiş adaçayı örneklerinin DPPH• giderme aktivitesi (EC_{50}) 56,45±8,67 ve mikrodalga uygulanmış adaçayı örnekleri 86,75±29 (P=0,203), sterilize edilmemiş fesleğen örneklerinin DPPH• giderme aktivitesi (EC_{50}) 80,52±8,44 ve mikrodalga uygulanmış fesleğen örnekleri 119,7±1,72 (P=0,0014) olarak saptanmıştır.

Bu çalışmada kekik, adaçayı ve fesleğen ekstraktlarından elde edilen değerler Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.6. Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş baharatların DPPH• Giderme Aktivitesi*

ÖRNEK	EC_{50}[1] ± SD	AE[2] ± SD	P Değeri
Etilen Oksit Kekik	3,20 ± 0,08 [a]	0,313 ± 0,008	0,008
Gama Kekik	2,82 ± 0,11 [b]	0,355 ± 0,014	
Buhar Kekik	2,73 ± 0,06 [b]	0,367 ± 0,009	
Kontrol Kekik	2,64 ± 0,04 [b]	0,379 ± 0,006	
Etilen Oksit Adaçayı	2,41 ± 0,08	0,415 ± 0,015	0,078
Gama Adaçayı	2,32 ± 0,00	0,431 ± 0,000	
Buhar Adaçayı	2,12 ± 0,01	0,473 ± 0,002	
Kontrol Adaçayı	2,07 ± 0,06	0,485 ± 0,015	
Gama Fesleğen	16,50 ± 0,21 [a]	0,061 ± 0,001	0,0002
Etilen Oksit Fesleğen	11,48 ± 0,15 [b]	0,087 ± 0,001	
Buhar Fesleğen	10,79 ± 0,75 [b]	0,093 ± 0,006	
Kontrol Fesleğen	9,26 ± 0,01 [c]	0,108 ± 0,000	

[1] Başlangıçtaki DPPH• konsatrasyonunu %50 azaltan örnek konsantrasyonu (Efficient Concentration)

[2] Antiradikal Aktivite (AE = 1/ EC_{50})

*Farklı harf alan ortalamalar P < 0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır

Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş kekik örneklerinin EC_{50} değerlerine bakıldığında en düşük değere etilen oksitle sterilize edilmiş kekik örneklerinin (3,20 ± 0,08) sahip olduğu gözlenmiştir. Işınlanmış ve buharla sterilize edilmiş kekik örneklerinin EC_{50} değerleri arasında istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir.

Adaçayı örnekleri içinde en düşük $DPPH^{\bullet}$ giderme aktivitesini, etilen oksitle sterilize edilmiş örnekler (2,41 ± 0,08) vermiş ve bunu gama ışınlarıyla sterilize edilen adaçayı örnekleri (2,32 ± 0,00) izlemiştir. Adaçayı örnekleri içinde en yüksek $DPPH^{\bullet}$ giderme aktivitesine sahip olan örnek buharla sterilize edilen örneklerdir. Ancak sterilizasyon işlemleri uygulanmış ve uygulanmamış tüm adaçayı örneklerinin $DPPH^{*}$ giderme aktiviteleri istatistiksel olarak birbirlerinden farklı değillerdir ($p>0.05$).

Fesleğen örnekleri arasında en düşük $DPPH^{\bullet}$ giderme aktivitesine sahip olan örnek gama ışınları ile sterilize edilmiş olan örnekler (16,50 ± 0,21) olup, diğer örneklerden farklı bulunmuştur ($p<0.0002$). Etilen oksitle sterilize edilmiş fesleğenlerin $DPPH^{\bullet}$ giderme aktivitesi (11,48 ± 0,15) gama ışınlarıyla sterilize edilen örneğin aktivitesinden daha yüksek olup buharla sterilize edilmiş (10,79 ± 0,75) ve sterilize edilmemiş kontrol örneklerinin (9,26 ± 0,01) aktivitelerinden daha düşük bulunmuştur. İstatistiksel açıdan etilen oksitle sterilize edilen örnekler ile buharla sterilize edilmiş örnekler arasında bir fark gözlenmezken gama ışınlarıyla sterilize edilen örnekler tüm örneklerden farklı bulunmuştur. Kontrol örnekleri en yüksek $DPPH^{\bullet}$ giderme aktivitesine sahip olup sterilize edilmiş örneklerden farklı bulunmuştur.

4.5. Fe^{+2} İle Şelat Yapma Aktivitesinin Saptanması

Her şelat ajanı antioksidan madde olmamasına rağmen, yağlı gıdaların acılaşmasını önlemede önemli rolleri bulunmaktadır. Çünkü lipit peroksidasyonunda demir bu reaksiyonu katalizlemektedir. Çoğu fenolik bileşik oksidasyon reaksiyonlarını katalizleyen demir iyonlarını bağlayarak aktivitelerini önlemekte ve böylece oksidasyonu yavaşlatmakta veya önlemektedirler (Yen ve Duh 1994).

Ferrozinin Fe^{+2} ile kompleks oluşturma özelliği bulunmaktadır. Ferrozinin Fe^{+2} ile oluşturduğu kompleks kırmızı renktedir. Diğer şelat ajanlarının varlığında ferrozinin oluşturduğu kompleks miktarı ve oluşan kırmızı renk azalmaktadır. Rengin azalması sonucu absorbans değerleri düşmektedir. Absorbansın düşmesi ortama ferrozin dışında ilave edilen şelat yapıcının etkinliğinin arttığını göstermektedir (Yamaguchi ve ark. 2000). Bu yöntemde Fe^{+2} iyonu bulunan ortama baharat ekstraktı eklenerek baharatın içerisindeki maddelerin Fe^{+2} ile şelat yapması

sağlanmakta ve daha sonra ferrozin eklenerek ortamda bağlanmadan kalan Fe^{+2}'in ferrozin ile oluşturduğu kompleks sonucu meydana gelen renkli çözeltinin absorbansı ölçülmektedir. Böylece Fe^{+2} ile şelat yapan baharatın şelat oluşturma aktivitesi % olarak hesaplanmaktadır.

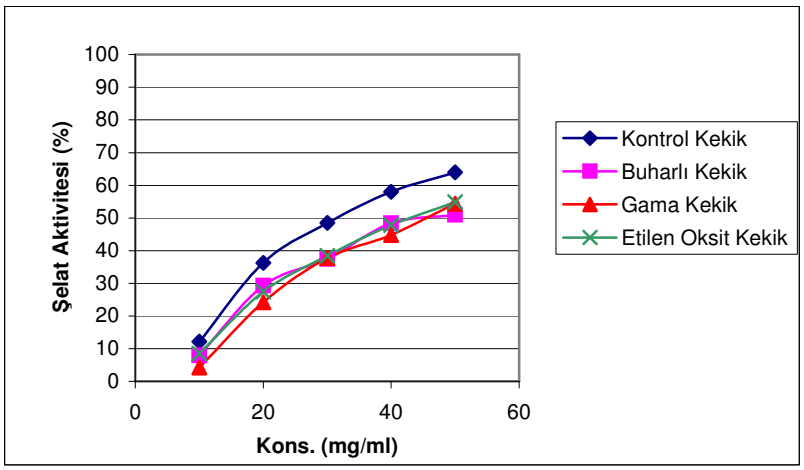
% şelat yapma aktivitesi = [1- (örnek absorbansı / kontrolün absorbansı)] x 100.

Baharatların şelat yapma aktivite değerleri karşılaştırıldığında Çizelge 4.7'de de görüldüğü üzere fesleğen (% 92,9 ± 0,1) en yüksek şelat yapma aktivitesi değerini vermiştir. Adaçayının şelat yapma aktivite değeri (% 82,6 ± 1,9) sayısal olarak fesleğenden düşük olsa da istatistiksel olarak aralarında fark gözlenmemiştir. Kekik en düşük şelat yapma aktivitesi değerine (% 63,9 ± 7,3) sahipken istatistiksel açıdan da diğer ikisinden farklı bulunmuştur.

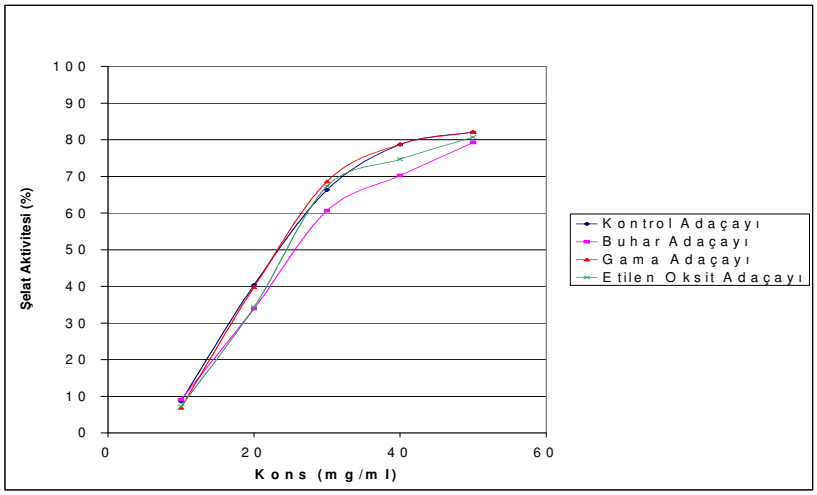
Çizelge 4.7. Baharatların Şelat Yapma Aktiviteleri (%)*

ÖRNEK	% Şelat Aktivitesi ± SD
Fesleğen	92,9 ± 0,1 [a]
Adaçayı	82,6 ± 1,9 [a]
Kekik	63,9 ± 7,3 [b]

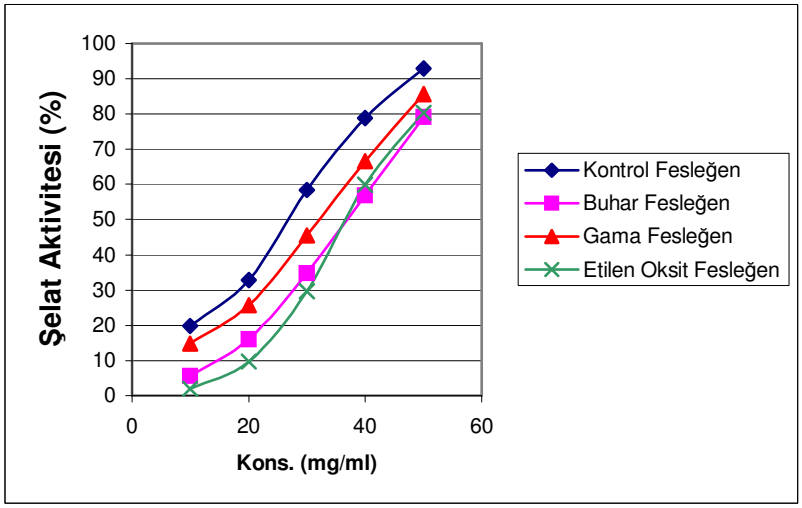
* Farklı harf alan ortalamalar P < 0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır
P = 0,015



Şekil 4.1 Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş kekiklerin Şelat Aktiviteleri (%)



Şekil 4.2 Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş adaçaylarının Şelat Aktiviteleri (%)



Şekil 4.3 Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş fesleğenlerin Şelat Aktiviteleri (%)

Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş örneklerin şelat aktivite değerleri kekik, adaçayı ve fesleğen için sırasıyla Şekil 4.1, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'de gösterilmiştir. Ekstrakt konsantrasyonu arttıkça tüm baharatların şelat aktivitelerinin arttığı görülmektedir. Şekil 4.1'de kontrol kekiğin diğer örneklerden daha yüksek şelat aktivitesi verdiği, sterilize edilmiş örneklerin ise daha yakın değerler aldığı görülmektedir. Şekil 4.2'de işlem görmemiş adaçayı da dahil olmak üzere tüm adaçayları birbirlerine çok yakın şelat aktivitesi göstermiştir. Şekil 4.3'de en yüksek şelat yapma aktivitesine kontrol fesleğenin sahip olduğu, bunu gama ışınları ile sterilize edilmiş fesleğenin takip ettiği görülmektedir. Buharla sterilize edilen fesleğenler başlangıçta etilen oksitle sterilize edilenlerden daha yüksek aktivite gösterse de 40 mg/ml konsantrasyonda sonra etilen oksitle sterilize edilmiş örnekler daha yüksek şelat aktivitesi göstermiştir.

Çizelge 4.8'de 0-50 mg/ml konsantrasyonlarda hazırlanan, farklı yöntemlerle sterilize edilmiş kekik, adaçayı ve fesleğen örneklerinin 50 mg/ml konsantrasyonları için şelat yapma aktiviteleri (%) verilmiştir.

Farklı yöntemlerle sterilize edilen kekik örnekleri içinde kontrol kekiğe en yakın ve en yüksek şelat yapma aktivitesi değerine sahip örnek gama ışınlarıyla sterilize edilmiş kekik örnekleri (% 54,4 ± 4,7) olmuştur. Bunu sırasıyla buharla sterilize edilen kekik (% 50,9 ± 1,7) ve etilen oksitle sterilize edilen kekik (% 50,7 ± 3,6) örnekleri izlemektedir. Ancak kontrol kekik örneği de dahil olmak üzere kekik örneklerinin şelat yapma aktivite değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Kekik örneklerinde olduğu gibi adaçayı örneklerinde de, kontrol ve sterilize edilmiş adaçayı örneklerinin şelat yapma aktivitesi değerleri arasındaki fark önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$). Yani örneklerin şelat yapmak aktivite değerleri arasında fark gözlenmemiştir. Sayısal değerlere baktığımızda ise sırasıyla kontrol örneğinden sonra en yüksek şelat yapma aktivitesine sahip örnek gama ile sterilize edilen örnek (% 81,1 ± 0,2), bunun akabinde etilen oksitle sterilize edilen örnek (% 80,8 ± 0,3) ve son olarak da buharla sterilize edilen örnek (% 79,2 ± 1,3) gelmektedir.

Çizelge 4.8. Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş baharatların Şelat Yapma Aktiviteleri (%)[*]

ÖRNEK	% Şelat Aktivitesi ± SD	P Değeri
Kontrol Kekik	63,9 ± 7,3	0,134
Gama Kekik	54,4 ± 4,7	
Buhar Kekik	50,9 ± 1,7	
Etilen Oksit Kekik	50,7 ± 3,6	
Kontrol Adaçayı	82,6 ± 1,9	0,173
Gama Adaçayı	81,1 ± 0,2	
Etilen Oksit Adaçayı	80,8 ± 0,3	
Buhar Adaçayı	79,2 ± 1,3	
Kontrol Fesleğen	92,9 ± 0,1 [a]	0,007
Gama Fesleğen	85,7 ± 2,9 [b]	
Etilen Oksit Fesleğen	80,4 ± 2,1 [b,c]	
Buhar Fesleğen	79,2 ± 1,3 [c]	

[*]Farklı harf alan ortalamalar P < 0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır

Fesleğen örneklerinde şelat yapma aktivite değerleri sterilizasyon işlemlerinden etkilenmiştir ($p=0.007$). Sterilize edilen fesleğen örneklerinin içinde en yüksek şelat yapma aktivitesine gama ışınları ile sterilize edilen fesleğen örnekleri (% 85,7 ± 2,9) sahipken hemen arkasından etilen oksitle sterilize edilen fesleğen örnekleri (% 80,4 ± 2,1) gelmiş ve bu iki farklı örnek arasında

istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir. Buharla sterilize edilen fesleğen örnekleri (% 79,2 ± 1,3) en düşük şelat yapma aktivitesi değerine sahip olup etilen oksitle sterilize edilmiş fesleğen örnekleriyle arasında bir fark gözlenmemiştir.

4.6. H_2O_2 Giderme Etkisinin Saptanması

Superoksit radikal anyonu ($O_2^{\bullet -}$) doğrudan lipit oksidasyonunu başlatmamasına rağmen, bu yöntem $O_2^{\bullet -}$ gidermede kullanılmaktadır. Çünkü metal iyonları varlığında aşırı reaktif hidroksil radikali ($^{\bullet}OH$) Fenton reaksiyonu ($Fe^{+2} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{+3} + OH^- + {}^{\bullet}OH$) tarafından oluşturulabilmektedir (Kanner ve ark. 1987, Yen ve Duh 1994). Bu yüzden H_2O_2 giderme aktivitesi antioksidan özelliği saptamada önemli bir yöntemdir. Bununla birlikte $O_2^{\bullet -}$ anyonunu giderme lipid oksidasyonunu önlemede tek başına etkili bir mekanizma değildir. Dolayısıyla bitkisel ekstraktlardan elde edilen fenolik bileşiklerin $O_2^{\bullet -}$ anyonunu giderme özelliği antioksidan aktivitenin saptanmasında tek başına kullanılamamaktadır (Costantino ve ark. 1992, Meyer ve ark. 1994).

Sterilize edilmemiş baharatların birbirleri arasındaki H_2O_2 giderme etkileri karşılaştırıldığında, kekik en yüksek H_2O_2 giderme etkisine (% 97,2 ± 3,5) sahip olup adaçayının H_2O_2 giderme etkisi (% 89,7 ± 11,6) ile arasında istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir. Fesleğenin H_2O_2 giderme etkisi (% 7,4 ± 0,4) diğer iki baharattan oldukça düşük bulunmuştur (Çizelge 4.9).

**Çizelge 4.9 Baharatların H_2O_2 Giderme Etkisi (%)*

ÖRNEK	% ± SD
Kekik	97,2 ± 3,5 [a]
Adaçayı	89,7 ± 11,6 [a]
Fesleğen	7,4 ± 0,4 [b]

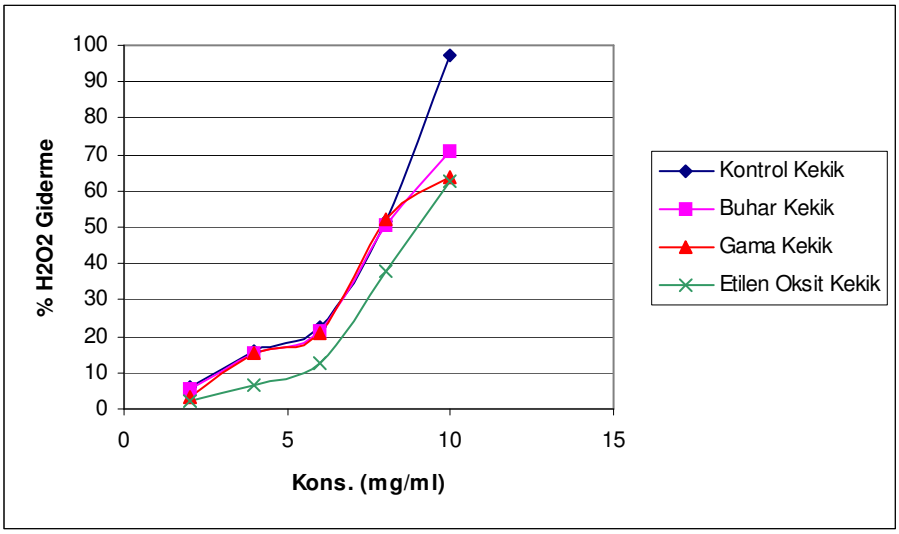
P = 0,002

*Farklı harf alan ortalamalar P < 0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır

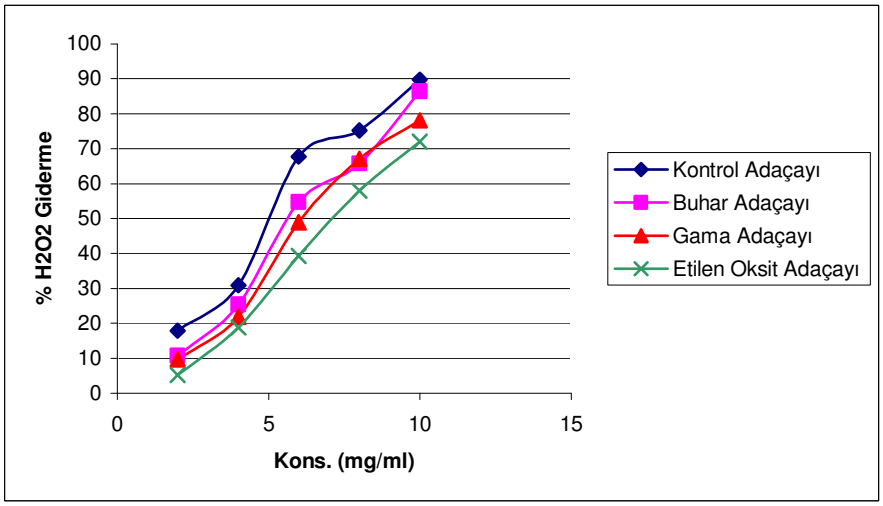
Şekil 4.4'de buharla, gama ışınlarıyla ve etilen oksitle sterilize edilmiş kekik örnekleri ve sterilize edilmemiş örneklerin H_2O_2 giderme etkilerinin konsantrasyona bağlı değişimi gösterilmektedir. Baharatların konsantrasyonları artıkça H_2O_2 giderme etkisi (%) artmıştır. Düşük konsantrasyonlarda kekiklerin H_2O_2 giderme etkisi birbirine çok yakın değerler vermekle beraber yüksek konsantrasyonlarda aralarındaki farklar ortaya çıkmaktadır. Kontrol örnekten sonra en yüksek H_2O_2 giderme etkisine sahip örnek buharla sterilize edilmiş kekik örnekleri olmuştur. Bunu sırasıyla gama ışınları ile sterilize edilmiş kekik ve etilen oksitle sterilize kekik örnekleri izlemiştir.

Şekil 4.5'de görüldüğü gibi kontrol adaçayı örneğinden sonra en yüksek H_2O_2 giderme etkisine sahip örnek buharla sterilize edilen örnek olmuştur. Bunu sırasıyla gama ışınları ile sterilize edilen örnek ve etilen oksitle sterilize edilen örnek takip etmektedir.

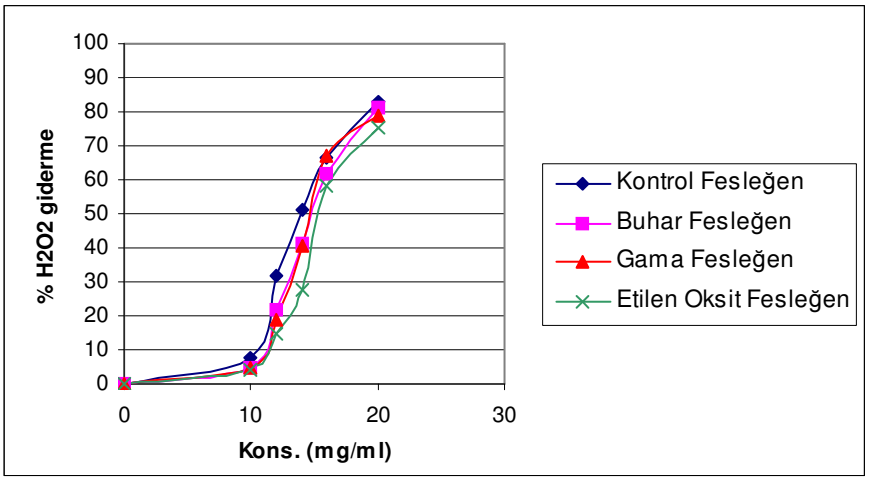
Düşük konsantrasyonlarda H_2O_2 giderme etkisi sıfıra çok yakın olan fesleğen örneklerinin konsantrasyona bağlı olarak meydana gelen H_2O_2 giderme etkisindeki değişim Şekil 4.6'da verilmiştir. Fesleğen örnekleri birbirlerine çok yakın H_2O_2 giderme etkisi göstermekle beraber kontrol örneğinden sonra en yüksek H_2O_2 giderme etkisini gama ışınları ile sterilize edilmiş örnekler göstermiştir. Bunu sırasıyla buharla ve etilen oksitle sterilize edilen örnekler izlemiştir.



Şekil 4.4. Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş kekiklerin H_2O_2 Giderme Etkisi



Şekil 4.5. Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş adaçaylarının H_2O_2 Giderme Etkisi



Şekil 4.6. Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş fesleğenlerin H_2O_2 Giderme Etkisi

Bu çalışmadan elde edilen verilere göre farklı şekillerde sterilize edilen baharatların 10 mg/ml ekstrakt konsantrasyonunda elde edilen H_2O_2 Giderme Etkileri (%) Çizelge 4.10'da verilmiştir. Buna göre kekik örnekleri içinde en yüksek H_2O_2 giderme etkisine sahip olan kontrol kekik (% 97,2 ± 3,5) istatistiksel olarak işlem görmüş kekik örneklerinden farklı bulunmuştur. Sterilize edilmiş örnekler içinde en yüksek H_2O_2 giderme etkisine sahip örnek buharla sterilize edilmiş kekik örneği (% 71,1 ± 4,2) iken gama ışınları ile sterilize edilmiş kekik örneklerinin H_2O_2 giderme etkisi (% 63,8 ± 0,6) ile aralarında istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir. En düşük H_2O_2 giderme etkisine sahip olan etilen oksit ile sterilize edilen kekik örnekleri (% 62,9 ± 1,6) ile kontrol örnek ve buharla sterilize edilmiş örnekler arasında istatistiksel olarak fark gözlenirken gama ışınları ile sterilize edilmiş kekik örnekleri ile arasında istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir.

Çizelge 4.10'da görüldüğü üzere işlem görmemiş kontrol adaçayı ile farklı yöntemlerle sterilize edilmiş adaçayı örneklerinin H_2O_2 giderme etkisi arasında istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir. Ancak sayısal olarak çıkan değerlere bakıldığında en yüksek H_2O_2 giderme etkisine buharla sterilize edilmiş örnekler (% 86,3 ± 0,8) sahip iken bunu sırasıyla gama ışınları ile sterilize edilmiş örnekler (% 78,2 ± 1,2) ve en son da etilen oksitle sterilize edilmiş örnekler (% 72,1 ± 4,3) takip etmektedir. H_2O_2 giderme etkisini en fazla düşüren yöntem etilen oksitle sterilizasyon olmasına rağmen bu düşüş istatistiksel önemsiz bulunmuştur.

Çizelge 4.10. Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş baharatların H_2O_2 Giderme Etkisi (%)[*]

ÖRNEK	% ± SD	P Değeri
Kontrol Kekik	97,2 ± 3,5 [a]	0,001
Buhar Kekik	71,1 ± 4,2 [b]	
Gama Kekik	63,8 ± 0,6 [b,c]	
Etilen Oksit Kekik	62,9 ± 1,6 [c]	
Kontrol Adaçayı	89,7 ± 11,6	0,140
Buhar Adaçayı	86,3 ± 0,8	
Gama Adaçayı	78,2 ± 1,2	
Etilen Oksit Adaçayı	72,1 ± 4,3	
Kontrol Fesleğen	7,4 ± 0,4 [a]	0,001
Gama Fesleğen	5,7 ± 0,5 [b]	
Buhar Fesleğen	4,7 ± 0,2 [b]	
Etilen Oksit Fesleğen	2,9 ± 0,3 [c]	

[*] Farklı harf alan ortalamalar P < 0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır

Fesleğen örneklerine bakıldığında kontrol örneğin H_2O_2 giderme etkisi (% 7,4 ± 0,4) sterilize edilmiş örneklerinkinden istatistiksel açıdan farklılık göstermiş ve sterilizasyon işlemleri örneklerin H_2O_2 giderme etkisini azaltmıştır. Fesleğen örnekleri içinde H_2O_2 giderme etkisini en az düşüren yöntem gama ışınları ile sterilizasyon yöntemi (% 5,7 ± 0,5) olmuştur. Buharla sterilize edilmiş fesleğen örnekleri (% 4,7 ± 0,2) gama ışınları ile sterilize edilmiş fesleğen örneklerinden daha düşük H_2O_2 giderme etkisine sahip olmasına rağmen bu istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Sterilize edilmiş fesleğen örnekleri içinde H_2O_2 giderme etkisi en az olan örnek etilen oksitle sterilize edilen örnek olup diğer fesleğen örneklerinden istatistiksel olarak farklı bulunmuştur.

4.7. İndirgeme Gücü

Bileşiklerin, yükseltgen bileşikleri indirgeme gücü potansiyel antioksidan aktiviteyi gösteren önemli bir indikatördür (Meir et al., 1995). Yükseltgen bir madde karşısındaki maddeyi okside ederken kendisi indirgenmektedir. Ortamdaki bu yükseltgen maddeleri indirgeyerek kendisi yükseltgenen maddeler oksidasyonu önledikleri için antioksidan aktiviteye sahiptirler. Bu yöntemde baharat ekstraktlarının, ortama ilave edilen yükseltgen bir madde olan demir (III) çözeltisini demir (II)'e İndirgeme Gücü değerleri hesaplanmıştır. Bu çalışmada 0-2,5 mg/ml konsantrasyonlarda hazırlanan baharat ekstraktlarının indirgen gücü değerleri hesaplanmış ve 1,5 mg/ml konsantrasyondaki ekstraktların indirgeme gücü değerleri için istatistiksel analiz yapılmıştır.

Çizelge 4.11. Baharatların İndirgeme Gücü Değerleri (Absorbans)*

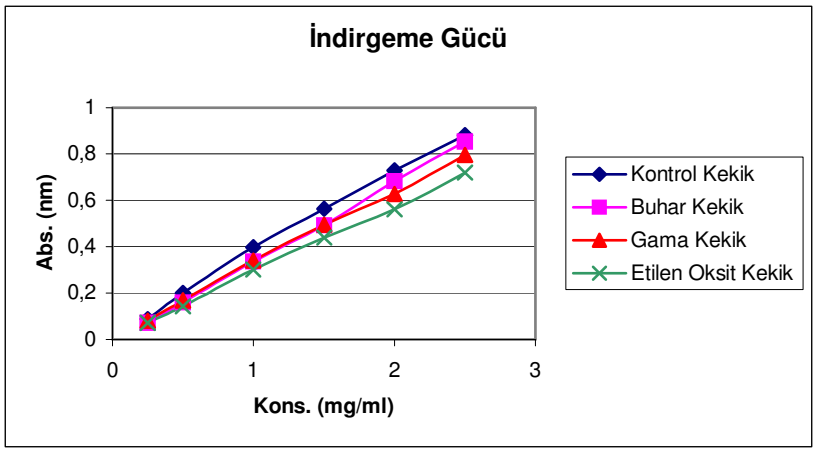
ÖRNEK	Absorbans ± SD
Kekik	0,563 ± 0,013 [a]
Adaçayı	0,532 ± 0,005 [a]
Fesleğen	0,157 ± 0,014 [b]

* Farklı harf alan ortalamalar P < 0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır
P Değeri < 0,0001

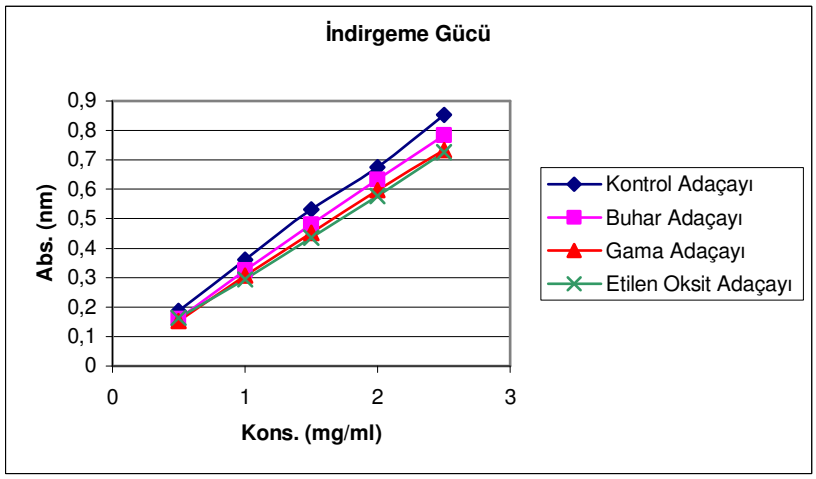
Kekik, adaçayı ve fesleğen örneklerinin indirgeme gücü değerleri Çizelge 4.11'de görülmektedir. Kekik en yüksek indirgeme gücü değerine (0,563 ± 0,013) sahip olurken adaçayının indirgeme gücü değeri (0,532 ± 0,005) ile arasındaki fark önemsiz bulunmuştur. Fesleğen diğer iki baharattan istatistiksel olarak farklı ve en düşük indirgeme gücü değerine (0,157 ± 0,014) sahip olmuştur.

Şekil 4.7, 4.8 ve 4.9'da farklı şekilde sterilize edilmiş ve edilmemiş kekik, adaçayı ve fesleğen örneklerinin indirgen güç değerlerinin konsantrasyona bağlı değişimleri görülmektedir. Baharatların konsantrasyonu arttıkça absorbans değerlerinin ve buna bağlı olarak da indirgen güç değerlerinin arttığı gözlenmektedir. Şekil 4.7'de düşük konsantrasyonlarda birbirine yakın indirgen güç değerleri gösteren kekik örnekleri arasındaki fark, konsantrasyon arttıkça artmıştır. Şekil 4.8'de görüldüğü gibi adaçayı örneklerinde de düşük konsantrasyonlarda yakın değerler görülürken, ekstrakt konsantrasyonu arttıkça indirgen güç değerleri arasındaki farklar da artmıştır.

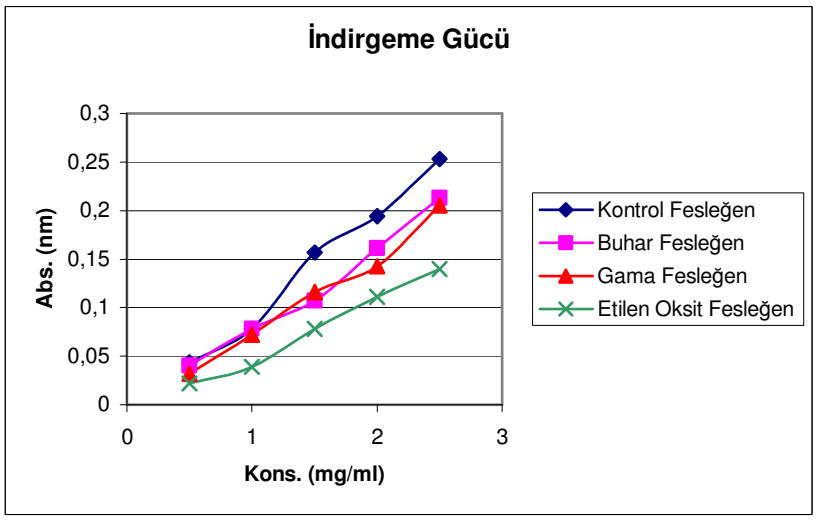
Şekil 4.9'da farklı şekilde sterilize edilmiş fesleğenlerin indirgen güç değerlerinin konsantrasyona bağlı değişimleri görülmektedir. Diğer örneklerde olduğu gibi kontrol örnek en yüksek indirgen güç değerine sahipken, konsantrasyon arttıkça indirgen güç değeri de artmaktadır. Işınlanmış ve buharla sterilize edilmiş örnekler birbirine yakın değerler verirken, etilen oksitle işlenen örnekler daha düşük değerler almıştır.



Şekil 4.7. Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş kekiklerin İndirgeme Gücü değerlerinin değişimi



Şekil 4.8.Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş adaçaylarının İndirgeme Gücü değerlerinin değişimi



Şekil 4.9. Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş fesleğenlerin İndirgeme Gücü değerlerinin değişimi

Bertelli ve ark. (2004)'nın yaptığı çalışmaya göre sterilize edilmemiş kekik örneklerinin indirgeme gücü (Abs) 0,792±0,25 ve mikrodalga uygulanmış kekik örneklerinin 0,782±0,28 (P=0,949), sterilize edilmemiş adaçayı örneklerinin indirgeme gücü (Abs) 0,868±0,17 ve mikrodalga uygulanmış adaçayı örneklerinin 0,659±0,02 (P=0,144) olarak saptanmıştır.

Bu çalışmadan elde edilen farklı şekilde sterilize edilmiş ve sterilize edilmemiş kekik örneklerinin indirgeme gücü değerleri Çizelge 4.12'de yer almaktadır. Elde edilen sonuçlara göre en yüksek indirgeme gücü değerini sırasıyla kontrol kekik (0,563 ± 0,013), daha sonra gama ışınları ile sterilize edilen kekik (0,495 ± 0,050) ve buharla sterilize edilen kekik (0,492 ± 0,014) vermekle beraber aralarında istatistiksel açıdan fark gözlenmemiştir. En düşük indirgeme gücü değerini etilen oksitle sterilize edilen kekik örnekleri (0,440 ± 0,000) vermiş ve istatistiksel açıdan gama ışınlarıyla ve buharla sterilize edilen kekik örnekleri arasında istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir. Sterilize edilmiş kekik örnekleri arasında indirgeme gücü değeri açısından istatistiksel olarak fark gözlenmezken kontrol örnekten farklı olan tek örnek etilen oksitle sterilize edilen örnek olmuştur.

Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş ve kontrol adaçayı örneklerinin indirgeme gücü değerleri arasında istatistiksel açıdan fark gözlenmemiş ($p>0.05$) ve sterilizasyon yöntemlerinin adaçayı örneklerinin indirgeme gücü değerleri üzerine etkileri önemsiz bulunmuştur. Sayısal olarak bakıldığında kontrol örnekten sonra en fazla indirgeme gücüne sahip olan örnek buharla sterilize edilen örnek (0,481 ± 0,039) olup, bunu gama ışınlarıyla sterilize edilen örnekler (0,452 ± 0,013) ve sonrasında etilen oksitle sterilize edilen örnekler (0,435 ± 0,023) izlemiştir.

Çizelge 4.12. Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş baharat örneklerinin İndirgeme Gücü değerleri (Absorbans)[*]

ÖRNEK	Absorbans ± SD	P Değeri
Kontrol Kekik	0,563 ± 0,013 [a]	0,045
Gama Kekik	0,495 ± 0,050 [a,b]	
Buhar Kekik	0,492 ± 0,014 [a,b]	
Etilen Oksit Kekik	0,440 ± 0,000 [b]	
Kontrol Adaçayı	0,532 ± 0,005	0,052
Buhar Adaçayı	0,481 ± 0,039	
Gama Adaçayı	0,452 ± 0,013	
Etilen Oksit Adaçayı	0,435 ± 0,023	
Kontrol Fesleğen	0,157 ± 0,014 [a]	0,014
Gama Fesleğen	0,116 ± 0,007 [b]	
Buhar Fesleğen	0,107 ± 0,018 [b,c]	
Etilen Oksit Fesleğen	0,079 ± 0,005 [c]	

[*] Farklı harf alan ortalamalar $P < 0.05$ düzeyinde birbirinden farklıdır

Farklı yöntemlerle sterilize edilen fesleğen örneklerinin tümünün indirgeme gücü değerleri kontrol örneğinkinden (0,157 ± 0,014) istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. Sterilize edilen örneklerin indirgeme gücündeki düşüş en az gama ışınlarıyla sterilize edilen örneklerde (0,116 ± 0,007) görülürken ondan sonra gelen buharla sterilize edilmiş örneklerin indirgeme gücü değerleri (0,107 ± 0,018) arasında istatistiksel olarak fark önemsiz bulunmuştur. En düşük indirgeme gücü değerine sahip olan etilen oksitle sterilize edilmiş örnekler (0,079 ± 0,005) kontrol ve gama ışınları ile sterilize edilmiş örneklerden farklı bulunurken buharla sterilize edilmiş örneklerle aralarında fark önemsiz bulunmuştur.

4.8. Renk Analizi

Baharatlara kendine has rengini veren doğal renk pigmentleri gıdalara uygulanan işlemler sırasında pH, ısı, ışık (UV-radyasyon), oksidasyon, su aktivitesi ve metal etkisi gibi pek çok faktörden dolayı kayba uğramaktadır. Baharatların renkleri hem tüketiciyi cezbetmesi hem de doğal pigmentlerin vücuttaki yararlı fonksiyonları nedeniyle önemlidir. Bu çalışmada, 3 farklı yöntemle sterilize edilmiş kekik, adaçayı ve fesleğen örneklerinin L, a, b değerlerine bakılmış ve istatistiksel olarak aralarındaki farklar değerlendirilmiştir. Elde edilen L değerleri örneklerin ışık değeri veya aydınlık derecesini, a değerleri kırmızı veya yeşili, b değeri sarı veya maviyi göstermektedir (Başoğlu, 1999).

a → (+a) kırmızılık; (-a) yeşillik
b → (+b) sarılık ; (-b) mavilik ölçüsüdür.
L değeri yüze (100) yaklaştıkça beyaza, sıfıra (0) yaklaştıkça siyaha yaklaşmaktadır.

Çizelge 4.13. Baharatların L, a, b Değerleri*

ÖRNEK	L Değeri ± SD	a Değeri ± SD	b Değeri ± SD
Kekik	54,41 ± 0,09 [a]	0,10 ± 0,01 [b]	12,78 ± 0,09 [a]
Adaçayı	53,95 ± 0,30 [a]	0,45 ± 0,03 [a]	8,95 ± 0,05 [b]
Fesleğen	48,49 ± 0,23 [b]	0,38 ± 0,05 [a]	7,57 ± 0,12 [c]
P Değeri	0,0002	0,005	< 0,0001

* Farklı harf alan ortalamalar P < 0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır

Kekik, adaçayı ve fesleğenin L, a ve b değerleri karşılaştırıldığında L değeri en yüksek baharat kekik (54,41 ± 0,09) olurken bunu sırasıyla adaçayı (53,95 ± 0,30) ve fesleğen (48,49 ± 0,23) takip etmiştir. L değerleri bakımından kekik ile adaçayı arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunurken fesleğen diğer iki baharattan farklı bulunmuştur. Adaçayının a değeri (0,45 ± 0,03) en yüksek a değeri olup fesleğen (0,38 ± 0,05) ile arasında istatistiksel olarak önemli bir

fark gözlenmezken kekik ile arasındaki fark önemlidir. En düşük a değerine kekik (0,10 ± 0,01) sahip olup adaçayı ve fesleğenden farkı istatistiksel olarak önemlidir. Her üç baharatın da b değerleri istatistiksel olarak birbirinden önemli derecede farklı olup en yüksek b değerini kekik (12,78 ± 0,09), sonra adaçayı (8,95 ± 0,05) ve son olarak da fesleğen (7,57 ± 0,12) vermiştir.

Çizelge 4.14. Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş baharatların ortalama L değerleri*

ÖRNEK	L Değeri ± SD	P Değeri
Kontrol Kekik	54,41 ± 0,09	0,056
Buhar Kekik	54,48 ± 0,3	
Gama Kekik	54,13 ± 0,26	
Etilen Oksit Kekik	53,67 ± 0,01	
Kontrol Adaçayı	53,95 ± 0,30 [a]	0,032
Buhar Adaçayı	54,31 ± 0,23 [a]	
Gama Adaçayı	53,68 ± 0,16 [a,b]	
Etilen Oksit Adaçayı	53,06 ± 0,30 [b]	
Kontrol Fesleğen	48,49 ± 0,23 [b]	0,004
Gama Fesleğen	48,52 ± 0,10 [a]	
Buhar Fesleğen	48,48 ± 0,04 [b,c]	
Etilen Oksit Fesleğen	47,58 ± 0,01 [c]	

*Farklı harf alan ortalamalar P < 0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır

Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş kekik örneklerinin L değeri ile kontrol kekiğin L değeri arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır. Sayısal olarak L değeri en yüksek örnek buharla sterilize edilen örnek (54,48 ± 0,3) iken bunu sırasıyla kontrol kekik (54,41 ± 0,09), gama ışınlarıyla sterilize edilmiş örnek (54,13 ± 0,26) ve son olarak etilen oksitle sterilize edilmiş örnek (53,67 ± 0,01) takip etmiştir.

Adaçayı örneklerinde ise L değeri en yüksek örnek kekikte olduğu gibi buharla sterilize edilmiş örnek (54,31 ± 0,23) olup bunu sırasıyla kontrol örneği (53,95 ± 0,30), gama ışınlarıyla sterilize edilmiş adaçayı (53,68 ± 0,16) ve son olarak etilen oksitle sterilize edilmiş adaçayı izlemiştir. İstatistiksel olarak buharla sterilize edilmiş adaçayının, kontrol örneğinin ve gama ışınlarıyla sterilize edilmiş adaçayının L değerleri arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur. Etilen oksitle sterilize edilen örnekler en düşük L değerine (53,06 ± 0,30) sahip olup istatistiksel olarak gama ışınlarıyla ışınlanmış örneklerin L değerleri ile arasındaki fark önemsiz bulunmuştur.

Elde edilen verilere göre a değeri en düşük örnek yeşile en yakın örnek ve a değeri en yüksek örnek kırmızıya en yakın örnektir. Farklı şekilde sterilize edilmiş kekik örnekleri içinde a değeri en yüksek örnek gama ışınları ile sterilize edilen örnektir (0,25 ± 0,04) ve diğer örneklerin a

değerleri ile arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Kontrol kekik (0,10 ± 0,01) ile etilen oksitle sterilize edilmiş örneklerin (0,05 ± 0,03) a değerleri arasında istatistiksel olarak bir fark gözlenmezken a değerleri gama ışınları ile sterilize edilmiş örnekten düşük, buharla sterilize edilmiş örnekten yüksek bulunmuştur. Yani gama ışınları ile sterilize edilen örneklerin yeşillik derecesi kontrol kekiğe göre azalırken etilen oksitle ve buharla sterilize edilmiş örneklerin yeşillik dereceleri artmıştır.

Çizelge 4.15. Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş baharatların ortalama a değerleri*

ÖRNEK	a Değeri ± SD	P Değeri
Kontrol Kekik	0,10 ± 0,01 ^{b}	0,001
Gama Kekik	0,25 ± 0,04 ^{a}	
Etilen Oksit Kekik	0,05 ± 0,03 ^{b}	
Buhar Kekik	-0,16 ± 0,01 ^{c}	
Kontrol Adaçayı	0,45 ± 0,03 ^{a,b}	0,002
Gama Adaçayı	0,50 ± 0,05 ^{a}	
Buhar Adaçayı	0,38 ± 0,03 ^{b}	
Etilen Oksit Adaçayı	0,19 ± 0,01 ^{c}	
Kontrol Fesleğen	0,38 ± 0,05 ^{b}	0,003
Gama Fesleğen	0,53 ± 0,03 ^{a}	
Buharlı Fesleğen	0,39 ± 0,06 ^{b}	
Etilen Oksit Fesleğen	0,15 ± 0,01 ^{c}	

* Farklı harf alan ortalamalar P < 0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır

Adaçayı örnekleri içinde gama ışınları ile sterilize edilen örneğin yeşillik derecesi kontrol örneğinkine göre azalırken bu azalma istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Gama ışınları ile sterilize edilen örneklerin a değeri (0,50 ± 0,05), buharla (0,38 ± 0,03) ve etilen oksitle (0,19 ± 0,01) sterilize edilen örneklerin a değerlerinden istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. Buharla sterilize edilen adaçayı örneklerinin a değeri ile kontrol örneğinin a değeri (0,45 ± 0,03) arasında istatistiksel açıdan fark gözlenmemiştir. Etilen oksitle sterilize edilen örneklerin a değeri (0,19 ± 0,01) ise tüm adaçayı örneklerinden istatistiksel olarak farklı olup en düşük a değerine sahip örnek olmuştur.

Fesleğen örneklerinin içinde a değeri en yüksek örnek gama ışınları ile sterilize edilen örnek (0,50 ± 0,05) olup istatistiksel olarak diğer fesleğen örneklerinden farklı bulunmuştur. Buharla sterilize edilen fesleğen örneklerinin a değeri (0,38 ± 0,03), kontrol örneğinkinden (0,45 ± 0,03) düşük olmakla beraber aralarındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Buharla sterilize edilen fesleğenlerin a değeri ile etilen oksitle sterilize edilen fesleğenleri a değeri (0,19 ±

0,01) arasında istatistiksel olarak fark gözlenmiş ve en düşük a değerine sahip örnek etilen oksitle sterilize edilen örnek olmuştur.

Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş baharat örneklerinin b değerleri Çizelge 4.16'da verilmiştir.

Çizelge 4.16. Farklı yöntemlerle sterilize edilmiş baharatların b değerleri*

ÖRNEK	b Değeri ± SD	P Değeri
Kontrol Kekik	12,78 ± 0,09 ^{b}	0,001
Etilen Oksit Kekik	13,82 ± 0,08 ^{a}	
Buhar Kekik	12,61 ± 0,15 ^{b}	
Gama Kekik	12,56 ± 0,13 ^{b}	
Kontrol Adaçayı	8,95 ± 0,05 ^{c}	0,003
Etilen Oksit Adaçayı	9,40 ± 0,12 ^{a}	
Buhar Adaçayı	9,19 ± 0,03 ^{b}	
Gama Adaçayı	8,76 ± 0,02 ^{c}	
Kontrol Fesleğen	7,57 ± 0,12 ^{b,c}	0,01
Etilen Oksit Fesleğen	7,91 ± 0,05 ^{a}	
Buharlı Fesleğen	7,69 ± 0,03 ^{b}	
Gama Fesleğen	7,44 ± 0,05 ^{c}	

*Farklı harf alan ortalamalar P < 0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır

Çizelge 4.16'da görüldüğü üzere etilen oksitle sterilize edilmiş kekik örneğinin sarılık derecesi yani b değeri (13,82 ± 0,08) örneklerin içinde en yüksek b değeri olup etilen oksitle sterilize edilmiş örnek diğer örneklerden istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. Buharla sterilize edilmiş kekik örnekleri, gama ışınları ile sterilize edilmiş kekik örnekleri ve kontrol kekik örneklerinin b değerleri arasından istatistiksel olarak bir fark gözlenmezken, aralarında en yüksek b değerine kontrol kekik (12,78 ± 0,09), daha sonra buharla sterilize edilmiş kekik (12,61 ± 0,15) ve son olarak da gama ışınları ile sterilize edilmiş kekik örnekleri (12,56 ± 0,13) sahip olmuştur.

Adaçayı örnekleri içinde b değeri en yüksek örnek etilen oksitle sterilize edilen örnek (9,40 ± 0,12) olup istatistiksel olarak diğer adaçayı örneklerinden farklı bulunmuştur. Etilen oksitle sterilize edilen örnekten sonra en yüksek b değerine sahip örnek buharla sterilize edilmiş adaçayı örneği (9,19 ± 0,03) olup bunun da b değeri istatistiksel olarak diğer adaçayı örneklerinin b değerlerinden farklı bulunmuştur. Gama ışınları ile sterilize edilen adaçayı örneklerinin b değeri (8,76 ± 0,02) en düşük b değeri olup kontrol örneğin b değeri (8,95 ± 0,05) ile aralarında istatistiksel olarak önemli bir fark gözlenmemiştir.

Fesleğen örnekleri içinde de en yüksek b değerine sahip olan örnek etilen oksitle sterilize edilen fesleğendir (7,91 ± 0,05) ve bu örneğin b değeri ile diğer fesleğen örneklerinin b değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Etilen oksitle sterilize edilen örnekten

sonra en yüksek b değerine sahip olan örnek buharla sterilize edilmiş fesleğendir (7,69 ± 0,03) ve ondan daha düşük b değerine sahip kontrol fesleğen (7,57 ± 0,12) ile aralarındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunurken diğerleri ile arasındaki fark önemlidir. Gama ışınları ile sterilize edilen fesleğen örneğinin b değeri (7,44 ± 0,05) en düşük b değeri olup kontrol örneği ile aralarındaki fark önemli değildir. Ancak gama ışınları ile sterilize edilen fesleğen ile diğer yöntemlerle sterilize edilen örnekler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir.

4.9. Korelasyon Analizi

Bu çalışmada baharatların antioksidan aktiviteyi gösteren farklı metodların birbirleri arasındaki ilişkiyi görmek için korelasyon analizi yapılmış ve korelasyon katsayısı (R) saptanmıştır.

Yapılan korelasyon analizinde baharatların toplam fenolik madde içeriği ile EC_{50} değeri arasındaki korelasyon istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (R= - 0,9402, P<0.0001). Toplam fenolik madde içeriği arttıkça EC_{50} değeri düşmekte ve buna bağlı olarak DPPH giderme aktivitesi azalmaktadır.

Toplam fenolik madde içeriği ile şelat yapma aktivitesi arasındaki korelasyon (R=0,6695) istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur (P=0.3302).

Toplam fenolik madde değeri ile peroksit giderme etkisi arasındaki korelasyon (R=0,9784) istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0,0001). Toplam fenolik madde miktarı arttıkça peroksit giderme etkisi artmaktadır.

Toplam fenolik madde değeri ile indirgeme gücü arasında istatistiksel olarak korelasyon (R=0,9818) gözlenmiştir (P<0,0001). Toplam fenolik madde değeri arttıkça indirgeme gücü de buna bağlı olarak artmaktadır.

EC_{50} değeri ile şelat yapma aktivitesi arasındaki korelasyon (R= -0,6267) önemsizdir (P=0,3733).

EC_{50} değeri ile peroksit giderme etkisi arasında negatif bir korelasyon (R = -0,9186) mevcuttur (P<0,0001). EC_{50} değeri arttıkça yada DPPH giderme aktivitesi azaldıkça peroksit giderme etkisi azalmaktadır.

EC_{50} değeri ile indirgeme gücü arasında negatif bir korelasyon (R= -0,9309) gözlenmiştir (P<0,0001).

Şelat yapma aktivitesi ile peroksit giderme etkisi arasındaki korelasyon (R=0,5422) istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (P= ,1650).

Şelat yapma aktivitesi ile indirgeme gücü arasındaki korelasyon 0,9123 olarak saptanmıştır (P<0,0001). Şelat yapma aktivitesi arttıkça indirgeme gücü de artmaktadır.

Peroksit giderme etkisi ile indirgeme gücü arasındaki korelasyon (R=0,9803) istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (P<0,0001). Peroksit giderme etkisi arttıkça indirgeme gücü de artmaktadır.

5. SONUÇ

Bu araştırmada, buharla, gama ışınları ve etilen oksitle sterilize edilen ve hiç sterilize edilmeyen adaçayı, kekik ve fesleğenden metanolik ekstraktlar elde edilmiş ve bu ekstraktların antioksidan aktivitesi spektrofotometrik yöntemler kullanılarak araştırılmıştır. Öncelikle farklı şekilde sterilize edilmiş üç farklı baharat çeşidinde mikrobiyolojik analiz yapılarak sterilizasyon işleminin etkinliği karşılaştırılmıştır. Uygulanan üç farklı sterilizasyon işlemi arasında önemli bir fark bulunmamıştır.

Antioksidan aktivitenin güvenilir bir göstergesi olan Toplam Fenolik Madde tayininden elde edilen sonuçlara göre; baharatların fenolik madde içeriğinde en fazla düşme etilen oksitle sterilize edilen baharatlarda gözlenmiştir. Işınlama ve buharla sterilizasyon yöntemleri arasında ise önemli bir fark gözlenmemiştir. Baharatlar arasında adaçayı, fenolik madde içeriği en fazla olan baharat olmuş ve bunu sırasıyla kekik ve fesleğen izlemiştir.

Sterilizasyon yöntemleri arasında baharatların $DPPH^{\bullet}$ Giderme Aktivitesini en az düşüren yöntem buharla sterilizasyon yöntemi olmuştur. Bunu sırasıyla gama ışınlarıyla ve etilen oksitle sterilizasyon yöntemleri izlemiştir. $DPPH^{\bullet}$ Giderme Aktivitesi en yüksek baharat adaçayı olmuştur.

Farklı yöntemlerle sterilize edilen baharatlar arasında Şelat Yapma Aktivitesi en yüksek baharat gama ışınları ile sterilize edilen baharat örnekleri olmuştur. Aktiviteyi en fazla düşüren yöntemin ise buharla sterilizasyon yöntemi olduğu gözlenmiştir. Şelat aktivitesi en yüksek baharat sırasıyla fesleğen, adaçayı ve kekik olmuştur.

Sterilizasyon yöntemleri arasında H_2O_2 Giderme Aktivitesini en fazla düşüren yöntem etilen oksitle sterilizasyon yöntemi olup en az etkileyen yöntemin de buharla sterilizasyon yöntemi olduğu gözlenmiştir. Şelat Aktivitesi Tayininde en yüksek aktiviteyi kekik, sonra adaçayı ve son olarak da fesleğen vermiştir.

İndirgeme Gücü tayininde en düşük aktiviteyi etilen oksitle sterilize edilen örnekler gösterirken en fazla aktivite gama ışınları ile sterilize edilen örneklerde gözlenmiştir. Baharat çeşitleri arasında en yüksek aktiviteyi ise kekik göstermiştir.

Renk Tayininden elde edilen sonuçlara göre genel itibariyle buharla sterilizasyon yöntemi baharatların rengini koyulaştırırken etilen oksitle sterilizasyon yönteminin baharatların rengini

açtığı gözlenmiştir. Baharatların L, a, b değerlerinde düzensiz bir değişim gözlendiği için sterilizasyon yöntemlerinin renk üzerine etkisi hakkında kesin bir sonuç elde edilememiştir.

Baharatlarda bulunan ve antioksidan aktiviteyi sağlayan, antioksidan mekanizmada görev alan maddeler uygulanan sterilizasyon yöntemlerinden farklı şekilde etkilenmektedirler. Yani bazı maddeler buhardan etkilenip Şelat Yapma Aktivitesinde düşüş gözlenirken, serbest radikalleri gideren bileşikler etilen oksitten daha çok etkilenmiştir. Yani antioksidan aktivitenin göstergesi olan yöntemler uygulanan sterilizasyon yöntemlerinden farklı şekilde etkilenmişlerdir.

Antioksidan aktiviteyi gösteren farklı yöntemlerin kullanıldığı bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre antioksidan aktivitesi en yüksek baharat adaçayı olmuş ve bunu sırasıyla kekik ve son olarak da fesleğen izlemiştir. Antioksidan aktiviteyi en iyi koruyan yöntemin ise genel anlamda buharla sterilizasyon yöntemi olduğu ve gama ışınlarıyla sterilizasyon yöntemi ile aralarında çok fazla fark olmadığı, antioksidan aktiviteyi en fazla düşüren yöntemin de etilen oksitle sterilizasyon yöntemi olduğu görülmektedir.

6. KAYNAKLAR

1. ABBAS, S. M. N. ve HALKMAN, K. 2003. Baharat Mikroflorası Üzerine Işınlamanın Etkisi. Orlab On-line Mikrobiyoloji Dergisi, 1(1): 43-65 www.mikrobiyoloji.org/pdf/ 702030304.pdf
2. ADAM, K., SIUROPOULOU, A., KOKKİNİ, S., LANARAS, T. and ARSENAKİS, M. 1998. Antifungal activities of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum, Mentha spicata, Lavandula angustifolia* and *Salvia fructicosa* essential oils against human pathogenic fungi. J. Agric. Food Chem., 46: 1739-1745.
3. AKGÜL, A. 1993. Baharat Bilimi ve Teknolojisi, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, No:15, Damla Matbaacılık ve Tic., Ankara, s.67-68.
4. ALKAN, H. 2003. Türkiye'de Endüstriyel Gama Işınlaması Uygulamaları. http://simad55.tripod.com/kitap2003/19.htm
5. ANON., 1976. Official Microbiological Methods of the American Spice Trade Association. First Edition, American Spice Trade Association, Inc., Englewood Cliffs N.L. 07632.
6. ANON., 1991. Chroma Meter CR 300/CR 310 Instruction Manual; Minolta Co. Ltd. Japan, 88.
7. ANON., 1997. New Patents. Trends in Food Science & Technology, Vol. 8., 383.
8. ANON., 2002a. Türk Gıda Kodeksi, Baharat Tebliği. 01.09.2002. Tebliğ No: 2002/45.
9. ANON, 2002b. Food irradiation becoming increasingly applied practice. Water Quality and Health Council. http//www.waterandhealth.org
10. ANON, 2003. http://mckinley.uiue.edu/health-info/nutrit/phytochemicals.htm
11. ANON, 2005. http://www.safespice.com/index2.htm
12. AREİAS, F., VALENTÃO, P., ANDRADE, P.B., FERRERES, F. and SEABRA, R.M. 2000. Flavonoids and phenolic acids of sage: Influence of some agricultural factors. J. Agric. Food Chem., 48: 6081-6084.
13. ARUOMA, O. I. 1994. Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidants. Food and Chemical Toxicology, 62: 671-683.
14. ARUOMA, O.I. 1997. Free radicals: dietary advantages and disadvantages. Oxidative stres and the molecular biology of antioxidant defences. Cold Spring Harbor Laboratory Pres, 841-860.
15. ARUOMA, O. I. 1998. Free radicals, oxidative stress and antioxidants in human health and disease. Journal of the American Oil Chemists' Society, 75: 199-212.
16. ARUOMA, O. I. 1999. Antioxidant actions of plant foods, use of oxidative DNA damage as a tool for studying antioxidant efficacy. Free Radical Research, 30: 419-427.
17. BARBİERİ, S., ELUSTONDO, M. and URBICAIN, M. 2004. Retention of aroma compounds in basil dried with low pressure superheated steam. Journal of Food Engineering, 65: 109-115.

18. BAŞOĞLU, F. 1999. Gıda Kalite Kontrol. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Notları No:50, 3. Baskı, Bursa,179.
19. BAXTER, R. and HOLZAPFEL, W.H. 1982. A microbial investigation of selected spices, herbs and additives in South Africa. J. Food Sci., 47: 570-578.
20. BERTELSEN, G., CHRISTOPHERSEN, C., NIELSEN, P.H., MADSEN, H.L. and STADEL, P. 1995. Chromatographie isolation of antioxidant guided by a methyl linoleate assay. J. Agric. Food Chem., 43: 1272-1275 .
21. BERTTELI, D., PLESSI, M. and MIGLIETTA, F. 2004. Effect of industrial microwave treatment on the antioxidant activity of herbs and spices. Ital. J. Food Sci., 1 (16): 97-103.
22. BLOİS, M. S., 1958. Antioxidant determinations by the use of stable free radical. Nature, 181: 1199-1200.
23. BOTSOGLOU, N. A., CHRISTAKI, E., FLETOURIS, D. J., FLOROU-PANERI, P. and SPAIS, A. B. 2002. The effect of dietary oregano essential oil on lipid oxidation in raw and cooked chicken during refrigerated storage. Meat Science, 62: 259-265.
24. BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M.E. and BERSET, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm.-Wiss. u.-Technol., 28: 25-30.
25. CALUCCİ, L., PİNZİNO, C., ZANDOMENEGHİ, M., CAPOCCHİ, A., GHİRİNGHELLİ, S., SAVİOZZİ, F., TOZZİ, S., L. GALLESCHİ, 2003. Effects of γ-irradiation on the free radical and antioxidant contents in nine aromatic herbs and spices, J. Agric. Food Chem., 51: 927-934.
26. CARDEÑOSA, R., MOHAMED, R., PİNEDA, M. AND AGUİLAR, M., 2002. On-line HPLC detection of tocopherols and other antioxidants through the formation of a phosphomolybdenum complex. J. Agric. Food Chem., 50: 3390-3395.
27. CERUİTTİ, P. A. 1991. Oxidant stress and carcinogenesis. Europan Journal of Clinical Investigation, 21: 1-11.
28. CHANG, S.S., OSTRİC-MATİJASEVİC, B.,HSİEH, O.A.L. AND HUANG, C.L. 1977. Natural antioxidants from rosemary and sage. J. Food Sci., 42: 1102-1106.
29. CHE MAN, Y.B. and JASWİR, I. 2000. Effect of rosemary and sage extracts on frying performance of refined, bleached and deodorized (RBD) palm olein during deep-fat frying. Food Chem., 69: 301-307.
30. CHE MAN, Y.B. and TAN, C.P. 1999. Effect of natural and synthetic antioxidants on changes in refined, bleached and deodorized palm olein during deep-fat frying of potato chips. J. Am. Oil Chem. Soc., 76: 331-339.
31. COSTANTINO, L., ALBASINO, A., RASTELLI , G. AND S. BENVENUTI, 1992. Activity of polyphenolic crude extracts as scavengers of superoxide radicals and inhibitors of xanthine oxidase. Planta Med., 58: 342-344.
32. CUVELİER, M.E., BERSET, C. and RİCHARD, H. 1994. Antioxidant constituents in sage (*Salvia officinalis*). J. Agric. Food Chem., 42: 655-669.

33. DAVİES, K. J. A. 1994. Oxidative stres: The paradox of aerobic life. Biochemistry Society Symphosium, 61: 1-34.
34. DEİGHTON, N., GLİDEWELL, S.M., DEANS, S.G. and GOODMAN, S.G. 1993. Identification by EPR spectroscopy of carvacrol and thymol as the major sources of free radical in the oxidation of plant essential oils. J. Sci. Food Agric., 63: 221-225.
35. DERİN, D., YAZICI, A. ve ERKOÇ, Ş., 2001. Şizofrenik bozukluğu olan hastalarda serbest radikal metabolizması ve nonenzimatik antioksidan savunma sistemi elemanlarının incelenmesi. Klinik Psikofarmokoloji Bülteni, 11: 174-182.
36. DOĞAN, M., 2002. Sağlıklı yaşamın kimyası. Popüler Bilim Dergisi, 32-36. http://yunus.hacettepe.edu.tr/~dogan/20.html
37. DİLLARD, C.J. and GERMAN, J.B. 2000. Phytochemicals: nutraceuticals and human health. Journal of the Science of Food and Agriculture, 80: 1744-1756.
38. DUH, P. D. 1998. Antioxidant activity of burdock (*Arctium lapa* Linne): Its scavenging effect on free radical and active oxygen. Journal of the American Oil Chemist's Society, 75: 455-465.
39. DUH, P.D., TU, Y.Y. and YEN, W.J. 1999. Antioxidant activity of water extracts of harng Jyur (*Chrysanthemum morifolium Ramat)*. Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie, 32, 269-277.
40. DUH, P.D., YEN, G.C., YEN, W.J. and CHANG L.W. 2001. Antioxidant effects of water extracts from barley (*Hordeum vulgare* L.) prepared under different roasting temperatures. J. Agric. Food Chem., 49, 1455-1463.
41. DUTHİE, G.G. 1999. Parsley, polyphenols and nutritional antioxidants. British Journal of Nutrition, 81: 425-426.
42. DZİEZAK, J. D. 1989.Spices: aromatic, savory, spicy, hot. Food Technol., 43(1):102-116.
43. EBADİ, M. 2002. Pharmacodynamic Basis of Herbal Medicine. CRC Pres LLC.
44. ECONOMOU, K.D., OREOPOULOU, V. and THOMOPOULOU, C.D. 1991. Antioxidant properties of some plant extracts of the Labiatae family. Journal of the American Oil Chemical Society, 68: 109-113.
45. EL, S. N. and KARAKAYA, S. 2004. Radical scavenging and iron-chelating activities of some greens used as traditional dishes in Mediterranean diet. Int. J. of Food Sci. and Nut., 55 (1): 67-74.
46. EL-ALİM, S.L.A., LUGASİ, A., HÓVÁRİ, J. and DWORSCHÁK, L. 1999. Culinary herbs inhibit lipid oxidation in raw and cooked minced meat patties during storage. J. Sci. Food Agric., 79: 277-285.
47. EL-HABİT, O. H. M., SAADA, H. N. and AZAB, K. S. 2000. The modifying effect of β-carotene on gamma radiation-induced elevation of oxidative reactions and genotoxicity in male rats. Mutation Research, 466: 179-186.

48. ESSAWİ, T. and SROUR, M. 2000. Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. Journal of Ethnopharmacology, 70: 343-349.
49. FARKAS, J. 1988. Irradiation of dry food ingredients. CRC Pres, Florida, p. 1-9 and 25-36.
50. FARRELL, K.T. 1985. Spices Condiments and Seasonings. AVI Publishing Co., Westport, Connecticut, p.1-12.
51. FRANKEL, E.N. and MEYER, A.S. 2000. Review: The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. J. Sci. Food Agric., 80: 1925-1941.
52. GOULD, G.W. 1996. Methods for preservation and extension of shelf life. Int. J. Food Microbiol., 33: 51-64.
53. GÜLÇİN, I., OKTAY, M., KUFREVİOĞLU, O. I. and ASLAN, A. 2000. Determination of antioxidant activity of Lichen *Cetraria islandica* (L) Ach. Journal of Ethnopharmacology, 79(3): 325-329.
54. GÜLÇİN, I., SAT, I.G., BEYDEMİR, S. ve KÜFREVİOĞLU, Ö.I. 2004. Evaluation of the in vitro antioxidant properties of Broccoli extracts (*Brassica Oleracea* L.). Italian Journal of Food Sci., 1 (16):17-30.
55. GÜNDÜÇ, N. 2000. Düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) oksidasyonu üzerine toplam fenolik bileşiklerin antioksidan etkilerinin in vitro koşullarda saptanması. Doktora Tezi, E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Müh. Anabilim Dalı, İzmir.
56. HALLİWELL, B. and GUTTERİDGE, J. M. C. 1989. Free radicals in biology and medicine (pp. 23-30). Oxford: Clarendon Press.
57. HALLİWELL, B., GUTTERİDGE, J. M. C. and CROSS, C. E. 1992. Free radicals, antioxidants, and human disease: Where are we now. Journal of Laboratory and Clinic Medical, 119: 598-620.
58. HATANO, T., EDAMATSU, R., MORİ, A., FUJITA, Y. and YASUHARA, E. 1989. Effect of interaction of tannins with co-existing substances. VI. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical and on DPPH radical. Chemistry and Pharmacology Bulletin, 37, 2016-2021.
59. HAYASHİ, T., TODORİKİ, S. and KOHYAMA, K. 1994. Irradiation effects on pepper starch viscosity. J. Food Sci., 59, (1): 118-120.
60. HOUHOULA, D.P., OREOPOULOU, V. and TZİA, C. 2003. Antioxidant efficiency of oregano during frying and storage of potato chips. J. Sci. Food Agric., 83: 1499-1503.
61. INATANİ, R., NAKATANİ, N. and FUWA, H. 1983. Antioxidative effect of the constituents of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and their derivatives. Agric. Biol. Chem., 47: 521-528.
62. ISMAİLİ, H., MİLELLA, L., FKİH-TETOUANİ, S., ILİDRİSSİ, A., CAMPORESE, A., SOSA, S., ALTİNİER, G., LOGGİA, R. D. and AQUİNO, R. 2004. In vivo topical anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of two extracts of *Thymus satureioides* leaves. Journal of Ethnopharmacology, p 1-6.

63. JAVANMARDİ, J., KHALİGHİ, A., KASHİ, A., BAİS, H.P. and VİVANCO, J.M. 2002. Chemical characterization of Basil (*Ocimum basilicum* L.) found in local accessions and used in traditional medicines in İran. J. Agric. Food Chem., 50: 5878-5883.
64. JAVANMARDİ, J., STUSHNOFF, C., LOCKE, E. and VİVANCO, J.M. 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of İranian *Ocimum* accessions. Food Chem., 83: 547-550.
65. JUSTESEN, U. and KNUTHSEN, P. 2001. Composition of flavonoids in fresh herbs and calculation of flavonoid intake by use of herbs in traditional Danish dishes. Food Chem., 73: 245-250.
66. KANNER, J., GERMAN, J. B. and J. E. KINSELLA, 1987. Initiation of lipid peroxidation in biological systems. Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 25: 317-364.
67. KARPİŃSKA, M., BOROWSKİ, J. and DANOWSKA-OZİEWİCZ, M., 2001. The use of natural antioxidants in ready-to-serve food. Food Chemistry, 72: 5-9.
68. KAUR, C. and KAPOOR, H.C. 2001. Antioxidants in fruits and vegetables-the millennium's health. International Journal of Food Science and Technology, 36:703-725.
69. KÄHKÖNEN, M.P., HOPİA, A.I., VUORELA, H.J., RAUHA, J.P., PİHLAJA, K., KUJALA, T.S. and HEİNONEN, M., 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47: 3954-3962.
70. KEHRER, J. P. 1993. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. CRC Critical Review Toxicology, 23: 21-48.
71. KISPETER, J., BAJÚSZ-KABOK, K., FEKETE, M., SZABO, G., FODOR, E. and PALİ, T. 2003. Changes induced in spice paprika powder by treatment with ionizing radiation and saturated steam. Radiation Physics and Chemistry, 68: 893-900.
72. KOKKİNİ, S. 1994. Herbs of the Labiatae. In R. Macrac, R. Rabinson, M. Sadler ve Fuulcrlovc, G. (Eds.), Encyclopaedia of food science, Food Technology an Nutrition, London: Academic Pres. p. 2342-2348.
73. KOREL, F. ve ORMAN, S. 2005. Gıda ışınlaması, uygulamaları ve tüketicinin ışınlanmış gıdaya bakış açısı. HR.Ü.Z.F. Dergisi, 9 (2): 19-27.
74. KULİSİC, T., RADONİC, A., KATALİNİC, V. and MİLOS, M. 2003. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. Food Chem., 12:36-42.
75. LACROIX, M. and OUATTARA, B. 2000. Combined industrial processes with irradiation to assure innocuity and preservation of food products-a review. Food Research International, 33: 719-724.
76. LAGOURİ, V., BLEKAS, G., TSİMİDOU, M., KOKKİNİ, S. and BOSKOU, D. 1993. Composition and antioxidant activity of essantial oil from Oregano plants grown in Greece. Lebensmitt.-Unters. Forsch, 197: 20-23.
77. LAGUNAS-SOLAR, M.C. 1995. Radiation Processing of Foods: An Overview of Scientific Principles and Current Status. Journal of Food Protection, 58,(2): 186-192 .

78. LARSON, R.A. 1997. Naturally occuring antioxidants.
79. LEİSTRİTZ, W. 1997. Methods of bacterial reduction in spices. Spices, 660: 7-10.
80. LİU, F. and NG, T.B. 2000. Antioxidative and free radical scavenging activities of selected medicinal herbs. Life Sci., 66: 725-735.
81. LOLOS, M., OREOPOULOU, V. and TZİA, C. 1999. Oxidative stability of potato chips: effect of frying oil type, temperature and antioxidants. J. Sci. Food Agric., 79:1524-1528.
82. MADSEN, H.L., NİELSEN, B.R., BERTELSEN, G. and SKİBSTED, L.H. 1996. Screening of antioxidative activity of spices. A comparison between assays based on ESR spin trapping and electrochemical measurement of oxygen consumption. Food Chem., 57: 331-337.
83. MANZOCCO, L., ANESE, M. and NİCOLİ, M.C. 1998. Antioxidant properties of tea extracts as affected by processing. Lebensm.-Wiss. U.-Technol., 31: 694-699.
84. MARCOTTE, M. 2001. Effect of irradiation of spices, herbs and seasoning-comparison with ethylene oxide fumigation. http://www.food-irradiation.com/spices.htm.
85. MEIR, S., KANNER, J., AKIRI, B. and HADAS, S.P. 1995. Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 43, 1813.
86. MEİSTER, A., BERNHARDT, G. CHRİTOFFEL, V. and BUSCHAUER, A. 1999. Antispasmodic activity of *Thymus vulgaris* extract on the isolated guinea-pig trachea: discrimination between drug and ethanol effects. Planta Medica, 65: 512-516.
87. MEYER, A. S., RØRBÆK, K. and J. ADLER-NISSEN, 1994. Critical assessment of the applicability of superoxide dismutase. Food Chem., 51: 171-175.
88. MİLLER, N. J., DİPLOCK, A. T. and RİCE-EVANS, C. A. 1995. Evaluation of the total antioxidant activity as a marker of the deterioration of apple juice in storage. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 43: 1794-1801.
89. MİLİAUSKAS, G., VENSKUTONİS, P.R. and VAN BEEK, T.A. 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food Chem., 85: 231-237.
90. MİURA, K. and NAKATANİ, N. 1989. Antioxidative activity of flavonoids from tyhme (*Thymus vulgaris* L.). Agric. Biol. Chem., 53: 3043-3045.
91. MONK, J. D., BEUCHAT, L. R. and DOYLE, M. P. 1995. Irradition Inactivation of Food-Borne Microorganisms. Journal of Food Protection, 58 (2): 197-208.
92. MUNASİRİ, M. A., PARTE, M.N., GHANEKAR, A.S., SHARMA, A., PADWAL-DESAİ, S.R. and NADKARNİ, G.B. 1987. Sterilization of ground prepacked Indian spices by gamma irradiation. J. Food Sci., 52 (3): 823-824,826.
93. NG, T.B., LİU, F. and WANG, Z.T. 2000. Antioxidative activity of natural products from plants. Life Sci., 66: 709-723.
94. OLSON, D. G. 1998. Irradition of Food. Food Technol., 52 (1): 56-62.

95. OVA, G. 2001. Gıda Katkı Maddeleri (Edit: Altuğ, T.). Koruyucular. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Meta Basım, İzmir, 107-142.
96. ÖZLEM, S. ve MARANGOZ, S. 1999. baharat ışınlanmasının mikrobiyal flora üzerine etkisi. Bitirme ödevi Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü.
97. PAREJO, I., CODİNA, C., PETRAKIS, C. and KEFALAS, P. 2000. Evaluation of scavenging activity assessed by Co(II)/EDTA induced luminol chemiluminescence and DPPH' (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) free radical assay. Journal of Pharmacological and Toxicological Methods, 44: 507-512.
98. PİGGOTT, J. R. and OTHMAN, Z. 1993. Effect of irradiation on volatile oils of black pepper. Food Chem., 46 (2): 115-119.
99. RAMANATHAN, L. and DAS, N.P. 1993. Natural products inhibit oxidative rancidity in salted cooked groun fish. J. Food Sci., 58: 318-360.
100. REİNECCİUS, G. 1994. Source Book of Flavors. Chapman & Hall, New York, London.
101. RIVAL, S.G., BOERIU, C.G. and WICHERS, H.J. 2001. Caseins and casein hydrolysates antioxidative properties and relevance to lipoxygenase inhibition. J. Agric. Food Chem., 49, 295-302.
102. ROBİNSON, E. E., MAXWELL, S. R. J. and THORPE, G. H. G. 1997. An investigation of antioxidant activity of black tea using enhanced chemiluminescence. Free Radical Research, 26: 291-302.
103. RUCH, R. J., CHENG, S. J. and KLAUNIG, J. F. 1989. Prevention of cytotoxicity and inhibition of intracellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. Carcinogenesis, 10 : 1003-1008.
104. SAS, 1999. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
105. SASAKİ, S., OHTA, T. and DECKER, E. A. 1996. Antioxidant activity of water soluble fraction of solmon spremary tissue. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 44: 1682-1686.
106. SCOOT, G. 1997. Initiators prooxidants and sensitizers, in atmospheric oxidation and antioxidants, Vol I, Ed by Scoot G., Elsevier, Amsterdam, p. 83-119.
107. SHAHİDİ, F., JANİTHA, P. K. and WANASUNDARA, P. D. 1992. Phenolic antioxidants. Critical Reviews in Food Science & Nutrition, 32: 67-103.
108. SHAHİDİ, F. 2000. Antioxidant in food and food antioxidants. Nahrung, 44: 158-163.
109. SHERWİN, E. R. 1978. Oxidation and antioxidants in the processing. J. Am. Oil Chem. Soc., 55: 809-813.
110. SHERWİN, E.R. 1990. Antioxidants. In A. L. Branen, P.M. Davidson, S. Salminen, Food antioxidants. New York: Marcel Dekker Inc.
111. SİMON, J.E. 1995. New crop fact sheet basil; http://www.hortpurdue.edu/newcrop/CropFactSheet/basil.html.

112. SINGLETON, V. L., ORTHOFER, R. M. and RAMUELA-RAVENTOS, R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. Methods Enzymol., 299: 152-178.

113. SNYDER, O. P. and POLAND, D. M. 1995. http://www.hitm.com/Documents/ Irrad.html Food irradiation today.

114. ST. ANGELO, A.J., CRİPPEN, K.L., DUPUY, H.P. and JAMES, C. JR. 1990. Chemical and sensory studies of antioxidant-treated beef. J. Food Sci., 55 (6):1501-1505.

115. ŞENGÜN, P. 2001. Süperkritik CO_2 ekstraksiyonu ile elde edilmiş biberiye ekstraktının ayçiçek yağındaki antioksidan aktivitesinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, E.Ü. Fen Bilimleri Ens., Gıda Müh. Ana Bilim Dalı, İZMİR.

116. TAİNTER, D.R. 1992. Spices and seasonings. In "Encyclopedia of Food Sciences and Technology", ed. Hui, Y.H. pp.2410-2418 John Wiley & Sons, Inc. N. Y.

117. TOPAL, Ş. 1988. Gıdaların muhafazasında ışınlama: Günümüzdeki uygulamalar ve sorunlar. Gıda Sanayi, 10: 21-29.

118. TSİMİDOU, M. and BOSKOU, D. 1994. Antioxidant activity of essantial oils from the plants of the Lamiaceae family. In G. Charalambous (Ed.), Spices, herbs and edible fungi (pp. 273-284). Amsterdam: Elsevier.

119. ÜNLÜTÜRK, A., TURANTAŞ, F. 2002. Gıdaların Mikrobiyolojik Analizi. Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, İzmir, 186 s.

120. VAJDİ, M. and PEREİRA, R. P. 1973. Comparative effect of ethylene oxide, gamma irradiation and microwave treatment on selected spices. J. Food Sci., 38: 893-895.

121. VEKİARİ, S. A., OREOPOULOU, V., TZİA, C. and THOMOPOULOS, C. D. 1993. Oregano flavonoids as lipid antioxidants. Journal of American Oil Chemical Society, 70: 483-487.

122. VELİOĞLU, Y.S., MAZZA, G., GAO, L. and OOMAH, B.D. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. Journal of Agricultural Food and Chemistry, 46: 4113-4117.

123. VELİOĞLU, S. 2000. Doğal antioksidanların insan sağlığına etkileri. Gıda, 25, 3, 167-176.

124. WALTZ, L. 1996. The Herbal Encyclopedia; http://www.wic.net/waltzark/herbenc.htm.

125. WANASUNDARA, U. N. and SHAHIDI, F. 1998. Antioxidant and pro-oxidant activity of green tea extracts in marine oils, Food Chemistry, 63: 335-342.

126. WANG, J.W., HASHIMOTO, K. and SHIBAMOTO, T. 1995. Antioxidant activities of rosemary and sage extracts and vitamin E in a model meat system. J. Agric. Food Chem., 43 (10): 2707-2712.

127. WANG, H., CAO, G. H. and PRİOR, R. L. 1996. Total antioxidant capacity of fruits. Journal of Agricultural Food Chemistry, 44: 701-705.

128. WANG, M., KIKUZAKI, H., ZHU, N., SANG, S., NAKATANI, N. and HO, C.T. 2000. Isolation and structural elucidation of two new glycosides from sage (*Salvia officinalis* L.). J. Agric. Food Chem., 48: 235-238.
129. WU, J.W., LEE, M.H., HO, C.T. and CHANG, S.S. 1982. Elucidation of the chemical structures of natural antioxidants isolated from rosemary. J. Amer. Oil Chemists' Soc., 59: 339-345.
130. YAMAGUCHI, F., ARIGA, T., YOSHIMIRA, Y. and H. NAKAZAWA, 2000. Antioxidant and anti-glycation of carcinol from Garcinia indica fruit rind. J. Agric. Food Chem., 48:180-185.
131. YANİSHLİEVA, N. V. and MARİNOVA, E. M. 1995. Antioxidant activity of selected species of the family Lamiaceae grown in Bulgaria. Die Nahrung, 39: 458-463.
132. YANİSHLİEVA, N. V., MARİNOVA, E. M., GORDON, M. H., and RANEVA, V. G. 1999. Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. Food Chemistry, 64: 59-66.
133. YEN, G.C. and DUH, P. D. 1994. Scavenging effect of methanolic extracts of peanut hulls on free radical and active oxygen. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 42: 629-632.
134. YEN, G.C. and WU, J.Y. 1999. Antioxidant and radical scavenging properties of extracts from Ganoderma tsugae. Food Chem., 65: 375-379.
135. YILDIRIM, A., MAVİ, A., OKTAY, M., KARA, A. A., ALGUR, Ö. F., and BİLALOĞLU, V. 2000. Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of tilia (*Tilia argentea* Desf Ex DC), sage (*Salvia triloba* L.) and black tea (*Camellia sinensis*) extracts. J. Agric Food Chem., 48: 5030-5034.
136. YILDIRIM, A., MAVİ, A. and KARA, A. A. 2001. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49: 4083-4089.
137. YOUDİM, K.A. and DEANS, S.G. 1999. Dietary supplementation of thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil during the lifetime of the rat: its effects on the antioxidant status in lliver, kidney and heart tissues. Mechanisms of Ageing and Development, 109:163-175.
138. YOUSİF, A.N., SCAMAN,, C.H., DURANCE, T.D. and GİRARD, B. 1999. Flavor volatiles and physical properties of vacuum-microwave and air-dried sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47: 4777-4781.
139. ZHENG, W. ve WANG, S. Y. 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49: 5165-5170.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

ADI SOYADI: Sibel ORMAN
DOĞUM YERİ/TARİHİ: İZMİR/ 23.08.1980
UYRUĞU: T.C.

EĞİTİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans: 2002-2004 Celal Bayar Üniversitesi, Manisa
Lisans : 1998-2002 Celal Bayar Üniversitesi, Manisa
Lise : 1994-1998 Mersinli Anadolu Teknik Lisesi, Kimya Bölümü, İzmir
Ortaokul : 1991-1994 Altındağ Ortaokulu, İzmir
İlkokul : 1986-1991 Evrenosoğlu İlkokulu, İzmir

İŞ DENEYİMİ

1. SEÇSAN YEMEK FABRİKASI – KAL. HİJYEN SORUMLUSU
2. KARMEZ BİRLEŞİK GIDA A.Ş. (Unlu Mamül) – ARGE LABORATUVARI - 7 ay
3. C.B.Ü KALİTE KONTROL VE GIDA KİMYASI LABORATUVARI – 1 YIL
4. TSE – GIDA LABORATUVARI - 2 AY (STAJ)
5. TÜPRAŞ – FİZİKOKİMYA LABORATUVARI – 2 AY
   ANALİTİK KİMYA LABOATUVARI – 2 AY