

## ARAŞTIRMA

# Bazı yağ altı sularının uçucu bileşikleri ve mikrobiyal kontrolleri

Neşe Kırimer<sup>1</sup>, Çiğdem Köseoğlu<sup>1</sup>, Gökalp İşcan<sup>1</sup>, Mine Kürkçüoğlu<sup>1</sup>, K.Hüsni Can Başer<sup>2</sup>

**ÖZET:** Ülkemizde halk arasında yaygın olarak kullanılmakta olan yağ altı sularının kontrol ve standardizasyonu için yapılmış araştırma sayısı yok denecek kadar azdır. Bu konudaki eksikliği kısmen giderebilmek için Eskişehir’de ticari potansiyeli yüksek olan ve market raflarından kolaylıkla ulaşılabilen başta gül ve kekik suyu olmak üzere hayıt, karabaş, melisa, ökaliptus ve papatya sularının n-hekzan ile sıvı-sıvı ekstraksiyonu yapılarak elde edilen uçucu bileşikler fraksiyonunun Gaz Kromatografisi (GK) ve Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (GK/KS) analizleri gerçekleştirilmiştir ve membran filtrasyon yöntemi ile mikrobiyal kirlilikleri kontrol edilmiştir.

GK/KS sonuçlarına göre; gül suyunda fenil etil alkol, geraniol, sitronellol; hayıt, karabaş, kekik ve papatya sularında karvakrol; melisa suyunda öjenol; ökaliptus suyunda ise 1,8-sineol ve kafur yağ altı sularında ana bileşikler olarak belirlenmiştir. Papatya suyunun bileşimine bakıldığında ise ilginç olarak ana maddenin %32 oranla karvakrol olduğu görülmüştür. Yapılan mikrobiyolojik kontrollerde ise bazı markalara ait gül ve melisa sularının yüksek seviyede bakteri kontaminasyonuna sahip olduğu gözlenmiş, özellikle Melisa suyunda fekal koliform, koliform ve *P. aeruginosa* bakterilerinin standartların üzerinde olduğu belirlenmiştir. Halkımızın hekim ve eczacısına danışmadan kontrolsüz olarak dâhilen tükettiği bu ve benzeri ürünlerin üretim izni ve kontrollerinin en kısa sürede Sağlık Bakanlığı izin ve denetimine verilmesi önerilmektedir.

**ANAHTAR KELİMELER:** Yağ altı suyu, Gaz Kromatografisi (GK), Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (GK/KS), Membran filtrasyon, Sıvı-sıvı ekstraksiyonu

## KURUM

<sup>1</sup>Anadolu Üniversitesi  
Eczacılık Fakültesi,  
Farmakognozi AD, Eskişehir,  
Türkiye

<sup>2</sup>King Saud Üniversitesi,  
Fen Fakültesi, Mikrobiyoloji  
ve Botanik Bölümü, Riyad,  
Suudi Arabistan

## İLETİŞİM

Neşe Kırimer  
E-posta:

nkirimer@gmail.com

Gönderilme:  
20.05.2011

Revizyon:  
07.09.2011

Kabul:  
21.09.2011

## GİRİŞ

Türkiye yaklaşık 11.000 bitki türü ile zengin bir floraya sahiptir. Bu türlerin üçte birini aromatik bitkiler oluşturmaktadır. Son yıllarda ticari amaçla pek çoğunun uçucu yağları üretilmekte ve yağ altı suları da şişelenerek çeşitli markalar altında, gıda takviyesi şeklinde piyasaya sürülmektedir. Yağ altı suyu kavramı aromatik bitkilerden su veya buhar distilasyonu ile uçucu yağ elde edilmesi esnasında toplama kabında biriken yağ altı suyunu ifade etmektedir (1). Ülkemizde gerek köylerde imbiklerle yapılan üretimler sonucu gerekse fabrikasyon üretimlerde uçucu yağlar üretilirken, yağ altı suları da bol miktarda elde edilmektedir. Daha önceleri özellikle köy tipi üretim sonucu elde edilen bu sular köylülerce ev ürünü şeklinde pazarlanırken, günümüzde büyük işletmelerce şişelenerek ve etiketlenerek piyasaya sunulmaya başlanmıştır. Bu ürünlerin denetiminin yeterince yapıp ya-

pılmadığı konusunda herhangi bir bilgiye rastlanmamaktadır.

Çalışmamızda, Eskişehir piyasasından temin edilen bazı yağ altı sularının uçucu bileşimleri ve mikrobiyal kirliliklerinin incelemesi planlanmış, piyasada bol bulunan 7 çeşit yağ altı suyu materyal olarak seçilmiştir. Bunlar; gül, hayıt, karabaş, kekik, oğul otu, ökaliptus ve papatyadır.

Yapılan piyasa araştırmasında gül ve kekik sularının en fazla tüketilen ürünler olduğu belirlenmiştir. Gül suyu (*Rosae aqua*) *Rosa damascena* Miller çiçeklerinin su distilasyonu ile gül yağı elde edilmesi sırasında, yan ürün olarak elde edilir. Özel gül kokulu ve renksiz bir sıvıdır. Ana bileşik olarak feniletıl alkol taşır. Antiseptik etkiye sahiptir. Haricen ve özellikle göz hastalıklarında, antiseptik olarak kullanılır (2). Türkiye’de “Kekik” ismi, karvakrol kokusuna sahip olan bitkiler için kullanılır. Uçucu yağları yüksek miktarda

karvakrol içermektedir. Labiatae familyasına dahil olan *Origanum*, *Thymus*, *Thymbra*, *Satureja* ve *Coridothymus capitatus* (L.) Reichb. fil. kekik adı ile bilinen bitkilerdir (3, 4). Batı ve Güneydoğu Anadolu yaylalarında yetişen bazı *Origanum* türlerinin çiçekli dallarından su buharı distilasyonu ile elde edilir ve az miktarda fenolik bileşikler taşır. Sindirim sistemi rahatsızlıklarında kullanılmaktadır (5). Kekik suyunda bulunan uçucu bileşikler karvakrol (%85-90) ve timol (%3-6) olarak bildirilmektedir (6, 7). Hayıt suyu, *Vitex agnus-castus* L. türünün meyve veya çiçek durumlarından elde edilmektedir. Karabaş suyu *Lavandula stoechas* L. çiçeklerinden, melisa suyu *Melissa officinalis* L. yapraklarından, ökaliptus suyu *Eucalyptus globulus* Labill. ve yakın türlerden, papatya suyu ise, *Matricaria chamomilla* L. türü ve varyetelerinin çiçek durumlarından elde edilmektedir.

Bu çalışmada, temin edilen yağ altı sularının bileşimini belirlemek amacıyla sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile elde edilen *n*-hekzan fraksiyonunun Gaz Kromatografisi (GK) ve Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi (GK/KS) ile analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu araştırma sonucunda yağ altı sularının hammaddesi olan bitkilerin, doğal olarak taşıdığı uçucu bileşiklerle bir karşılaştırma yapılmış, hammadde kullanımında ve üretim aşamalarında gösterilen dikkat ve özenin ortaya konması amaçlanmıştır. Su veya buhar distilasyonu yöntemleriyle elde edildiği ve aseptik şartlar altında şişelendiği düşünülen bu ürünlerin sağlığa zararlı miktarda veya türde mikroorganizma taşımaması gerekmektedir. Bu amaçla, Sağlık Bakanlığı tarafından hazırlanarak 17.02.2005 tarih 25730 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan ve yürürlüğe giren "İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkındaki Yönetmelik" hükümlerine göre sulara yapılması gerekli mikrobiyolojik analizler gerçekleştirilmiştir (8).

## GEREÇ VE YÖNTEM

Farklı markalara ait belirli sayılarda ve rastgele seçilmiş 7 çeşit yağ altı suyu numunesi, *n*-hekzan ile ekstre edilmiş, GK ve GK/KS sistemleri ile içerdiği bileşikler ve relatif yüzdeleri belirlenmiştir. Aseptik şartlar altında yapılan örnekleme sonucunda elde edilen numunelerin mikrobiyolojik analizleri gerçekleştirilmiş, sonuçlar tablolar halinde verilmiştir.

Yağ altı sularının temini sırasında, bazı yağ altı sularının sadece tek markada olduğu, özellikle gül ve kekik suyu olmak üzere bazılarının birden çok firma (A-G) tarafından üretildiği tespit edilmiştir.

## Yağ altı sularında uçucu bileşiklerinin izolasyonu

3 tekrarlı olmak üzere, yağ altı suyu, çözücü oranı 5:1 olacak şekilde hazırlanan ekstraksiyon sisteminde (9, 10) çözücü olarak *n*-hekzan (MERCK) kullanılmıştır. Ekstraksiyon işlemleri sonucunda elde edilen ekstratlar susuz sodyum sülfattan süzülerek 40°C'de alçak basınç altında yoğunlaştırılmıştır (7).

## Uçucu Bileşiklerin Analizi

Yoğunlaştırıldıktan sonra az miktarda *n*-hekzan ile çözülerek amber şişelere aktarılan ve saklanan ekstratların eş zamanlı olarak GK ve GK/KS sisteminde analizleri yapılmıştır.

### Gaz Kromatografisi (GK) analiz şartları:

Sistem	: Agilent 6890N GC
Kolon	: Innowax Silika kapiler kolon (60m x 0.25mm i.d. x film kalınlığı, 0.25µm)
Dedektör	: FID
Taşıyıcı gaz	: Azot
Split oranı	: 40:1
Sıcaklıklar	
Kolon	: 60°C-10 dak // 4°C/dak// 220°C-10 dak // 1°C/dak// 240°C

Enjeksiyon : 250°C

Dedektör : 300°C

### Gaz kromatografisi/kütle spektrometrisi (GK/KS) analiz şartları:

Sistem	: Agilent GC-MSD
Kolon	: Innowax Silika kapiler kolon
Sıcaklık Programı	: 60°C-10 dak // 4°C/dak// 220°C-10 dak // 1°C/dak// 240°C
Enjektör sıcaklığı	: 250°C
Taşıyıcı gaz	: Helyum (1 ml/dak)
Split oranı	: 40:1
Elektron enerjisi	: 70 eV
Kütle Aralığı	: m/z 35-450

Değerlendirme işlemleri "BAŞER Uçucu Yağ Bileşenleri Kütüphanesi", Wiley ve Adams - LIBR (TP) Kütüphane tarama yazılımları kullanılarak yapılmıştır.

## Yağ altı sularının mikrobiyolojik analizi

Örnekler aseptik şartlarda ve mümkün olan en kısa süre içerisinde laboratuvara getirilerek analizleri gerçekleştirilmiştir. Yağ altı sularında, toplam mezofilik aerobik bakteri, koliform

**TABLO 1.** Mikrobiyolojik analiz parametreleri.

Testler	Besiyeri*	Süzülen Numune Miktarı	İnkübasyon Sıcaklığı	İnkübasyon Süresi (saat)
Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri	Standart TTC	1 mL	22 ± 0,5 °C	72 ± 2
Koliform Bakteri	Endo	250 mL	35 ± 0,5 °C	24 ± 2
Escherichia coli	Endo	250 mL	35 ± 0,5 °C	24 ± 2
Fekal Koliform Bakteri	M-FC	250 mL	35 ± 0,5 °C	24 ± 4
Enterokok Grubu Bakteri	Azide	250 mL	35 ± 0,5 °C	44 ± 4
Pseudomonas aeruginosa	Cetrimide	250 mL	35 ± 0,5 °C	48 ± 4
Patojen Stafilokok Grubu Bakteri	Chapman	100 mL	35 ± 0,5 °C	72

\*Ticari hazır plaklar (Sartorius: Goettingen/GERMANY), şeklinde satın alınıp, ekimleri yapılmıştır.

**TABLO 2.** Yağ altı suları marka kodları ve ekstraksiyon verimleri (%).

Adı	Marka	%Verim
Gülsuyu	A	0,11
	B	0,16
	C	0,24
	D	0,14
Hayıt Suyu	E	0,12
	F	0,14
Karabaş Otu Suyu	E	0,16
	F	0,16
Kekik Suyu	E	1,61
	F	0,13
	G	0,13
Melisa Suyu	E	0,09
Ökalyptus Suyu	E	0,17
Papatya Suyu	E	0,07

bakteri, *E. coli*, fekal koliform bakteri, enterokok grubu bakteri, *Pseudomonas aeruginosa*, patojen stafilkok grubu bakteri olmak üzere, membran filtrasyon yöntemi ile 7 farklı bakteri sayımı gerçekleştirilmiştir. 3 paralel olacak şekilde yapılan analizlerin ortalama sonuçları, adet/mL şeklinde verilmiştir. Tüm mikrobiyolojik analizler, "İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkındaki Yönetmelik" hükümlerinde anlatıldığı gibi, her bir test için farklı miktarlarda olmak üzere 0.45 µm por çapındaki steril membran filtrelerden süzölmüştür. Steril yıkama solüsyonu ile yıkanan filtreler, ilgili besi ortamlarına aktarılmış ve çeşitli sıcaklıklarda inkübe edilmiştir (Tablo 4).

## SONUÇ

Gül, hayıt, karabaş, kekik, melisa, ökalyptus ve papatya sularının *n*-hekzan ile yapılan sıvı-sıvı ekstraksiyonları sonucunda farklı verimlerde (Tablo 2.) ekstreler elde edilmiştir.

Yağ altı sularının GK ve GK/KS analiz sonuçlarına göre belirlenen ana bileşikleri (≥%5) ve bağlı %miktarları Tablo 3'de verilmiştir.

Analiz sonuçlarına göre, gül sularında ana maddelerin fenil etil alkol, geraniol ve sitronellol olduğu, hayıt suyunda karvakrol ve 1,8-sineol, karabaş suyunda kafur ve karvakrol, kekik suyunda ise beklenildiği gibi karvakrolün ana bileşikler olduğu saptanmıştır. Öjenol, melissa suyunun ana maddesi olarak tespit edilirken, ökalyptus suyunda 1,8-sineol ve kâfur ana bileşikler olarak belirlenmiştir. Papatya suyunun bileşimine bakıldığında ise ilginç olarak ana maddenin %32 oranla karvakrol olduğu görölmüştür.

"İnsani Tüketim Amaçlı Sular Yönetmeliği"ne göre, total mezofil bakteri sayımı (22°C inkübasyonda) ml'de 100 kob (koloni oluşturan birim)'ya kadar izin vermektedir. Diğer sayım testlerinde ise hiçbir bakteriye ait koloninin ürememesi gerektiği bildirilmiştir. Çalışmamıza konu olan yağ altı sularının mikrobiyolojik analiz sonuçları değerlendirildiğinde ise, gül suyuna ait 2 marka bu koşulları sağlamışken, diğer 2 markanın olması gereken çok üzerinde bakteri yüküne sahip olduğu görölmüştür. Melisa suyu hariç, hayıt, karabaş, kekik, ökalyptus ve papatya sularının da üretimini yapan E firmasının bu ürünlerinin de standartlara uygun olduğu belirlenmiştir. Tek markaya ait olan melisa suyunda yapılan bakteri sayımlarında özellikle fekal koliform, koliform ve *P. aeruginosa* sayımlarında

**TABLO 3.** Yağ altı sularının GK ve GK/KS analizi sonuçları

MARKA	YAĞ ALTI SULARININ ANA BİLEŞİKLERİ*
<b>Gül suyu</b>	
A	Fenil etil alkol (%43.9), sitronellol (%29.7), geraniol (%13.5),
B	Fenil etil alkol (%49.6), sitronellol (%24.1), geraniol (%21.3)
C	Fenil etil alkol (%59.8), sitroflex-2 (%12.0), sitronellol (%8.8), metilfenil asetat (%6.3), öjenol (%5.8)
D	Fenil etil alkol (%24.6), geraniol (%23.7), sitronellol (%19.3), nerol (%7.8), öjenol (%7.9), metil öjenol (%6.2)
<b>Hayıt Suyu</b>	
E	Karvakrol (%29.4), 1,8-sineol (%21.0), terpinen-4-ol(%8.3), α-terpineol (%7.6), kripton (%5.1)
<b>Karabaş Suyu</b>	
E	Karvakrol (%32.4), kafur (%27.4), α-fenkon (%16.3)
F	Karvakrol (%56.5), α-kadinol (%9), timol (%6.9), kafur (%6.8),
<b>Kekik Suyu</b>	
E	Karvakrol (%88.3)
F	Karvakrol (%82.3), timol (%12)
G	Karvakrol (%92.7)
<b>Melisa Suyu</b>	
E	Öjenol (%50.6), karvakrol (%15.6), kafur (%12.0), borneol (%5.6)
<b>Ökalyptus Suyu</b>	
E	1,8-sineol (%27.9), kafur (%15.0), verbenon (%11.3), kripton (%10.1), karvakrol (%9.7), terpinen-4-ol (%6.3)
<b>Papatya Suyu</b>	
E	karvakrol (%31.9), kafur (%11.6), 1,8-sineol (%10.8), borneol (%9.6), α-terpineol (%9.1), α-bisabolol oksit A (%7.3)

\* ≥%5.0

standartların çok üstünde bakteri florasına sahip olduğu görölmüştür.

## TARTIŞMA

Çalışmamızda piyasadan temin edilen çeşitli markalara ait yağ altı suları kimyasal bileşenleri ve mikrobiyal kirlilikleri bakımından incelenmiş, karvakrol, 1,8-sineol gibi güçlü antiseptik etkiye sahip maddelerin veya sentetik bileşikler içeren yağ altı sularının daha az mikrobiyal yüke sahip oldukları belirlenmiştir.

Türk gül yağının ana bileşikler sitronellol (%31-44), geraniol (%9-19), nerol (%5-9), linalol (%0,6-2) ve feniletal alkol (%1,2-1,9) olarak bildirilmektedir (11,12). Çalışmamızda GK/KS analizi sonuçlarına göre 4 markaya ait analizlerde C numunesi hariç bu maddelerin genellikle ana bileşikler oldukları saptanmıştır. C markasına ait numune incelendiğinde, %60 feniletal alkol, %9 sitronellol, %6.3 metilfenil asetat, %0,1 geraniol, %6 öjenol ayrıca %12 oranında sitroflex-2 adında sentetik bir bileşik tespit edilmiştir. Nerol sadece D markasına ait numune beklenen orandadır. A, B ve C markalarının tamamen doğal olduğunu söylemek güçtür. Mikrobiyal analiz sonuçları ise kimyasal bileşimle uyumluluk göstermiş, Sitroflex-2 içeren sentetik üründe hiç üreme olmazken, gül yağı bileşimine en yakın olan D numunesinde standartların altında olsa da mezofilik bakteri olduğu gözlenmiştir.

**TABLO 4.** Yağ altı sularının mikrobiyolojik analiz sonuçları\*

Bakteri sayımı (kob)	G				H		KB		K		M		Ö		P	
	A	B	C	D	E	E	F	E	F	G	E	E	E	E	E	
Total Mezofil Aerobik Bakteri (kob/ml)	>100	>100	0	7	9	8	>100	0	5	1	>100	2	0			
Koliform Bakteri (kob/250ml)	>100	>100	0	0	0	2	0	0	15	0	>100	3	4			
<i>Escherichia coli</i> (kob/250ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
Fekal Koliform (kob/250ml)	>100	>100	0	0	0	1	0	0	0	0	>100	0	0			
Enterokok Grubu Bakteri (kob/250ml)	>100	1	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (kob/250ml)	0	>100	0	0	0	0	0	0	0	0	>100	0	0			
Patojen Stafilokok Grubu Bakteri (kob/100ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	0	0			

\*: 3 paralel ekim sonunda sayılan kolonilerin ortalama değerleridir, **G**: Gül suyu, **H**: Hayıt suyu, **KB**: Karabaş suyu, **K**: Kekik suyu, **M**: Melisa suyu, **Ö**: Ökalyptus suyu, **P**: Papatya suyu, **kob**: koloni oluşturan birim

Piyasada satışta olan hayıt suyu etiketinde bitkinin hangi kısımlarının kullanıldığına dair bir bilginin vermediği gözlenmiştir. Yapılan çalışmalarda, tıbbi özelliklere sahip olan meyvesinin uçucu yağında ana bileşikler olarak 1,8-sineol (%16), terpinen-4-ol (%11), sabinen (%9),  $\alpha$ -pinen (%8) ve Z- $\beta$ -farnesen (%5) belirlenmiştir (13). Piyasadan temin edilen Hayıt suyu hekzan ektresinde %29 karvakrol, %21 1,8-sineol, %8 terpinen-4-ol, %8  $\alpha$ -terpineol ve %5 kripton belirlenmiştir. Bu bulgular suyun meyveden elde edilmiş olabileceğini göstermekle beraber, karvakrolün yüksek oranda bulunması üretim tesislerinin kekik distilasyonu sonrası iyi temizlenmemiş olduğunu düşündürmektedir. Bu özellikte bir ürünün piyasaya sürülmesinin son derece sakıncalı olduğu düşünülmektedir. Hayıt suyundan beklenen fizyolojik etkiler yerine karvakrolün biyolojik aktivitesinin ön plana çıkabilecek olması ve istenmeyen sonuçlara neden olabilmesi düşünülmektedir. Mikrobiyolojik kontrolünde ise standartların altında toplam bakteri gözlenmiştir.

Karabaş yağ altı suyunun *Lavandula stoechas* türünün çiçek durumlarından elde edildiği düşünülmektedir. *L. stoechas* subsp. *stoechas* uçucu yağının bileşimi konusunda yapılan çalışmalarda ana bileşenler olarak, kafur (%46),  $\alpha$ -fenkon (%32), bornil asetat (%4) ve kamfen (%3) bulunmaktadır (14). Bu araştırma kapsamında Eskişehir'de tüketime sunulan iki firmaya ait Karabaş suyu temin edilebilmiştir. Bir numune %32 karvakrol, %27 kafur, %16  $\alpha$ -fenkon, %4.3 timol taşırken diğeri %57 karvakrol, %9  $\alpha$ -kadinol, %7 timol, %7 kafur, %3 fenkon ve taşımaktadır. Her iki örnekte de kekik uçucu yağına ait karvakrol ve timolün bulunuşu düşündürücüdür. Mikrobiyolojik kontrolde F markası (Total Mezofil Aerobik Bakteri: >100) dışında standartların altında toplam bakteri gözlenmiştir.

Kekik suyu Anadolu'da en yaygın olarak üretilen ve dâhilen sıkça kullanılan yağ altı suyudur. Yapılan önceki çalışmalarda kekik suyunun uçucu bileşikleri %85 karvakrol, %6 timol ve %5 linalool olarak bildirilmektedir (6, 7). Üç farklı firmaya ait kekik sularının analizlerinde %82- 93 karvakrol, %1-12 timol, %0.2-1 linalool, %2-3 borneol ve %1 terpinen-4-ol belirlenmiştir. Mikrobiyolojik kontrollerinde iki firmaya ait numunede herhangi bir bakteriye rastlanmazken, üçüncü firmanın (F) ürününde patojen Stafilokok ve koliform bakteri saptanmıştır.

Ülkemizde *Melissa officinalis*'in üç alt türü (subsp. *officinalis*, subsp. *altissima*, subsp. *inodora*) doğal olarak yetişmesine rağmen en çok bilinen subsp. *officinalis*'tir. Bu tür ile yapılan uçucu yağ araştırmalarında geranial (%25-47) ve neral (%20-36) başta olmak üzere germakren D,  $\beta$ -karyofilen, geraniol ve sitronellol'e ana bileşik olarak rastlanmaktadır (15). Piyasadan temin edilen melisa suyunun, ana bileşiği %51 oranında öjenol olarak belirlenmiştir. Karvakrol %16, kafur %12 ve borneol %6 oranında bulunmaktadır. Yine numunede karvakrol tespit edilmesi üretim aşamasında gereken temizliğin yapılmadığına işaret etmektedir. Mikrobiyolojik kontrollerinde patojen bakteriler bulunmamasına rağmen diğer bakterilerin standartların üstünde olması düşündürücüdür.

Ökalyptus ülkemizin doğal bitkilerinden olmayıp, Tarsus bölgesinde kültüre alınarak orman oluşturmuş bir cinstir. Ormanda 5 farklı tür *Eucalyptus* bulunmaktadır. Ökalyptus yağlarında ana bileşik olarak karşımıza çıkan 1,8-sineol miktarları *E. globulus* subsp. *globulus*'ta %61-66, *E. globulus* subsp. *bicostata* da %65-79, *E. globulus* subsp. *maidenii* de %69-76, *E. camaldulensis* de %12-56 ve *E. grandis* de %3-3' dir. Bunun yanında oranı yüksek diğer bileşenler arasında  $\alpha$ -pinen ve limonen sayılabilir (16). Piyasadaki yağ altı sularının hammadde kaynağı bilinmemekle beraber numunenin ana bileşiği %28 oranında 1,8-sineol olarak belirlenmiştir. Karvakrol %10, kafur %15, verbenon %11 oranında bulunurken ayrıca %10 oranında da kripton içermektedir. Mikrobiyal kirlilik olarak 3 şişeden sadece birinde az da olsa koliform bakteriye rastlanması şişe temizliği ve dolun esnasındaki hijyen kurallarına dikkat edilmemiş olabileceğini düşündürmektedir.

Papatya suyu adı altında piyasada tek bir firmanın ürününe rastlanmıştır. Tıbbi papatya uçucu yağları kamazulen (mavi) ve bisabololce zengin olanlar olarak iki tiptir. Bisabololce zengin uçucu yağlarda yetiştirme bölgelerine göre bisabolol oksit A %2-52, bisabolol oksit B %3-59 ve  $\alpha$ -bisabolol %4-77 oranında bulunmaktadır (17). Bu çalışmada kullanılan papatya suyu ekstresinde 1,8-sineol %11, kafur %12, borneol %10,  $\alpha$ -terpineol %9 ve  $\alpha$ -bisabolol oksit A %7 oranındadır. Bu bulgu bisabololce zengin bir hammaddeyi işaret etmekte ise de %32 oranındaki karvakrolün tespit edilmesi ve mikrobiyal kirlilik olarak 3 şişeden sadece birinde az da olsa koliform bakteriye rastlanması üretim tesisinin temizliği ve şişe temizliği konusunda gereken önemin vermediğini göstermektedir.

## Microbiological safety controls of selected hydrosols and their volatile compounds

**ABSTRACT:** There are only a few scientific studies on the analysis, quality control and standardization of hydrosols of commonly used aromatic plants in Turkey. In order to fill this gap, hydrosols of commercially important plants such as Rosa, Origanum, Vitex, Lavandula, Melissa, Eucalyptus, and Chamomilla sp. were investigated. Extraction of the volatile fraction was carried out by n-hexane liquid-liquid extraction. The isolated compounds were further analyzed by Gas Chromatography (GC) and Gas Chromatograph/Mass Spectrometry (GC/MS). In addition, all hydrosol samples were assessed for their microbiological safety by using membrane filtration technique.

According to GC/MS results; phenyl ethyl alcohol, geraniol, citronellol in rose hydrosol; carvacrol, in Vitex, Lavandula, Origanum and Chamomilla hydrosols; eugenol in Melissa hydrosol; 1,8-cineol and camphor in Eucalyptus hydrosol were determined as major constituents of the samples. Unexpectedly, carvacrol (32%) was determined as major compound of Chamomilla hydrosol. Microbiological safety controls of the rose and Melissa hydrosols have been showed high level of bacterial contamination. Especially fecal coliforms, coliforms and *P. aeruginosa* in Melissa hydrosol exceeded recommended limits. The production permissions and controls of herbal products used without consultation of physicians and pharmacists should be conducted by the Ministry of Health for the prevention of public health.

**KEY WORDS:** Distillation water, Gas Chromatography (GC), Gas Chromatograph/Mass Spectrometry (GC/MS), membrane filtration method, liquid-liquid extraction

Sonuç olarak piyasada bulunan yağ altı sularının etiketlerinde elde edilmelerinde kullanılan tıbbi bitkilerle ilgili tür bilgisinin olmadığı, bitkinin kullanılan kısmı ile ilgili bilgi verilmediği, distilasyon tipi konusunda bilgi olmadığı gözlenmiştir. Kimyasal bileşimleri ile ilgili analiz sonuçları en çok üretilen kekik yağ altı suyuna ait karvakrol adlı bileşiğin firmaların diğer ürünlerinde de bulunduğunu göstermiştir. Bu durum distilasyon ünitelerinin hammadde değişimi sırasında yeterince temizlenmeden, yıkanmadan kullanıldığı düşüncemizi doğrulamaktadır.

“İnsani Tüketim Amaçlı Sular Yönetmeliği”ne göre, total mezo-fil bakteri sayımı ml’de 100 kob (koloni oluşturan birim)’a kadar

izin vermektedir. Diğer sayım testlerinde ise hiçbir bakteriye ait koloninin ürememesi gerektiği bildirilmiştir. Ancak yapılan analizlerde, iki markaya (A ve B) ait gül suyunun, F markasına ait karabaş ve kekik sularının, ayrıca E markasına ait melisa suyunun bu yönetmeliğe uymadığı gözlenmiştir. Distilasyon ürünü olarak steril olması beklenen ürünlerin standart üstü bakteri sayıları şişe temizlikleri ve dolum sırasındaki ortam koşullarının ve kullanılan malzemenin gerekli hijyenik şartlarda olmadığını göstermektedir. Halkımızın hekim ve eczacısına danışmadan kontrolsüz olarak dâhilen tükettiği bu ve benzeri ürünlerin üretim izni ve kontrollerinin en kısa sürede Sağlık Bakanlığı izin ve denetimine verilmesi önerilmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Kırimer N, Arslandere Ö, Başer KHC. Yağaltı sularının kimyasal bileşimi. In:14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, online-bildiriler kitabı. Editors. KHC Başer, N Kırimer, Eskişehir. 2002, pp 264-74.
2. Baytop T. Osmanlı imparatorluğu döneminde Anadolu’da yağ gülü yetiştirilmesi ve gül yağı. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bülteni 1990; 4: 8-10.
3. Başer KHC. Essential oils from aromatic plants which are used as herbal tea in Turkey, Editor: KHC Başer, Flavours, Fragrances and Essential Oils, Proceedings of the 13th International Congress of Flavours, Fragrances and Essential Oils, AREP Publ., İstanbul, 1995, pp 67-79.
4. Baytop T. Türkiye’de bitkiler ile tedavi, geçmişte ve bugün. Nobel Tıp Kitapevleri, 2. Baskı, İstanbul. 1999.
5. Tabata M, Honda G, Sezik E, Yeşilada E. A report on traditional medicine and medicinal plants in Turkey (1990, 1991). Faculty of Pharmaceutical Sciences Kyoto University Press. 1993.
6. Arslandere Ö. Yağ Altı Sularının Kimyasal Bileşimi. Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye, 2002.
7. Boydağ İ. *Origanum onites* L. (Kekik) yağ altı suyunun uçucu bileşikleri. Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye, 2004.
8. T.C. Sağlık Bakanlığı, “İnsani tüketim amaçlı sular hakkında yönetmelik”, 17.02.2005 tarihli 25730 sayılı Resmî Gazete, Ankara, Türkiye, 2005.
9. Guenther E, The essential oils. Robert E. Krieger Publishing Co., Inc. Malabar, Florida. 1948.
10. Gallari S, Flamini G, Bilia AR, Morelli I, Landini A, Vincieri FF. Chemical composition of some traditional herbal drug preparations: essential oil and aromatic water of costmary (*Balsamita suaveolens* Pers.). J Agric Food Chem 2001; 49: 5907-10.
11. Bayrak A, Şencan D. Gülyağından gülsuyuna geçen bazı monoterpen alkollerin gaz kromatografisiyle belirlenmesi. Standard 1995; 34: 70-7.
12. Başer KHC, Kürkçüoğlu M. Turkish rose oil: the queen of essential oils, Link Natural Products Digest 2008; 4: 21-24.
13. Güzel NS. *Vitex agnus-castus* uçucu yağının bileşimi ve bazı diterpenlerinin ve seskiterpenlerinin izolasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye, 2002.

- 14.** Alan S, Altıntaş A, Demirci B, Koca F, Başer KHC. Composition of the essential oils of *Lavandula stoechas* L. subsp. *stoechas* (Boiss.). 4th World Congress on Medicinal and Aromatic Plants (WOCMAP IV), 9-14 November, Cape Town, South Africa, 2008.
- 15.** Lawrence BM. Progress in essential oils. *Perfum Flavor* 1996; 21: 55.
- 16.** Başer KHC, Gülbaba AG, Azcan N, Kara M, Kırimer N, Kürkçüoğlu M, Özek T, Özkurt N. Türkiye’de yetiştirilen bazı ökalyptus (*Eucalyptus*) türlerinin uçucu yağ verim ve bileşimlerinin ve üretim teknolojilerinin belirlenmesi. Orman Bakanlığı Yayın No: 084, DOA Yayın No: 11, ISSN: 1300-912, Teknik Bülten No:7, Tarsus, 1998.
- 17.** Lawrence BM. Progress in essential oils. *Perfum Flavor* 1987; 12: 35-52.