

MİKRODALGA DESTEKLİ HİDRODİSTİLASYON YÖNTEMİYLE ELDE EDİLEN *PELARGONIUM GRAVEOLENS* (ITIR) ESANSİYEL YAĞININ KARAKTERİSTİK BAZI ÖZELLİKLERİ

Pelin Aydınlık, Yonca Karagül Yüceer*

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Çanakkale

Geliş / Received: 25.04.2021; Kabul / Accepted: 24.06.2021; Online baskı / Published online: 16.08.2021

Aydınlık, P., Karagül Yüceer, Y. (2021). Mikrodalga destekli hidrodistilasyon yöntemiyle elde edilen *Pelargonium graveolens* (Itır) esansiyel yağının karakteristik bazı özellikleri. GIDA (2021) 46 (5) 1117-1131 doi: 10.15237/gida.GD21076

Aydınlık, P., Karagül Yüceer, Y. (2021). Characteristic some properties of *Pelargonium graveolens* (Rose-scented geranium) essential oil obtained by microwave-assisted hydrodistillation method. GIDA (2021) 46 (5) 1117-1131 doi: 10.15237/gida.GD21076

ÖZ

Bu çalışmada *Pelargonium graveolens*'den (ıtır) elde edilen esansiyel yağın karakteristik özellikleri incelenerek doğal katkı maddesi olarak elma suyunda kullanılabilirliği araştırılmıştır. Esansiyel yağ üretiminde mikrodalga destekli hidrodistilasyon yöntemi kullanılmış ve %1.75 verimle esansiyel yağ üretimi gerçekleştirilmiştir. Uçucu bileşenlerin tanımlanması amacıyla gaz kromatografisi kütle spektrometresi kullanılmıştır. İtır esansiyel yağının temel uçucu bileşenleri sitronelil format, izomenton, linalol, sitronelol ve geraniol olarak belirlenmiştir. Esansiyel yağın antioksidan aktivitesi 0.54 mM troloks/mL yağ bulunmuştur. Esansiyel yağın antibakteriyel etkisinin *Escherichia coli*'ye kıyasla *Staphylococcus aureus* üzerine daha fazla olduğu saptanmıştır. İtır esansiyel yağı ilave edilmiş elma suyunun mikrobiyel yükünde depolama boyunca düşüş olduğu belirlenmiştir. Ayrıca esansiyel yağ ilave edilen elma suyunun duyuşal özellikler bakımından da kabul edilebilir olduğu tüketici testiyle ortaya koyulmuştur.

Anahtar kelimeler: *Pelargonium graveolens*, ıtır, esansiyel yağ, antioksidan aktivite, antibakteriyel aktivite, duyuşal

CHARACTERISTIC SOME PROPERTIES OF *PELARGONIUM GRAVEOLENS* (ROSE-SCENTED GERANIUM) ESSENTIAL OIL OBTAINED BY MICROWAVE-ASSISTED HYDRODISTILLATION METHOD

ABSTRACT

Characteristic properties of essential oil extracted from *Pelargonium graveolens* (rose-scented geranium) were examined and its usage as a natural additive in apple juice was investigated in this study. Microwave assisted hydrodistillation method has been used and essential oil was produced with a yield of 1.75%. Gas chromatography mass spectrometry was used to identify volatile compounds. The main volatile compounds of geranium essential oil were citronellyl formate, isomenthone, linalool, citronellol and geraniol. The antioxidant activity of the essential oil was found to be 0.54 mM trolox / mL oil. The antibacterial effect of the essential oil was found to be higher on *Staphylococcus aureus* compared to *Escherichia coli*. It was determined that the microbial load of apple juice added with the

* Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding Author

✉: yoncayuceer@comu.edu.tr

☎: (+90) 286 218 0018 / 20051

☎: (+90) 286 218 0541

Pelin Aydınlık; ORCID No: 0000-0003-0519-0993

Yonca Karagül Yüceer; ORCID No: 0000-0002-9028-2923

essential oil decreased during storage. In addition, it was demonstrated by consumer test that apple juice with added essential oil was acceptable in terms of sensory properties.

Keywords: *Pelargonium graveolens*, rose-scented geranium, essential oil, antioxidant activity, antibacterial activity, sensory

GİRİŞ

Bitkilerin tohum, yaprak, çiçek, kök ve kabuklarından elde edilen, bitkiye özgü karakteristik bir kokuya sahip uçucu bileşiklere esansiyel yağlar denir. Esans, aromatik yağ, uçucu yağ, eterik yağ gibi birçok farklı şekilde adlandırılırlar. Suda çözünmedikleri için yağ olarak tanımlanırlar, fakat sabit yağlardan farklıdırlar. Organik çözücülerde çözülebilirler. Bileşimlerinin büyük bir çoğunluğu terpenlerden (özellikle monoterpenlerden) oluşur. Bileşim ve miktar değişimi üzerine bitkinin yetiştiği coğrafya, bitki cinsi ve bitkinin kısımları etkilidir (Bayaz, 2014). Daha çok sıcak tropik bölgeler ile ılıman Akdeniz bölgesinde yetişmekte olan bitki türlerinden elde edilen yaklaşık 3000 esansiyel yağ çeşidi vardır. Ancak bunların 300 kadarı ticari olarak önem taşır (Kürekçi ve Sakin, 2017). Esansiyel yağların ticari kullanım alanları gıda sanayi, ilaç, kozmetik ve alternatif tıp olarak adlandırılan fitoterapi ve aromaterapidir (Hammer vd., 1999).

İtır, diğer adı gül kokulu sardunya olan *Pelargonium graveolens*, Geraniaceae familyasına ait Güney Afrika'ya özgü çok yıllık, yarı çalı bir bitkidir (Ravindra ve Kulkarni, 2015). Cezayir, Mısır, Fas, Reunion Adaları, Fransa, Çin ve Hindistan'da uçucu yağının üretimi için ticari ölçekte ıtır yetiştiriciliği yapılmaktadır (Ravindra ve Kulkarni, 2015). Antimikrobiyal, antioksidan, immünostimülan, hipoglisemik ve antiinflamatuvar etkiler gibi özellikler sergiler (Rahman vd., 2020). Esansiyel yağ esas olarak yapraklarında bulunsa da yapraklarıyla birlikte gövdeleri de damıtılabilir. Bu esansiyel yağ kozmetik ürünlere özellikle parfümlere ve gıdalara (reçel, şurup, jöle, içecek, kek vb.) gül kokusu vermek amacıyla kullanılmaktadır (Ravindra ve Kulkarni, 2015). Gül benzeri kokusu sayesinde daha pahalı olan gül yağının yerine kullanılabilirdiği için bazı ülkelerde halk arasında "fakir adamın gül yağı" olarak anılır (Wells ve Lis-Balchin, 2002). İtır esansiyel yağı, %60-70 oranında linalol, sitronelol, geraniol ve bunların esterleri ile birlikte önemli

miktarda izomenton, menton, nerol, α -terpineol, α -pinen, myrcen, β -filandren, cis ve trans rose oksit içermektedir (Charlwood ve Charlwood, 1991).

Gıdalarda oksidasyonu engellemek amacıyla yapay antioksidanlar kullanılmaktadır. Yapay antioksidan olarak kullanılan bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) ve bütillenmiş hidroksi anisol (BHA) canlılarda karsinojenik etkiye sahip olduğundan esansiyel yağların, antioksidan madde olarak kullanımı gıda sanayinde bir alternatif yöntem olmuştur (Bayaz, 2014). Esansiyel yağların antioksidatif etkilerinin, bileşimde yer alan fenolik hidroksil gruplarından kaynaklandığı öne sürülmektedir (Cuvelier vd., 1996). İtır esansiyel yağının antioksidan aktivitesi; esansiyel yağın kimyasal bileşimi, fenolik madde içeriği ve flavonoid içeriği ile doğru orantılıdır (Cavar ve Maksimovic, 2012). İtır esansiyel yağının radikal indirgeyici özelliği bulunmaktadır ve esansiyel yağın konsantrasyonu arttıkça artmaktadır (Fayed, 2009).

Esansiyel yağlar yüksek antibakteriyel etkiye de sahip olduğundan gıda sanayinde, kimyasal koruyuculara ve antibiyotiklere alternatif koruyucu ajan olarak kullanım alanı bulmaktadırlar. Etki mekanizmaları kısaca, lipofilik terpenlerin, mikroorganizmanın hücre duvarındaki lipitlerle etkileşime geçerek etki etmesi ve hücre duvarı bütünlüğünün bozularak geçirgenliğin azalması şeklinde açıklanmaktadır (Erdoğan ve Everest, 2013).

Esansiyel yağ elde etmek için kullanılan metot doğrudan esansiyel yağın kalitesi ve verimi üzerinde etkilidir. Esansiyel yağlar, temel olarak distilasyon, ekstraksiyon ve presleme yöntemleriyle elde edilmektedir (Kaya ve Ergönül, 2015). Endüstriyel esansiyel yağ üretimi için damıtma yöntemi ilk olarak Mısır, İran ve Hindistan'da kullanılmıştır (Guenther ve Althausen, 1948). Gıda sanayisinde yaygın olarak geleneksel distilasyon yöntemleri

kullanılmaktadır. Özellikle su ile distilasyon (hidrodistilasyon) eskiden beri çok yaygın olarak tercih edilen bir yöntem olmuştur. Fakat uzun süren damıtma süresi maliyeti arttırmaktadır. Gelişen teknoloji ile mikrodalga destekli hidrodistilasyon yöntemi geleneksel yöntemde karşılaşılan sorunlara çözüm olmuştur. Kısa damıtma süresi, düşük enerji sarf etmesi, yüksek verim sağlaması ve çevre dostu olması mikrodalga destekli hidrodistilasyonun geleneksel yöntemde göre en belirgin avantajlarıdır (Bayaz, 2014; Kaya ve Ergönül, 2015).

Bu çalışmada *Pelargonium graveolens* (ıtır) bitkisinden mikrodalga destekli hidrodistilasyon yöntemiyle esansiyel yağ etmek ve bu esansiyel yağın antioksidan ve antimikrobiyel özelliklerini ortaya koymak hedeflenmiştir. Ayrıca elde edilen esansiyel yağın gıda uygulaması sonucu ürünlerdeki mikrobiyel ve duyuşal özelliklerin de belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal ve Örnek Hazırlama

İtır bitkisi (*Pelargonium graveolens*), Damlıca Çiftliği'nden (Çatalca/İstanbul) taze olarak temin edilmiştir. Taze bitki örneği nem olmayan bir ortamda, oda sıcaklığında kurutulmuş ve kuru halde koli içerisinde muhafaza edilmiştir. Kuru bitki örneklerinin yaprakları öğütücü (GM 200 Model, Knife Mill GRINDOMIX, Retsch GmbH, Düsseldorf, Almanya) kullanılarak öğütülmüştür. Yapraklar 6000 rpm'de 10 saniye boyunca öğütme işlemine tabi tutulmuştur.

Bitki Örneğinin Nem ve Kül Analizi

Nem tayini, su ile karışmayan toluen kullanılarak Dean&Stark aparatı yardımıyla volumetrik olarak (Dean ve Stark, 1920; Anonymous, 1987) belirlenmiştir. Kül tayini kül fırınında (Protherm, Ankara, Türkiye) 550 °C'de örneğin yakılması sonucu gravimetrik olarak hesaplanmıştır (Cemeroğlu, 2007). Sonuçlar % olarak ifade edilmiştir.

İtır Bitkisinden Fenolik Ekstrakt Hazırlanması

Öğütülmüş bitki örneğinden metanollü fenolik ekstraktların hazırlanmasında Kırca ve Arslan,

(2008)'in önerdiği metod kullanılmıştır. 0.5 g tartılan bitki örneğine 10 mL metanol eklenerek 300 rpm'de oda sıcaklığında çalkalamalı inkübatörde bir saat tutulmuştur. Ardından 5204 x g'de 10 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası metanol fazları ayrılarak, tüm prosedür 3 kere tekrar edilmiş ve ayrılan metanollerin son hacmi 50 mL'ye tamamlanmıştır. Filtrasyonu (Whatmann No:1) takiben tüm fenolik ekstraktlar -18 °C'de muhafaza edilmiştir.

İtır Esansiyel Yağının Eldesi ve Yağa Uygulanan Analizler

Öğütülmüş kuru bitki örneğinden esansiyel yağın elde edilmesinde mikrodalga destekli hidrodistilasyon yöntemi seçilmiştir ve ekstraksiyon Mikrodalga Destekli Clevenger aparatı (Milestone Ethos, İtalya) kullanarak gerçekleştirilmiştir. Öğütülmüş kuru bitki örneği (120 g), cihazın cam ekstraksiyon haznesine koyularak 1:10 (w/w) oranında su ile 1 saat boyunca oda sıcaklığında ve ağzı kapalı bir şekilde bekletilmiştir. Ardından cam ekstraksiyon haznesi ve Clevenger aparatı geri soğutucu sistem cihaza yerleştirilmiştir. Ön denemelerle belirlenen mikrodalga gücünde (750 W) 2 saat distilasyon işlemi uygulanmıştır.

Uçucu Bileşenlerin Belirlenmesi

İtır esansiyel yağının uçucu bileşenlerinin tanımlanması ve miktarının belirlenmesi amacıyla Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) (Agilent Technologies, GC 6890, MS 6890N, Wilmington, DE, ABD) kullanılmıştır. Örnekte bulunan uçucu bileşenler katı faz mikroekstraksiyon (SPME) tekniği ile izole edilmiş olup ayırma işlemi DB5 kolon (Agilent Technologies, 60 m, 0.32 mm id x 0.25 µm film kalınlığı) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 40 mL'lik SPME vialine 300 µL saf su ile 5 µL esansiyel yağ, metanolde seyreltilen ve konsantrasyonu 3.65 mg/mL olan iç standarttan (α -thujone) 10 µL eklenmiş ve 40 °C'de 5 dk süreyle su banyosunda bekletilmiştir. Ardından su banyosundaki vialer fiber batırılarak 40 °C'de 5 dk daha bekletilmiştir. Süre bitiminde fiber yüzeyine adsorbe olan uçucu bileşenler GC-MS'e enjekte edilerek analize başlanmıştır.

GC şartları: Taşıyıcı gaz: Helyum, 1.5 mL/dk, enjeksiyon türü: Bölünmüş (split), Bölünme oranı (Split ratio): 25/1, dedektör: kütle spektrometresi, fırın programı: Başlangıç sıcaklığı 40 °C'de 3 dk, Ramp1: 3°C/dk, 200 °C'de 10 dk, Ramp2: 10°C/dk, 240 °C'de 5 dk, toplam süre 75 dk.

MS şartları: Kapiler arayüz sıcaklığı: 280 °C, iyonizasyon enerjisi: 70 eV, kütle ağırlığı 35 ile 350 amu, tarama hızı 4.45 scans/s.

Spektral Kütüphane: National Institute of Standards and Technology (NIST, 2008) ve Wiley Registry of Mass Spectral Data (Wiley, 2005).

Antibakteriyel Aktivitenin Belirlenmesi

İtır esansiyel yağının antibakteriyel aktivitesi agar disk difüzyon metodu ile test edilmiştir (Ghannadi vd., 2012). Antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesinde Gram (+) bakteri olan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, Gram (-) olan *Escherichia coli* ATCC 25922' nin referans suşları kullanılmıştır. Brain Heart (Oxoid, İngiltere) sıvı besiyerinde ön canlandırma yapıldıktan sonra, Nutrient Broth (Oxoid) sıvı besiyerine inoküle edilen bakteriler spektrofotometrede (Shimadzu, Kyoto, Japonya) 0.5-0.6 absorbans değerine kadar 37 °C'de inkübe edilmiştir. Ardından Müller Hinton (Acumedia Lab/Veogen, İngiltere) agar besiyerine yayma plak yöntemiyle ekim yapılmıştır. Esansiyel yağdan 15 µL steril, boş kağıt disklere (6 mm) (Antimicrobial Susceptibility Test Discs, Oxoid Limited, İngiltere) emdirilerek, ekim yapılan besiyerlerine yerleştirilmiş ve 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda inhibisyon zon çapları ölçülmüştür.

Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi

Esansiyel yağın ve metanollü fenolik ekstraktların antioksidan aktivitelerinin belirlenmesinde Trolox Eşdeğer Antioksidan Kapasitesi (TEAC) metodu kullanılmıştır (Re ve diğerleri, 1999). Metot ABTS (2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit))'in oksidasyonu ile üretilen ABTS^{•+} radikal çözeltisi üzerine, antioksidan içeren bir örneğin eklenmesi sonucu radikalın indirgenmesi temeline dayanmaktadır. Esansiyel yağın seyreltilmesinde %80'lik metanol, metanollü fenolik ekstraktların seyreltilmesinde ise Phosphate Buffered Saline

(PBS, tuzlu fosfat tampon) kullanılmıştır. Sonuçlar standard troloks kurvesinin eğiminden hesaplanarak esansiyel yağ için "mM troloks/mL yağ", fenolik ekstrakt için "mM troloks/g bitki" olarak verilmiştir.

Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi

Esansiyel yağın ve metanollü fenolik ekstraktların toplam fenolik madde içeriğinin belirlenmesinde Folin-Ciocalteu metodu kullanılmıştır (Kırca ve Arslan, 2008). Örneğin seyreltilmesinde %80'lik metanol çözeltisi kullanılmıştır. Örnekten 100 µL alınarak üzerine 900 µL saf su eklenmiştir. 5 mL folin ayırıcı ve 4 mL sodyum karbonat eklenmesiyle elde edilen mavi renkli karışım, karanlık bir ortamda 2 saat bekletilmiştir. Süre sonunda spektrofotometrede (Shimadzu UV Spectrophotometer, Kyoto, Japonya) 765 nm dalga boyunda köre karşı okuma yapılmıştır. Sonuçlar standard gallik asit kurvesinin denkleminde hesaplanarak esansiyel yağ için "mg GAE/L yağ", fenolik ekstrakt için "mg GAE/kg bitki" olarak verilmiştir.

Elma Suyu Uygulaması

Çalışmada elma suyunun taze tüketimi amaçlanmış olup endüstriyel prosedürler uygulanmadan, sadece esansiyel yağ katkısının raf ömrü ile tat ve aroma üzerine etkisi incelenmiştir. Elma suyunun hazırlanması amacıyla yerel bir manavdan alınan Pink Lady sert sulu elma çeşidi kullanılmıştır. Elmalar yıkandıktan sonra dilimlenmiş ve katı meyve sıkacağı (Fakir Hausgeräte K 1579, Almanya) kullanılarak sıkılmıştır. Elmaların posasını ayırmak için 2 kat tülbeht bezi kullanılmıştır. Taze sıkılmış elma suları 100 mL'lik kapaklı şişelere koyulmuş ve farklı konsantrasyonlarda (100 mL elma suyunda 2.5, 5 ve 7.5 µL) ıtır esansiyel yağı eklenmiştir. Ardından homojenizatör (ESGE, M 133/2280, İsviçre) ile 30 saniye boyunca karıştırılmıştır. Hazırlanan esansiyel yağ ilaveli elma suları toplam canlı ve maya-küf sayımı ile tüketici testinde kullanılmıştır.

Toplam Canlı Aerobik Mezofilik Bakteri (TCAMB) ve Maya-Küf Sayımı

Taze sıkılmış elma suları 100 mL'lik kapaklı şişelere koyulmuş ve farklı konsantrasyonlarda

eklenen ıtır esansiyel yağı (100 mL elma suyunda 2.5, 5 ve 7.5 µL) ile 15 gün boyunca buzdolabı koşullarında (4±2 °C) depolanmıştır. Haftalık periyotlarla (0.gün, 7.gün, 15.gün) aseptik koşullarda toplam canlı ve maya-küf sayımı gerçekleştirilmiştir. Esansiyel yağın elma suyu içerisinde homojen dağılması için 1:1 oranında Dimetil Sülfoksit (DMSO) içerisinde çözündürülmüş ve elma suyuna ilave edilmiştir. Böylece 100 mL elma suyunda 2.5, 5 ve 7.5 µL konsantrasyonlarında esansiyel yağ ve 2.5, 5 ve 7.5 µL konsantrasyonlarında DMSO bulunmaktadır. Kontrol grubu elma suları belirtilen konsantrasyonlarda sadece DMSO içerecek şekilde hazırlanmıştır (Rosato vd., 2018). Seri dilüsyonlarda ilk dilüsyon 10 mL örnek ve 90 mL peptonlu su (%0.1) ile takip eden dilüsyon 1 mL örnek ve 9 mL peptonlu su (%0.1) olacak şekilde hazırlanmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan TCAMB için 1 mL alınarak Plate Count Agar (PCA; Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) besiyerine dökme plak yöntemiyle, maya-küf için 100 µL alınarak Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC; Merck, Darmstadt, Almanya) besiyerine yayma plak yöntemiyle ekimler gerçekleştirilmiştir. Petriler 30±2 °C'de TCAMB için 2 gün, maya ve küf için 5 gün inkübasyona bırakılmıştır (Feglo ve Sakyi, 2012; Tournas vd., 2006).

Duyusal Analizler

Esansiyel yağlarda aroma profilini belirlemek amacıyla tanımlayıcı duyu analizi tekniği (Spektrum™) ve esansiyel yağın farklı konsantrasyonlarda eklendiği elma sularında ise tüketici testi kullanılmıştır (Meilgaard vd., 1999). Tanımlayıcı duyu analizi için panelistlere test tekniği, aroma profilleri, referans aromalar vb. konularda 20 saat eğitim verilmiştir. Tanımlayıcı duyu analizinde, 1 µL esansiyel yağ emdirilen kâğıt 30 mL'lik kapaklı cam kavanozlara koyulmuştur ve laboratuvar ortamında oda sıcaklığında eğitimli panelistlerden tepe boşluğunun koklanması istenmiştir. 2 oturumda gerçekleşen panelde, panel lideri öncülüğünde karşılıklı değerlendirme ve tartışma yaparak 10 panelist (25-52 yaş) tarafından tanımlayıcı terimler belirlenmiş ve 10 puanlık skala üzerinden değerlendirilmiştir. Tüketici testinde 100 mL elma

suyuna ayrı ayrı 2.5, 5 ve 7.5 µL konsantrasyonlarında eklenen esansiyel yağ homojenizatör (ESGE, M 133/2280, İsviçre) ile karıştırıldıktan sonra, 30 mL'lik kapaklı plastik sos kaplarına yaklaşık 10 mL ıtır esansiyel yağ içeren elma suyu olacak şekilde paylaştırılmıştır. 50 kişiye uygulanan tüketici testinde üç basamaklı kodlar verilen farklı esansiyel yağ içeriğine sahip elma suyu örnekleri değerlendirilerek genel beğeni durumlarına göre sıralamaları istenmiştir.

İstatistiksel Analiz

Analiz sonuçlarının değerlendirilmesinde tek yönlü varyans analizi tekniği (ANOVA) ile TUKEY çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. Varyans analizi şartlarını yerine getirmeyen sonuçlar (homojenlik ve normal dağılım) için Games-Howell post-hoc testinden yararlanılmıştır. Toplam canlı aerobik mezofilik bakteri sayısı, maya ve küf sayısı üzerine grup, konsantrasyon ve depolama gününün etkisini incelemek amacıyla tekrarlanan ölçümlü varyans analizinden yararlanılmıştır. Farklılığın hangi gruptan ya da alt gruptan kaynaklandığını belirlemek amacıyla TUKEY çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. Toplam canlı aerobik mezofilik bakteri sayısı ile maya ve küf sayısı verilerine istatistiksel analize tabi tutulmadan önce logaritmik transformasyon uygulanmıştır. Tüketici testine ait sıralama sonuçları Friedman non-parametrik testi ile belirlenmiş ve istatistiksel olarak önemli fark bulunan ortalamalara LSD (Least Significant Difference) testi uygulanmıştır. Ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar olup olmadığı $P \leq 0.05$ önem derecesinde belirlenmiştir. İstatistiksel analizler Minitab 17, IBM SPSS Statistics 21 ve Statistica 12 paket programlarıyla gerçekleştirilmiştir.

SONUÇ VE TARTIŞMA

İtır Bitkisine ait Fiziksel Analizler ve Esansiyel Yağ Verimi

İtır bitkisinin nem içeriği toluen yöntemiyle %8, kül miktarı da %7.57 olarak belirlenmiştir. Türk Gıda Kodeksi Baharat Tebliği'ne (Anonymous, 2013) göre yaprak/çiçek baharatın nem miktarının en çok %7.5-10, kül miktarının ise en çok %7-15 arasında olabileceği ifade edilmektedir. Analiz edilen ıtır bitkisinin kül ve nem miktarları tebliğe uygun bulunmuştur.

Çizelge 1. Itır esansiyel yağında bulunan uçucu bileşenler
 Table 1. Volatile components in rose-scented geranium essential oil

RI	Bileşen/ Component	İçerik/Content (mg/mL)	RI	Bileşen/ Component	İçerik/Content (mg/mL)
761	Toluen	0.06±0.02	1227	Sitronelol	56.90±23.40
	4-metil-2,3-	0.12±0.06	1238	Neral (Z-Citral)	5.47±1.99
780	dihidrofuran		1250	Geraniol	25.40±10.80
799	Hekzanal	0.08±0.03	1257	Piperiton	0.32±0.11
850	2-Hekzenal	0.19±0.07	1267	Geranial (E-Citral)	5.01±1.90
932	α-Pinen	2.09±0.47	1274	Sitronelil format	84.10±30.50
941	3-metil-1,4-				
	heptadien	0.05±0.01			
955	trans-2-Heptenal	0.16±0.03	1284	Vitispiran	0.32±0.10
961	Benzaldehit	0.14±0.04	1297	Geraniol format	22.34±8.79
969	Linalol 3,7-oksit	0.75±0.15	1347	Sitronelil asetat	0.87±0.38
982	6-metil-5-hepten-2-	0.59±0.15	1350	α-Kubeben	1.76±0.68
	on				
987	β-Mirisen	2.38±0.58	1374	α-Ylangen	0.39±0.16
1004	Kozmen	0.39±0.07	1375	Geranil asetat	1.52±0.68
1006	Felandren	0.90±0.14	1380	α-Kopaen	5.07±1.95
1010	2,4-Heptadienal	0.12±0.04	1389	β-Burbonen	6.78±2.69
1017	α-Terpinen	0.21±0.03	1393	β-Element	1.67±0.72
1024	p-Simen	1.39±0.26	1413	α-Gurjunen	0.87±0.35
1029	Limonen	2.26±0.41	1426	trans-Karyofilen	6.90±2.94
1031	β-Felandren	1.03±0.11	1437	Sitronelil propionat	0.44±0.23
1034	(E)-β-Osimen	3.02±0.53	1446	3,7-Guaiadien	1.99±0.92
1044	Sitren oksit	0.20±0.04	1455	İzolen	2.61±1.18
1045	(Z)-β-Osimen	5.08±0.92	1462	α-Karyofilen	1.72±0.81
1058	γ-Terpinen	0.15±0.03	1467	Aromadendren	3.84±1.86
1071	cis-furan Linalol		1484	γ-Muurolen	0.60±0.29
	oksit	1.11±0.39			
1085	α-Terpinolen	1.43±0.27	1487	Germakren D	3.32±1.57
1086	(Z)-Linalol oksit	0.39±0.15	1496	Leden	7.33±3.63
1090	o-izopropeniltoluen	0.84±0.20	1498	epi-Bisikloeskifilanden	0.59±0.31
1100	Linalol	65.80±19.10	1522	δ-Kadinen	3.27±1.74
1102	6-metil-3,5-	1.67±0.60	1524	cis-Kalamenen	0.28±0.15
	heptadien-2-one				
1110	cis-Rose oksit	12.25±2.55	1526	trans-Kalamenen	0.97±0.48
1126	trans-Rose oksit	4.25±0.99	1537	Epizonaren	0.75±0.42
1158	Menton	3.12±0.85	1541	α-Kadinen	0.18±0.09
1161	İzopülegol	0.75±0.25	1544	Valencen	0.12±0.07
1169	İzomenton	78.70±21.00	1546	α-Kalakoren	0.24±0.13
1190	Neoizomentol	0.75±0.25	1553	Geranil bütirat	0.31±0.19
1193	Metil salisilat	0.09±0.001	1584	Feniletıl tıglat	0.34±0.20
1196	α-Terpineol	4.19±1.55	1694	Geranil tıglat	0.09±0.06

Sonuçlar ortalama±standart hata olarak verilmiştir. / Results are given as mean±standard error.

RI: Alıkonma indeksi/Retention Index

Yağ eldesinde, kısa damıtma süresi, düşük enerji sarfiyatı, yüksek verim sağlaması ve çevre dostu olması gibi avantajları ile mikrodalga destekli hidrodistilasyon yöntemi tercih sebebi olmaktadır (Bayaz, 2014; Kaya ve Ergönül, 2015). Bu yöntemle elde edilen ıtır esansiyel yağında %1.75 verim sağlanmıştır. Mikrodalga destekli hidrodistilasyon tekniğinin, uygulama süresi 2-3 saat olan ve %0.1-0.8 arasında verim sağlanan geleneksel hidrodistilasyon yöntemine kıyasla daha yüksek verim sağladığı belirtilmektedir (Ghannadi vd., 2012; Boukhatem vd., 2013; Boukhris vd., 2013). Ayrıca Fardhyanti vd. (2019), *Myristicae arillus* esansiyel yağı elde etmek için farklı distilasyon teknikleri seçmişler ve bu amaçla mikrodalga destekli hidrodistilasyon tekniğinde uyguladıkları farklı mikrodalga güçleri (W) ile geleneksel hidrodistilasyon yöntemini kıyaslamışlardır. Mikrodalga destekli hidrodistilasyon yönteminin geleneksel hidrodistilasyon yönteminden daha verimli olduğunu, oksijenli monoterpenlerin ve diğer aromatik bileşenlerin daha fazla bulunduğunu, uygulanan güç arttıkça elde edilen esansiyel yağ veriminin arttığını belirtmişlerdir.

İtır Esansiyel Yağının Uçucu Bileşenleri

Pelargonium graveolens türü ıtır bitkisinden elde edilen esansiyel yağda bulunan uçucu bileşenlerin tanımlanması ve miktarının belirlenmesi amacıyla GC/MS kullanılmıştır. İtır esansiyel yağında bulunan uçucu bileşenler Çizelge 1'de yer almaktadır.

İtır esansiyel yağının tatlı ve çiçeksi gül kokusunu ifade eden temel uçucu bileşenler sitronelol, sitronelil format ve geraniol olarak belirtilmiştir (Peterson vd., 2006; Bigos vd., 2012; Boukhatem vd., 2013; Singh vd., 2013; Ali vd., 2013). Çizelge 1 incelendiğinde, literatüre benzer biçimde ıtır esansiyel yağındaki temel uçucu bileşenleri sitronelol, sitronelil format, geraniol, linalol ve izomenton oluşturmaktadır. Bu çalışmada, yapılan bazı çalışmalara kıyasla sitronelol ve geraniol miktarı geleneksel hidrodistilasyon metoduyla üretilen ıtır esansiyel yağlarına göre daha düşük bulunmuştur. Bununla birlikte izomenton ve linalol gibi *Pelargonium graveolens* türünde yüksek konsantrasyonlarda bulunabilen uçucu bileşenler

tespit edilmiştir (Peterson vd., 2006; Boukhatem vd., 2013; Singh vd., 2013; Saxena vd., 2004). Sitronelol, ıtır gül kokusu veren diğer bileşenlerden olan cis- ve trans- rose oksit sentezinde öncü bir bileşen olarak kabul edilmektedir (Saxena vd., 2004). Bu çalışmada da ıtır esansiyel yağında mevcut yüksek sitronelol konsantrasyonunun yüksek ve orta konsantrasyonda cis- ve trans- rose oksit oluşumunu etkilediği düşünülmektedir.

Bitkinin yetiştirildiği toprağa bağlı olarak değişmekte olup fosfor içeriği yüksek topraklarda veya fosforlu gübreleme yapılan topraklarda bitkideki 10-epi- γ -eudesmol uçucu bileşiğinin arttığı belirtilmektedir (Pandey ve Patra, 2015). Bazı çalışmalarda yer alan ve düşük konsantrasyonlarda bulunan nerol ile 10-epi- γ -eudesmol bu çalışmada tespit edilememiştir (Bigos vd., 2012; Singh vd., 2013).

Uçucu bileşenlerin tespiti ve miktarı üretim metodunun yanı sıra bitkinin yetiştiği koşullara göre de değişkenlik göstermektedir. Ali vd. (2013) tarafından yapılan çalışmada bitkinin yetiştiği kaynağa göre sitronelol miktarı %16'dan %0.1'e, sitronelil format miktarı %13.3'ten %1'e, geraniol miktarı %16'dan %0.1'e, izomenton miktarı %7.9'dan tespit edilememesine, linalol miktarı %10.4'ten %0.1'e kadar değiştiği belirtilmiştir.

Terpenler yapılarında 30000'den fazla bileşik içeren en büyük doğal bitki ürünleridir ve aynı zamanda yapısal olarak en geniş tür çeşitlerini içeren terpenlerin; birçok farklı monoterpen (C10), seskiterpen (C15), diterpen (C20), triterpen (C30), tetraterpenler (C40) ve politerpenler (>C40) karbon iskeleti olarak bilinmektedir (Ashour vd., 2018). Bu çalışmada belirlenen uçucu bileşenlerde başlıca monoterpenlere (Degenhardt vd., 2009); β -mirisen, α -pinen, β -filandren, terpinolen, limonen, β -osimen, linalol, γ -terpinen, α -terpineol, geraniol örnek olarak verilebilir. Seskiterpenlere (Degenhardt vd., 2009) ise karyofilen, valencen, δ -kadinen, germakren D, β -elemen, α -kubeben ve δ -kadinen örnek verilmektedir.

Itır Esansiyel Yağının Antioksidan Aktivite ve Toplam Fenolik Madde Miktarı

Itır esansiyel yağına ve metanollü fenolik ekstraktlarına ait antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde (TFM) miktarları Çizelge 2’de verilmiştir. Çizelge 2’ye göre ıtır bitkisinden hazırlanan metanollü fenolik ekstraktı ıtır esansiyel yağından daha fazla fenolik madde içermekte olup daha yüksek antioksidan aktivite göstermektedir. Metanolün, toplam fenolik madde ekstraksiyonunda iyi bir çözücü olduğu düşünülmektedir. Benzer şekilde Boukhris vd., (2013) tarafından metanollü ekstraktlarda antioksidan aktivite ve TFM miktarının yüksek bulunması metanolün fenolik madde ekstraksiyonunda iyi bir çözücü olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte Çizelge 2’ye göre

antioksidan aktivite artışının toplam fenolik madde miktarının artmasıyla doğrudan ilişkili olduğu görülmektedir. Benzer şekilde toplam fenolik madde miktarı ile radikal süpürme yeteneğinin doğru orantılı olduğu belirtilmektedir (Cavar ve Maksimovic, 2012; Boukhris vd., 2013). Bitkinin bileşimi ve yetiştirilme kaynağına göre antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde miktarı değişebilir (Dzamic vd., 2014; Fayed, 2009). BHT sentetik antioksidan maddesi ile kıyaslandığında, ıtır esansiyel yağının, ABTS radikalini indirgeme etkisinin DPPH radikalini indirgeme etkisine göre daha fazla olduğu belirtilmiştir (Boukhris vd., 2013). Bunun aksine, Dzamic vd., (2014)’e göre ıtır esansiyel yağının DPPH radikalini indirgeme kapasitesi, sentetik antioksidan BHT’den daha yüksek değildir.

Çizelge 2. Itır esansiyel yağı ve metanollü fenolik ekstraktlarına ait antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde (TFM) miktarı

Table 2. Antioxidant activity and total phenolic substance (TPS) amount of rose-scented geranium essential oil and methanolic phenolic extracts

Örnek/Sample	Antioksidan aktivite TEAC Değeri <i>Antioxidant activity TEAC Value</i>	TFM Miktarı <i>TPS Amount</i>
Itır EY/ <i>Rose-scented geranium EO</i>	0.54±0.004 ¹	58.06±0.12 ³
Itır FE/ <i>Rose-scented geranium PE</i>	76.39±0.69 ²	1478.13±9.38 ⁴

Sonuçlar ortalama±standart hata olarak verilmiştir. / Results are given as mean±standard error.

1: mM troluks/mL yağ 2: mM troluks/g bitki 3: mg GAE/L yağ 4: mg GAE/kg bitki

1: mM trolox/mL oil 2: mM trolox/g plant 3: mg GAE/kg plant 4: mg GAE/kg plant

EY: Esansiyel yağ; FE: Fenolik ekstrakt; GAE: Gallik asit eşdeğeri/EO: Essential oil; PE: Phenolic extract; GAE: Gallic acid equivalent

Itır esansiyel yağında bulunan sitronelol ve geraniol antioksidan aktiviteye sahip bileşenlerdir ve antikanser aktivitenin de bu bileşenlerle pozitif korelasyon gösterdiği belirtilmektedir (Fayed, 2009). Sitronelol antikanser ve antiinflamatuvar özelliklere sahip, yağda çözünen bir bileşendir. Geraniolün pankreas tümör hücrelerinin büyümesini inhibe ettiği (%60-90) bulunmuştur (Fayed, 2009). Tüm bu sonuçlar ışığında ıtır bitkisinden elde edilen esansiyel yağın veya fenolik ekstrakt fraksiyonlarının doğal antioksidan madde olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Itır Esansiyel Yağının Antibakteriyel Aktivitesi

Gram (+) bakteri ve Gram (-) bakteri suşları üzerinde ıtır esansiyel yağının inhibisyon etkisinin agar disk difüzyon metoduyla incelendiği bu

çalışmada, ıtır esansiyel yağının *Escherichia coli* üzerinde oluşturduğu inhibisyon çapı 8.44 mm, *Staphylococcus aureus* üzerinde oluşturduğu inhibisyon çapı 14.72 mm olarak bulunmuştur. Bu araştırmaya göre ıtır esansiyel yağının Gram (+) bakteri olan *Staphylococcus aureus* suşuna, Gram (-) olan *Escherichia coli* suşundan daha fazla etki ettiği görülmüştür. Benzer şekildeki araştırmalarda ıtır (*P. graveolens*) esansiyel yağının *S. aureus* üzerine inhibisyon etkisinin *E. coli*’ye kıyasla çok daha belirgin olduğu rapor edilmiştir (Dorman ve Deans, 2000; Jirovetz vd., 2006; Rosato vd., 2007). Bakterilerin Gram (+) veya (-) olmasının esansiyel yağların antibakteriyel etkinliğinde önemli bir farklılık oluşturmadığını ileri süren görüşe karşılık, esansiyel yağların antibakteriyel aktivitesine Gram (+) bakterilerin Gram (-) bakterilerden daha dirençli olduğunu belirten

görüşler de bulunmaktadır (Dorman ve Deans, 2000). Bir başka görüşe göre de ıtır esansiyel yağı, Gram (+) bakterilere Gram (-) bakterilerden daha etkilidir (Ghannadi vd., 2012; Hsouna ve Hamdi, 2012; Boukhatem vd., 2013). Ayrıca bitki türüne göre değişen esansiyel yağlar arasında ve/veya farklı bitki türlerinde Gram (+) ve Gram (-) bakteriler üzerinde eşit antibakteriyel etki görülebileceği belirtilmiştir (Dorman ve Deans, 2000).

Temel aroma bileşenleri citronellol, geraniol ve bunların bazı türevlerinin, ıtır esansiyel yağının antibakteriyel aktivitesi ve maya, küf üzerinde kritik etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Orta veya

yüksek konsantrasyonda bulunan temel uçucu bileşenler ile düşük konsantrasyonda bulunan antibakteriyel etkiye sahip bileşenlerin kombinasyonu sonucu bu inhibisyon etki oluşabilmektedir (Jirovetz vd., 2006).

Elma Suyu Uygulamasında Toplam Canlı Aerobik Mezofilik Bakteri (TCAMB) ve Maya-Küf Sayımı

Depolama boyunca kontrol grubunda ve farklı konsantrasyonlarda ıtır esansiyel yağı eklenen grupta toplam canlı aerobik mezofilik bakterilerine ait sayım sonuçları Çizelge 3'te verilmiştir.

Çizelge 3. İtir esansiyel yağı eklenen elma suyunda depolama boyunca toplam canlı aerobik mezofilik bakteri sayısı (log (kob/mL))
Table 3. Total viable aerobic mesophilic bacteria count in apple juice with rose-scented geranium essential oil added during storage. (log (cfu/mL))

Grup Group	Konsantrasyon/ Concentration (µL/100 mL elma suyu/ apple juice)	Depolama/ storage		
		0.gün/ day	7.gün/ day	15.gün/ day
Kontrol (DMSO'lu) Control	2.5	2.97±0.01 ^{Acl}	3.28±0.01 ^{AbI}	3.68±0.01 ^{AaI}
	5	2.95±0.04 ^{Acl}	3.31±0.01 ^{AbI}	3.75±0.02 ^{AaI}
	7.5	2.96±0.02 ^{Acl}	3.30±0.02 ^{AbI}	3.73±0.02 ^{AaI}
İtir esansiyel yağı (EY+DMSO) rose-scented geranium essential oil	2.5+2.5	2.94±0.02 ^{Acl}	3.17±0.01 ^{AbI}	3.71±0.01 ^{AaI}
	5+5	2.82±0.01 ^{Acl}	3.01±0.03 ^{AbII}	3.55±0.01 ^{AaII}
	7.5+7.5	2.68±0.03 ^{BbII}	2.71±0.04 ^{BbII}	2.93±0.08 ^{BaII}

Sonuçlar ortalama±standart hata olarak verilmiştir. / Results are given as mean±standard error.

^{A-B}Aynı grup ve aynı depolama gününde farklı büyük harflerle gösterilen konsantrasyon ortalamaları arasındaki farklar önemlidir (P ≤0.05).

^{A-B'}The differences between the concentration averages shown in different uppercase letters on the same group and the same storage day are significant (P ≤0.05).

^{a-c}Aynı grup ve aynı konsantrasyonda farklı küçük harflerle gösterilen depolama günü ortalamaları arasındaki farklar önemlidir (P ≤0.05).

^{a-c'}The differences between the storage day averages of the same group and the same concentration, shown in different lowercase letters, are significant (P ≤0.05).

^{I-II}Aynı depolama günü ve aynı konsantrasyonda farklı Romen rakamlarıyla gösterilen grup ortalamaları arasındaki farklar önemlidir (P ≤0.05).

^{I-II'}The differences between the group averages indicated by different Romen numerals at the same storage day and at the same concentration are significant (P ≤0.05).

kob: koloni oluşturan birim

cfu: colony forming unit

Toplam canlı gelişimi ve inhibisyonu üzerine grup, konsantrasyon ve bağımlı değişken olan depolama günü faktörlerinin üçlü interaksyonu önemli bulunmuştur. Kontrol grubu incelendiğinde aynı depolama gününde DMSO konsantrasyonunun bir etkisi görülmemiştir. Bu nedenle itir esansiyel yağının çözündürülmesinde kullanılan DMSO'nun inhibisyon üzerinde etkisinin olmadığı görülmüştür ($P \leq 0.05$). Randhawa (2006)'ya göre DMSO'nun hücre zarında bulunan porlara etki ederek hücre bütünlüğünün bozulmasına sebep olduğu ve böylece inhibitör etkisinin bulunduğu belirtilmektedir. Fakat bu inhibitör etkinin kullanılan doz ile ilişkili olduğu, inhibitör etkinin %0.25'ten başladığı ve konsantrasyon arttıkça arttığı belirtilmektedir. Çalışmamızda da düşük konsantrasyonlarda kullanılan DMSO'nun inhibitör etkisinin gözlenmediği saptanmıştır.

İtir esansiyel yağı eklenen grup için konsantrasyon farkları incelendiğinde aynı gün için en yüksek etki 7.5 µL konsantrasyonunda görülürken, 2.5 µL ve 5 µL konsantrasyonları arasında önemli bir fark bulunmamıştır ($P \leq 0.05$).

Kontrol grubunda aynı konsantrasyonda depolama günü uzadıkça bakteri sayısı artarken,

benzer biçimde, 2.5 µL ve 5 µL konsantrasyonlarında itir esansiyel yağı eklenen grupta depolama günü arttıkça bakteri sayısı artmıştır. 7.5 µL konsantrasyonunda 0. gün ve 7. gün arasında depolama günü artışının önemli bir etkisi görülmezken, 15. günde depolama günü etkisi önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$).

İtir esansiyel yağı içeren grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında 0. günde 2.5 µL ve 5 µL esansiyel yağ konsantrasyonlarının önemli bir inhibisyon etkisi görülmezken 7.5 µL esansiyel yağ konsantrasyonu önemli bir inhibisyon etki göstermiştir. Fakat depolama ilerledikçe 7. gün ve 15. günde 2.5 µL esansiyel yağ konsantrasyonu önemli bir etki göstermezken, 5 µL ile 7.5 µL esansiyel yağ konsantrasyonları önemli bir etki göstermiştir ve aralarındaki fark önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$).

Elma suyu örneklerinin maya ve küf sayımı sonuçları Çizelge 4'te yer almaktadır. Maya ve küf sayısı üzerine depolama günü ve grup faktörlerinin ayrı ayrı etkisi önemli olmuştur. Toplam canlı sayımında olduğu gibi maya ve küf inhibisyonu üzerine DMSO'nun kullanılan konsantrasyonları etki etmemiştir.

Çizelge 4. İtir esansiyel yağı eklenen elma suyunda depolama boyunca maya ve küf sayısı (log (kob/mL))
Table 4. Yeast and mold counts in apple juice with rose-scented geranium essential oil added during storage (log (cfu/mL))

Grup Group	Konsantrasyon/ Concentration (µL/100 mL elma suyu/apple juice)	Depolama/storage			Ortalama/ Mean
		0. gün/day	7. gün/day	15. gün/day	
Kontrol (DMSO'lu) Control	2.5	3.39±0.02	3.53±0.03	4.18±0.13	3.71±0.09 ^A
	5	3.45±0.02	3.49±0.04	4.21±0.02	
	7.5	3.41±0.04	3.45±0.05	4.29±0.01	
İtir esansiyel yağı (EY+DMSO)	2.5+2.5	3.20±0.03	3.22±0.10	4.09±0.09	3.43±0.10 ^B
	5+5	3.16±0.02	3.13±0.13	4.01±0.02	
Rose-scented geranium essential oil	7.5+7.5	3.18±0.07	3.06±0.02	3.79±0.18	
	Ortalama/Mean	3.30±0.04 ^b	3.31±0.06 ^b	4.09±0.06 ^a	

Sonuçlar ortalama±standart hata olarak verilmiştir. / Results are given as mean±standard error.

^{a-b}Farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ($P \leq 0.05$).

^{a-b}The differences between the averages shown in different lowercase letters are significant ($P \leq 0.05$).

^{A-B}Farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ($P \leq 0.05$).

^{A-B}The differences between the averages shown in different capital letters are significant ($P \leq 0.05$).

kob: koloni oluşturan birim

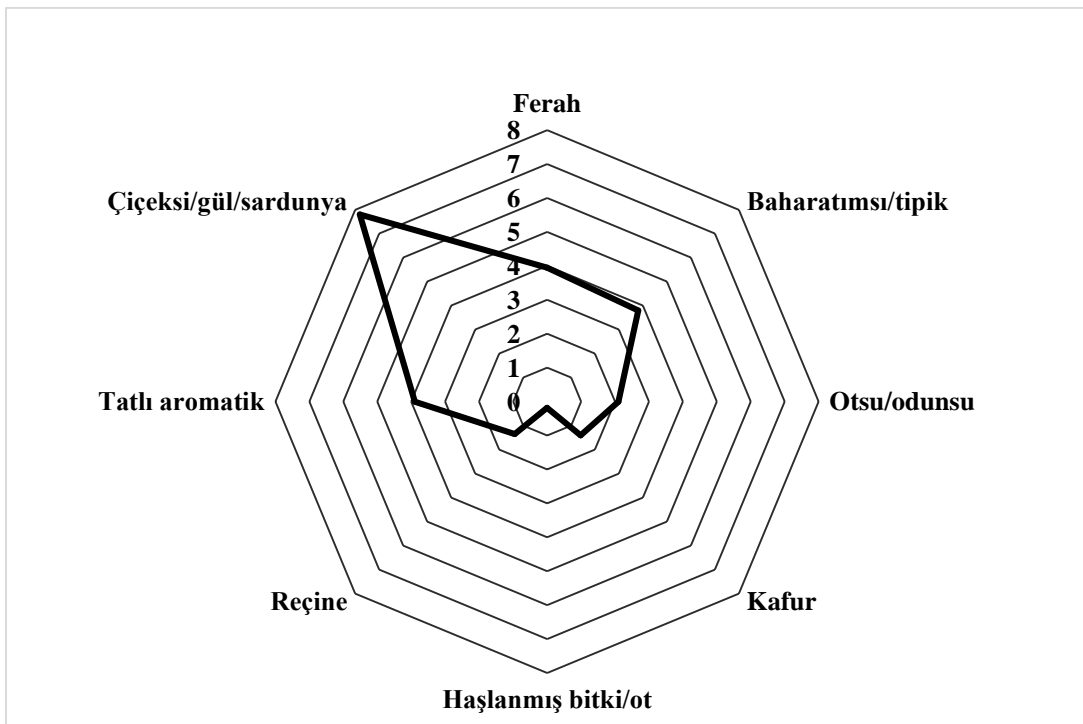
cfu: colony forming unit

Çizelge 4'e göre kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ıtır esansiyel yağının maya ve küf üzerine konsantrasyondan bağımsız olarak önemli bir etkisi olmuştur ($P \leq 0.05$). 0. günden 7. güne depolamanın maya ve küf gelişimi üzerine önemli bir etkisi görülmezken, 15.günde depolamanın önemli bir etki gösterdiği görülmektedir ($P \leq 0.05$). Gram (+) ve Gram (-) bakterilerde olduğu gibi mayaların inhibisyonu üzerinde de uçucu bileşenlerin miktar ve kombinasyonu önem taşımaktadır. Örneğin sitronelol, sitronelal, sitronelil izobütirat ve neril

asetat içeriği yüksek bir esansiyel yağın maya üzerindeki etkisi düşük bulunmuştur (Jirovetz vd., 2006). Bu nedenle mayalar üzerindeki inhibisyon etkisinin bakterilere göre daha az olması, ıtır esansiyel yağı içeriğinde belirtilen bileşenlerin bulunma yoğunluğuna ve kombinasyonuna bağlanabilir.

Duyusal Analizler

İtır esansiyel yağına ait ve duyuşal değerlendirme yöntemiyle belirlenen karakteristik tanımlayıcı aroma terimleri Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1. İtır esansiyel yağına ait tanımlayıcı özellikler
Figure 1. Descriptive characteristics of rose-scented geranium essential oil

Şekil 1'e göre çiçeksi/gül/sardunya özelliği ıtır esansiyel yağı için en belirgin tanımlayıcı özellik olmuştur. Gül benzeri kokuyu sağlayan sitronelol ve geraniol uçucu bileşenleridir (Lapczynski vd., 2008; Chen ve Viljoen, 2010). Rose oksit bileşeni çiçeksi koku sağlarken otsu ve meyvemsi kokuyu da desteklemektedir (Yamamoto vd., 2002). Çiçeksi kokuyu sağlayan diğer önemli uçucu bileşen linalol bileşenidir (Buccellato, 1982; Högnadottir ve Rouseff, 2003). Geraniol format, germakren D, filandren, p-simen, α-pinen gibi

daha düşük miktarlarda bulunan bileşenler ise tatlı, meyvemsi koku sağlamaktadır (Högnadottir ve Rouseff, 2003; Gomes vd., 2007). Taze, ferah koku yüksek konsantrasyonda bulunan izomenton ve takiben menton, geraniol gibi uçucu bileşenlerden kaynaklanmaktadır (Gomes vd., 2007). Odunsu kokuya sahip muurolen, kubeben, elemen gibi düşük konsantrasyonlarda bulunan bileşenler esansiyel yağta odunsu ve reçinemsi kokuyu da vermektedir (Buccellato, 1982). Pelargonium esansiyel yağlarının karakterinde

bulunan fakat istenmeyen haşlanmış bitki kokusuna düşük miktarda da olsa rastlanmıştır (Gomes vd., 2007). En belirgin tanımlayıcı olan çiçeksi ve gül benzeri koku geraniol ve sitronelol uçucu bileşenlerinden kaynaklanırken; tatlı aromatik ve meyvemsi kokunun bu bileşenlerin formatları, asetatları ve tıglatları tarafından sağlandığı belirtilmektedir (Gomes vd., 2007).

Farklı konsantrasyonlarda ıtır esansiyel yağı eklenen elma suyuna tüketici testi uygulanmış olup, sonuçlar Çizelge 5'te sunulmuştur.

Çizelge 5. Elma suyuna eklenen farklı konsantrasyonlardaki ıtır esansiyel yağına ait sıralama sonuçları
Table 5. Ranking results of rose-scented geranium essential oil in different concentrations added to apple juice

Sıralama/ Ranking	Konsantrasyon/ Concentration ($\mu\text{L}/100\text{ mL}$ elma suyu/ apple juice)		
	2.5	5	7.5
	1.50 ^b	1.84 ^b	2.66 ^a

1: En çok beğenilen, 3: En az beğenilen/ 1: Most liked, 3: Least liked

^{a-b}Farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ($P \leq 0.05$).

^{a-b}The differences between the means shown in different lowercase letters are significant ($P \leq 0.05$).

SONUÇ

Çalışmada *Pelargonium graveolens* cinsi olan gül kokulu sardunya diğer adıyla ıtır bitkisinden mikrodalga destekli hidrodistilasyon yöntemi ile elde edilen esansiyel yağın karakteristik bazı özellikleri incelenmiştir. İtır esansiyel yağının antioksidan aktivitesi olduğu belirlenmiştir ve doğal antioksidan madde olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir. Antibakteriyel aktivitesi incelendiğinde ise, çalışılan suşlar üzerindeki inhibisyon etkisinin *Escherichia coli*'ye kıyasla *Staphylococcus aureus* üzerinde çok daha belirgin olduğu saptanmıştır.

Tüketici tercihi ve ıtır esansiyel yağının depolama üzerine etkisi göz önüne alındığında, aerobik mezofil bakterilerin inhibisyonu üzerine en etkili konsantrasyon 100 mL elma suyunda 7.5 μL konsantrasyonu iken, tüketici bakımından bu katkı oranının en düşük beğeni skoruna sahip olduğu görülmektedir. En beğenilen doz olan 100 mL elma suyunda 2.5 μL konsantrasyonun ise aerobik mezofil bakterilerin inhibisyonu üzerine önemli bir etkisi bulunmamıştır. Maya ve küf inhibisyonu üzerine de konsantrasyon farkı önemli bulunmadığından 100 mL elma suyunda 5

Değerlendirmeye katılan panelistler 100 mL elma suyunda 2.5 μL ve 5 μL ıtır esansiyel yağı içeren konsantrasyonları daha çok beğenmiştir ve bu iki konsantrasyon arasında beğeni açısından önemli bir fark bulunmamıştır. Bunun yanı sıra 100 mL elma suyunda 7.5 μL ıtır esansiyel yağı bulunan konsantrasyon daha az beğenilmiştir ($P \leq 0.05$). Raf ömrü çalışması ve tüketici beğeni göz önünde bulundurulduğunda ıtır esansiyel yağı eklenmiş elma suyunun piyasada yeni bir ürün olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir.

μL konsantrasyonunda esansiyel yağ kullanımının hem raf ömründe hem de tüketici beğenisinde tercih edilebilir konsantrasyon olduğu düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından FYL-2020-3266 numaralı proje ile desteklenmiştir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu araştırma makalesinin herhangi bir kişi ve/veya kurum ile çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

YAZAR KATKILARI

Pelin Aydınlık araştırma konusunun tasarlanması, analizlerin gerçekleştirilmesi ve takibi, sonuçların değerlendirilmesi, istatistiksel analizler ve makale taslağının yazımını gerçekleştirmiştir. Yonca Yüceer araştırmanın süreç yönetimini, analizlerin metodolojisini, makale taslağının incelenmesini/düzeltilmesini ve bu projenin yürütücülüğünü yapmıştır.

KAYNAKLAR

- Ali, A., Murphy, C. C., Demirci, B., Wedge, D. E., Sampson, B. J., Khan, I. A., Tabanca, N. (2013). Insecticidal and biting deterrent activity of rose-scented geranium (*Pelargonium* spp.) essential oils and individual compounds against *Stephanitis pyrioides* and *Aedes aegypti*. *Pest Manag Sci*, 69(12), 1385-1392. doi: 10.1002/ps.3518
- Anonymous, (1987). Baharat-Rutubet Miktarı Tayini. Türk Standartları Enstitüsü 2134, Ankara.
- Anonymous, (2013). Türk Gıda Kodeksi Baharat Tebliği. 16.02.2009 tarih ve 28614 sayılı Resmi Gazete, Ankara.
- Ashour, M., Wink, M., Gershenzon, J. (2018). Biochemistry of terpenoids: monoterpenes, sesquiterpenes and diterpenes. *Annu Plant Rev Online*, 258-303. doi: 10.1002/9781119312994.apr0427
- Bayaz, M. (2014). Esansiyel yağlar: antimikrobiyal, antioksidan ve antimitojenik aktiviteleri. *Akademik Gıda*, 12(3), 45-53.
- Bigos, M., Wasiela, M., Kalembe, D., Sienkiewicz, M. (2012). Antimicrobial activity of geranium oil against clinical strains of *Staphylococcus aureus*. *Molecules*, 17(9), 10276-10291. doi: 10.3390/molecules170910276
- Boukhatem, M. N., Kameli, A., Saidi, F. (2013). Essential oil of Algerian rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens*): Chemical composition and antimicrobial activity against food spoilage pathogens. *Food Control*, 34(1), 208-213. doi: 10.1016/j.foodcont.2013.03.045
- Boukhris, M., Simmonds, M. S., Sayadi, S., Bouaziz, M. (2013). Chemical composition and biological activities of polar extracts and essential oil of rose-scented geranium, *Pelargonium graveolens*. *Phytother Res*, 27(8), 1206-1213. doi: 10.1002/ptr.4853
- Buccellato, F. (1982). Ylang survey. *Perfum. Flavor*, 7(4), 9-13.
- Cavar, S., Maksimović, M. (2012). Antioxidant activity of essential oil and aqueous extract of *Pelargonium graveolens* L'Her. *Food Control*, 23(1), 263-267. doi: 10.1016/j.foodcont.2011.07.031
- Cemeroğlu, B., (2007). *Gıda Analizleri* (4. baskı). Bizim Grup Basımevi, Ankara. 3-24.
- Charlwood, B. V., Charlwood, K. A. (1991). *Pelargonium* spp. (Geranium): in vitro culture and the production of aromatic compounds. In *Medicinal and Aromatic Plants III* (pp. 339-352). Springer, Berlin, Heidelberg. doi: 10.1007/978-3-642-84071-5_20
- Chen, W., Viljoen, A. M. (2010). Geraniol—a review of a commercially important fragrance material. *S Afr J Bot*, 76(4), 643-651. doi: 10.1016/j.sajb.2010.05.008
- Cuvelier, M. E., Richard, H., Berset, C. (1996). Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary. *J Am Oil Chem Soc*, 73(5), 645-652. doi: 10.1007/BF02518121
- Dean, E. W., Stark, D. D. (1920). A Convenient Method for the Determination of Water in Petroleum and Other Organic Emulsions. *J Ind Eng Chem*, 12(5), 486-490. doi: 10.1021/ie50125a025
- Degenhardt, J., Köllner, T. G., Gershenzon, J. (2009). Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants. *Phytochemistry*, 70(15-16), 1621-1637. doi: 10.1016/j.phytochem.2009.07.030
- Dorman, H. D., Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J Appl Microbiol*, 88(2), 308-316. doi: 10.1046/j.1365-2672.2000.00969.x
- Džamić, A. M., Soković, M. D., Ristić, M. S., Grujić, S. M., Mileski, K. S., Marin, P. D. (2014). Chemical composition, antifungal and antioxidant activity of *Pelargonium graveolens* essential oil. *J Appl Pharm Sci*, 4(03), 001-005. doi: 10.7324/JAPS.2014.40301
- Erdoğan, A. E., Everest, A. (2013). Antimikrobiyal ajan olarak bitki bileşenleri. *Turkish Journal of Scientific Reviews*, 6(2), 27-32. ISSN: 1308-0040, E-ISSN: 2146-0132
- Fardhyanti, D. S., Sediawan, W. B., Hisyam, A. (2019). Kinetics of mace (*Myristica arillus*) essential oil extraction using microwave assisted

- hydrodistillation: Effect of microwave power. *Ind Crop and Prod*, 131, 315-322. doi: 10.1016/j.indcrop.2019.01.067
- Fayed, S. A. (2009). Antioxidant and anticancer activities of *Citrus reticulata* (Petitgrain Mandarin) and *Pelargonium graveolens* (Geranium) essential oils. *Res J Agric Biol Sci*, 5(5), 740-747.
- Feglo, P., Sakyi, K. (2012). Bacterial contamination of street vending food in Kumasi, Ghana. *Journal of Medical and Biomedical Sciences*, 1(1), 1-8. ISSN: 2026-6294
- Ghannadi, A., Bagherinejad, M. R., Abedi, D., Jalali, M., Absalan, B., Sadeghi, N. (2012). Antibacterial activity and composition of essential oils from *Pelargonium graveolens* L'Her and *Vitex agnus-castus* L. *Iran J Microbiol*, 4(4), 171.
- Gomes, P. B., Mata, V. G., Rodrigues, A. E. (2007). Production of rose geranium oil using supercritical fluid extraction. *J Supercrit Fluids*, 41(1), 50-60. doi: 10.1016/j.supflu.2006.08.018
- Guenther, E., Althausen, D. (1948). *The essential oils* (Vol. 1, p. 774). New York: Van Nostrand.
- Hammer, K. A., Carson, C. F., Riley, T. V. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J Appl Microbiol*, 86 (6), 985-990. doi: 10.1046/j.1365-2672.1999.00780.x
- Högnadóttir, Á., Rouseff, R. L. (2003). Identification of aroma active compounds in orange essence oil using gas chromatography-olfactometry and gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 998(1-2), 201-211. doi: 10.1016/S0021-9673(03)00524-7
- Hsouna, A. B., Hamdi, N. (2012). Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils and organic extracts from *Pelargonium graveolens* growing in Tunisia. *Lipids Health Dis*, 11(1), 167. doi: 10.1186/1476-511X-11-167
- Jirovetz, L., Eller, G., Buchbauer, G., Schmidt, E., Denkova, Z., Stoyanova, A., Geissler, M. (2006). Chemical composition, antimicrobial activities and odor descriptions of some essential oils with characteristic floral-rosy scent and of their principal aroma compounds. *Recent Research Developments in Agronomy & Horticulture*, 2, 1-12.
- Kaya, D., Ergönül, P. G. (2015). Uçucu yağları elde etme yöntemleri. *GIDA*, 40(5), 303-312. doi: 10.15237/gida.GD15014
- Kırca, A., Arslan, E. (2008). Antioxidant capacity and total phenolic content of selected plants from Turkey. *Int J of Food Sci Tech*, 43(11), 2038-2046. doi: 10.1111/j.1365-2621.2008.01818.x
- Kürekçi, C., Sakin, F. (2017). Uçucu Yağlar: Antimikrobiyal Açıdan Uçucu Yağlar: In-Vitro ve In-Vivo Çalışmalar. *Türkiye Klinikleri J Anim Nut & Nutr Dis-Special Topics*, 3(1), 15-20.
- Lapczynski, A., Bhatia, S. P., Letizia, C. S., Api, A. M. (2008). Fragrance material review on dl-citronellol. *Food Chem Toxicol*, 46(11), S103-S109. doi: 10.1016/j.fct.2008.06.043
- Meilgaard, M., Civille, G. V., Carr, B. T., (1999). *Sensory Evaluation Techniques* (3. baskı). CRC Press Taylor & Francis Group, FL, ABD. 161-170. ISBN: 1420005561
- Pandey, V., Patra, D. D. (2015). Crop productivity, aroma profile and antioxidant activity in *Pelargonium graveolens* L'Hér. under integrated supply of various organic and chemical fertilizers. *Ind Crop Prod*, 67, 257-263. doi: 10.1016/j.indcrop.2015.01.042
- Peterson, A., Machmudah, S., Roy, B. C., Goto, M., Sasaki, M., Hirose, T. (2006). Extraction of essential oil from geranium (*Pelargonium graveolens*) with supercritical carbon dioxide. *J Chem Technol & Biotechnol: International Research in Process, Environmental & Clean Technology*, 81(2), 167-172. doi: 10.1002/jctb.1375
- Rahman, A. N. A., Mohamed, A. A. R., Mohammed, H. H., Elseddawy, N. M., Salem, G. A., El-Ghareeb, W. R. (2020). The ameliorative role of geranium (*Pelargonium graveolens*) essential oil against hepato-renal toxicity, immunosuppression, and oxidative stress of profenofos in common carp, *Cyprinus carpio* (L.). *Aquaculture*, 517, 734777. doi: 10.1016/j.aquaculture.2019.734777
- Randhawa, M. A. (2006). The effect of dimethyl sulfoxide (DMSO) on the growth of dermatophytes. *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi*, 47(4), 313-318. doi: 10.3314/jjmm.47.313

- Ravindra, N. S., Kulkarni, R. N. (2015). Essential oil yield and quality in rose-scented geranium: Variation among clones and plant parts. *Sci Horti- Amsterdam*, 184, 31-35. doi: 10.1016/j.scienta.2014.12.023
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio Med*, 26(9-10), 1231-1237. doi: 10.1016/S0891-5849(98)00315-3
- Rosato, A., Vitali, C., De Laurentis, N., Armenise, D., Milillo, M. A. (2007). Antibacterial effect of some essential oils administered alone or in combination with Norfloxacin. *Phytomedicine*, 14(11), 727-732. doi: 10.1016/j.phymed.2007.01.005
- Rosato, A., Maggi, F., Cianfaglione, K., Conti, F., Ciaschetti, G., Rakotosaona, R., Corbo, F. (2018). Chemical composition and antibacterial activity of seven uncommon essential oils. *J Essent oil Res*, 30(4), 233-243. doi:10.1080/10412905.2018.1442753
- Saxena, G., Banerjee, S., Gupta, R., Laiq-ur-Rahman, Tyagi, B. R., Kumar, S., Ramesh, S. (2004). Composition of the essential oil of a new isomenthone-rich variant of geranium obtained from geraniol-rich cultivar of *Pelargonium* species. *J Essent Oil Res*, 16(2), 85-88. doi: 10.1080/10412905.2004.9698658
- Singh, M., Singh, U. B., Ram, M., Yadav, A., Chanotiya, C. S. (2013). Biomass yield, essential oil yield and quality of geranium (*Pelargonium graveolens* L. Her.) as influenced by intercropping with garlic (*Allium sativum* L.) under subtropical and temperate climate of India. *Ind Crop Prod*, 46, 234-237. doi: 10.1016/j.indcrop.2013.01.032
- Tournas, V. H., Heeres, J., Burgess, L. (2006). Moulds and yeasts in fruit salads and fruit juices. *Food Microbiol*, 23(7), 684-688. doi: 10.1016/j.fm.2006.01.003
- Wells, R., Lis-Balchin, M. (2002). 22 Perfumery and cosmetic products utilising Geranium oil. *Geranium and Pelargonium: History of Nomenclature, Usage and Cultivation*, 247. ISBN: 9780203216538
- Yamamoto, T., Matsuda, H., Utsumi, Y., Hagiwara, T., Kanisawa, T. (2002). Synthesis and odor of optically active rose oxide. *Tetrahedron Lett*, 43(50), 9077-9080. doi: 10.1016/S0040-4039(02)02311-0