

**ESKİŞEHİR PİYASASINDAKİ YAĞ ALTI
SULARININ UÇUCU BİLEŞİKLERİ VE
MİKROBİYAL KONTROLLERİ**

Çiğdem Köseoğlu
Yüksek Lisans Tezi

**ESKİŞEHİR PİYASASINDAKİ YAĞ ALTI
SULARININ UÇUCU BİLEŞİKLERİ VE
MİKROBİYAL KONTROLLERİ**

Çiğdem Köseoğlu

Yüksek Lisans Tezi

ANADOLU ÜNİVERSİTESİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakognozi Anabilim Dalı

Eskişehir, Eylül 2009

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Neş'e KIRIMER

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı ve soyadı : Çiğdem Köseoğlu
Doğum tarihi ve yeri : 1984, Eskişehir
Uyruğu : T.C.
Medeni durumu : Bekar
İletişim adresleri : koseogluc@hotmail.com

Eğitim Durumu

İlkokul : M. Ali Yasin İlkokulu (Eskişehir, 1995)
Ortaokul : Sami Sipahi Ortaokulu (Eskişehir, 1998)
Lise : Yunus Emre Lisesi (Eskişehir, 2002)
Lisans : Osmangazi Üniversitesi, Fen Fakültesi,
Biyoloji Bölümü (2006)

Yabancı dil: : İngilizce

Mesleki Deneyim : Eskişehir Büyükşehir Belediyesi ESKİ
Genel Müdürlüğü Merkez Laboratuvarı'nda
2007 yılından bu yana biyolog olarak
görevini sürdürmektedir.

ÖNSÖZ

Son yıllarda ticari amaçla aromatik bitkilerin pek çoğunun uçucu yağları üretilmekte ve yağ altı suları da şişelenerek ve etiketlenerek piyasaya sürülmektedir. Bu ürünlerin denetiminin yeterince yapıp yapılmadığı konusunda bilgiye rastlanamamaktadır.

Eskişehir piyasasında bulunan, su distilasyonu ve genellikle de buhar distilasyonu yöntemiyle elde edildiği düşünülen ve dolayısı ile steril olmaları beklenen bu ürünlerin bileşimleri ve mikrobiyal kirlilikleri açısından incelemesi planlanmıştır.

Tez konumu belirleyen ve tez çalışmalarım süresince yardım ve desteklerini esirgemeyen, her zaman yol gösterici olan sevgili danışman hocam Prof. Dr. Neş'e KIRIMER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Engin tecrübe ve bilgisiyle her konuda yardımcı olan ve Uçucu Yağ Kütüphanesi kullanımına izin verdiği için hocam Prof. Dr. Kemal Hüsnü Can BAŞER'e,

Çalışmalarında değerli öneri ve eleştirilerinden yararlandığım ve GK/KS analizlerini yapan Yard. Doç. Dr. Mine KÜRKÇÜOĞLU'na,

Tez çalışmalarında teknik konularda bilgisinden yararlandığım Araş. Gör. Gökalep İŞCAN'a,

Mikrobiyolojik analiz çalışmalarımı gerçekleştirebilmek için gerekli imkânı sağlayan, bilgi ve tecrübesini esirgemeyen ESKİ Genel Müdürlüğü Merkez Laboratuvarı Müdürü Hakkı DEMİRTAŞ'a,

Ve eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi her türlü desteği sağlayan anneme, babama, abime ve Zerrin'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ESKİŞEHİR PİYASASINDAKİ YAĞ ALTI SULARININ UÇUCU BİLEŞİKLERİ VE MİKROBİYAL KONTROLLERİ

ÖZET

Halk arasında yaygın olarak kullanılmakta olan yağ altı sularının kalite kontrol ve standardizasyonu için yapılmış olan araştırma sayısı yok denecek kadar azdır. Bu konudaki eksikliği kısmen giderebilmek için Eskişehir’de ticari potansiyeli yüksek olan gül suyu ve kekik suyu yanında hayıt suyu, karabaş suyu, melisa suyu, ökaliptus suyu ve papatya sularının sıvı-sıvı (*n*-hekzan) ekstraksiyonu yapılarak Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (GK/KS) analizleri gerçekleştirilmiştir ve membran filtrasyon yöntemi ile mikrobiyal kirlilikleri kontrol edilmiştir.

Çalışma sonucunda, halkımızın hekim ve eczacısına danışmadan kontrolsüz olarak dahilen tükettiği bu ve benzeri ürünlerin üretim izni, ruhsatlandırılması ve ilgili kalite kontrollerinin en kısa sürede Sağlık Bakanlığı izin ve denetimine verilmesi önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: aromatik bitki, yağ altı suyu, GK ve GK/KS, sıvı-sıvı ekstraksiyon, membran filtrasyon yöntemi, mikrobiyolojik kontrol

VOLATILE COMPOUNDS OF AROMATIC WATERS FROM ESKISEHIR MARKETS AND THEIR MICROBIAL EVALUATION

ABSTRACT

Only a few research studies exist on the quality control and standardization of aromatic waters used traditionally. From this aspect in order to fill this gap, commercially available rose water, oregano water, vitex water, karabaş water, melissa water, eucalyptus water, and chamomile water were obtained from Eskisehir local markets for evaluation. Liquid – liquid extractions (by *n*-hexane) followed by subsequent gas chromatographic (GC) and gas chromatography/mass spectroscopy (GC/MS) analyses gave the volatile compositions of the aromatic waters, which were membrane filtered prior to microbiological load experiments.

As a result of this study, it is suggested that production of aromatic waters and similar herbal products should be authorized and should not be consumed and without the advice of medical practitioners and pharmacists. Furthermore, the production, licensing as well as quality control inspection of such products should be performed by the Ministry of Health.

Key words: aromatic plants, aromatic waters (hydrosols), GC and GC/MS, Liquid – liquid extraction, membrane filtration, microbiological evaluation

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖZGEÇMİŞ	i
ÖNSÖZ	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ	x
GİRİŞ ve AMAÇ	1
KAYNAK BİLGİSİ	2
Kullanılan Aromatik Bitkiler	2
<i>Gül çiçeği (La. Rosae flos, Al. Rosenbluete, Fr. Fleur de rose rouge, İn. Rose petal)</i>	2
<i>Gül suyu (Rosae aqua)</i>	2
<i>Hayıt meyvesi (Agni-casti fructus)</i>	3
<i>Karabaş lavanta çiçeği (Lavandulae romanae flos)</i>	3
<i>Kekik (Origanum herba)</i>	4
<i>Kekik suyu</i>	4
<i>Oğulotu (melisa) yaprağı (La. Melissa folium)</i>	5
<i>Ökalyptus yaprağı (La. Eucalypti camaldulensis folium)</i>	6
<i>Papatya çiçeği (La. Chamomilla flos)</i>	6
Yağ Altı Sularının Mikrobiyolojik Analizi	7
<i>Toplam mezofilik aerobik bakteri</i>	8
<i>Toplam koliform bakteri, fekal koliform bakteri, E. coli</i>	8
<i>Enterokok grubu bakteriler</i>	9
<i>Patojen stafilokok grubu bakteriler</i>	11
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11
Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon	12
GEREÇLER	14
Kullanılan Maddeler	14
<i>Kullanılan yağ altı su numuneleri</i>	14

<i>Kullanılan kimyasal maddeler, çözücüler ve besiyerleri</i>	14
<i>Kullanılan Cihazlar</i>	15
YÖNTEMLER	16
<i>Yağ Altı Sularının Uçucu Bileşiklerinin Tayini</i>	16
<i>Sıvı-sıvı ekstraksiyonu</i>	16
<i>Gaz kromatografisi / kütle spektroskopisi</i>	17
<i>Gaz kromatografisi (GK) analiz koşulları</i>	17
<i>Gaz kromatografisi/kütle spektrometrisi (GK/KS) analiz koşulları</i>	17
<i>Yağ Altı Sularının Mikrobiyolojik Analizi</i>	18
<i>Membran filtrasyon yöntemi</i>	18
<i>Membran filtrasyon çalışma prensibi</i>	19
<i>Membran filtrasyon ile mikrobiyolojik analizin temel yaklaşımı</i>	24
<i>Membran filtrasyon yönteminin uygulanması ve ön filtrasyon</i>	24
<i>Analiz edilebilecek numune ve özellikleri</i>	24
<i>Besiyeri seçimi</i>	24
<i>Numunenin hazırlanması</i>	25
<i>Membran filtrasyon yıkama çözeltisi</i>	25
<i>Numunenin muhafazası</i>	26
<i>Sonuçların verilmesi</i>	26
<i>Katı gıdalar için membran filtrasyon uygulaması</i>	26
<i>Membran filtrasyonda seyreltme (dilüsyon) kavramı</i>	27
BULGULAR ve TARTIŞMA	28
<i>Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu</i>	28
<i>GK/KS Analiz Sonuçları</i>	28
<i>Gül suyunun bileşimi</i>	28
<i>Hayıt suyunun bileşimi</i>	30
<i>Karabaş suyunun bileşimi</i>	32
<i>Kekik suyunun bileşimi</i>	33
<i>Melisa suyunun bileşimi</i>	35
<i>Ökalyptus suyunun bileşimi</i>	36
<i>Papatya suyunun bileşimi</i>	38
<i>Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları</i>	39
<i>Gül suyunun sonuçları</i>	39
<i>Hayıt suyunun sonuçları</i>	41

<i>Karabaş suyunun sonuçları</i>	42
<i>Kekik suyunun sonuçları</i>	43
<i>Melisa suyunun sonuçları</i>	44
<i>Ökalyptus suyunun sonuçları</i>	45
<i>Papatya suyunun sonuçları</i>	46
SONUÇ ve ÖNERİLER	48
KAYNAKLAR	52
EK	56

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL NO ve ADI	SAYFA
Şekil 1 Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon Şeması	16
Şekil 2 Membran Filtre Metodu	19
Şekil 3 B Firmasına Ait Olan Gül Suyunun GK/KS Kromatogramı	30
Şekil 4 C Firmasına Ait Olan Gül Suyunun GK/KS Kromatogramı	30
Şekil 5 E Firmasına Ait Olan Hayıt Suyunun GK/KS Kromatogramı	31
Şekil 6 E Firmasına Ait Olan Karabaş Suyunun GK/KS Kromatogramı	33
Şekil 7 E Firmasına Ait Olan Kekik Suyunun GK/KS Kromatogramı	35
Şekil 8 E Firmasına Ait Olan Melisa Suyunun GK/KS Kromatogramı	36
Şekil 9 E Firmasına Ait Olan Ökalyptus Suyunun GK/KS Kromatogramı	37
Şekil 10 E Firmasına Ait Olan Papatya Suyunun GK/KS Kromatogramı	39
Şekil 11 B Firmasına Ait Olan Gül Suyunda Tespit Edilen <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	41
Şekil 12 E Firmasına Ait Olan Hayıt Suyunda Tespit Edilen Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri	42
Şekil 13 E Firmasına Ait Olan Karabaş Suyunda Tespit Edilen Fekal Koliiform Bakteri	43
Şekil 14 E Firmasına Ait Olan Melisa Suyunda Tespit Edilen Enterokok Grubu Bakteri	45
Şekil 15 E Firmasına Ait Olan Papatya Suyunda Tespit Edilen Koliiform Bakteri	47
Şekil 16 E Firmasına Ait Olan Papatya Suyunda Tespit Edilen Stafilokok Grubu Bakteri	47

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE NO ve ADI	SAYFA
Çizelge 1 Kullanılan Su Numunelerinin Temin Edildiği Yer ve Tarih	14
Çizelge 2 Kullanılan Besiyerlerinin İsimleri ve Bileşimleri	14
Çizelge 3 Besiyeri Adı, Süzülmesi Gerekli Numune Miktarı, Sıcaklık ve İnkübasyon Süresi	26
Çizelge 4 Yağ Altı Sularının Ekstre Verimleri	28
Çizelge 5 Gül Suyunun Bileşimi	29
Çizelge 6 Hayıt Suyunun Bileşimi	31
Çizelge 7 Karabaş Suyunun Bileşimi	32
Çizelge 8 Kekik Suyunun Bileşimi	34
Çizelge 9 Melisa Suyunun Bileşimi	35
Çizelge 10 Ökalyptus Suyunun Bileşimi	36
Çizelge 11 Papatya Suyunun Bileşimi	38
Çizelge 12 Gül Suyunun Mikrobiyolojik Analiz Sonucu	40
Çizelge 13 Hayıt Suyunun Mikrobiyolojik Analiz Sonucu	41
Çizelge 14 Karabaş Suyunun Mikrobiyolojik Analiz Sonucu	43
Çizelge 15 Kekik Suyunun Mikrobiyolojik Analiz Sonucu	44
Çizelge 16 Melisa Suyunun Mikrobiyolojik Analiz Sonucu	45
Çizelge 17 Ökalyptus Suyunun Mikrobiyolojik Analiz Sonucu	46
Çizelge 18 Papatya Suyunun Mikrobiyolojik Analiz Sonucu	46

SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

nm	: Nanometre
mL	: Mililitre
μm	: Mikrometre
μ	: Mikron
GK	: Gaz kromatografisi
GK/KS	: Gaz kromatografisi/kütle spektrometresi
NKS	: Kurutulmuş hazır besiyeri (Nutrient ped sets)
R_t	: Retention time (Tutunma zamanı)
<i>Escherichia coli</i>	: <i>E. coli</i>
<i>P. aeruginosa</i>	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>S. aureus</i>	: <i>Staphylococcus aureus</i>
TSE	: Türk Standartları Enstitüsü

GİRİŞ VE AMAÇ

Türkiye 11000’i aşkın bitki çeşidi ile zengin bir floraya sahiptir. Bu türlerin en az üçte birini aromatik bitkiler oluşturmaktadır. Bu bitkiler yöresel olarak çay şeklinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Son yıllarda ticari amaçla pek çoğunun uçucu yağları üretilmekte ve yağ altı suları da şişelenerek ve etiketlenerek piyasaya sürülmektedir. Bu ürünlerin denetiminin yeterince yapıp yapılmadığı konusunda bilgiye rastlanamamaktadır. Eskişehir piyasasında bulunan yağ altı sularının bileşimleri ve mikrobiyal kirlilikleri açısından incelemesi planlanarak, piyasada en bol bulunan 7 çeşit yağ altı suyu materyal olarak seçilmiştir. Bunlar; gül suyu, hayıt suyu, karabaş suyu, kekik suyu, oğul otu suyu, ökaliptus suyu, papatya suyudur.

Yağ altı sularının bileşimini belirlemek amacıyla sıvı-sıvı ekstraksiyonlar yapılarak uçucu bileşikleri elde edilmiş ve bu ekstraktların Gaz Kromatografisi / Kütle Spektrometrisi analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu araştırmaların sonucunda hammadde olarak kullanılan bitkilerin doğal olarak taşıdığı uçucu bileşiklerle bir karşılaştırma yapılarak hammadde kullanımında ve üretimde gösterilen dikkat ve özeni ortaya konması amaçlanmıştır. Su distilasyonu ve genellikle de buhar distilasyonu yöntemiyle elde edildiği düşünülen ve dolayısı ile steril olmaları beklenen bu ürünlerin mikrobiyolojik kontrolleri de yapılmıştır.

KAYNAK BİLGİSİ

Bu tezin konusunu oluşturan yağ altı sularının elde edildiği bitkiler ve mikrobiyal açıdan kirliliklerini tespit etmede kullanılan mikroorganizmalar ile ilgili kısa bilgileri içeren kaynak taramaları bu bölümde yer almaktadır.

Kullanılan Aromatik Bitkiler

Gül çiçeği (*La. Rosae flos*, *Al. Rosenbluete*, *Fr. Fleur de rose rouge*, *İn. Rose petal*)

Şam gülü, yağ gülü, fındık gülü, pembe yağ gülü, sakız gülü (Baytop, 1994; 1999).

Rosa damascena 'nın çiçekleridir. *R. damascena* kışın yapraklarını döken dikenli, çalı görünüşünde bir bitkidir. Pembe renkli, yarım katmerli ve kuvvetli kokulu, çiçek açan, çok senelik bir bitkidir. Melez bir tür olup hakiki vatanı ve kökeni tam olarak bilinmemektedir. Ancak bu türün, çok eski dönemlerde *R. gallica* L. ile *Rosa phoenicia* Boiss. türlerinden oluşmuş bir hibrit olduğu kabul edilmektedir. *Rosa damascena* türünün oluşmasını sağlayan her iki türde Anadolu'da yabancı olarak yetişmektedir (Baytop, 1990).

Çiçekler uçucu yağ ve tanen (% 15) taşımaktadır. Su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağı ana bileşik olarak özellikle geraniol (% 9-14) ve sitronellol (% 31-44) içerir (Baytop, 1999). Bir başka çalışmada ise nerol (% 5-8) ve metil öjenol (% 3-4) e de rastlanmaktadır (Başer ve ark., 2003). Türk gül yağının ana bileşikleri içerisinde sitronellol (% 31-44), geraniol (% 9-19), nerol (% 5-9), linalol (% 0,6-2) ve fenil etil alkol (% 1,2-1,9) gibi terpen alkollerini bulunmaktadır (Başer ve Kürkçüoğlu, 2008).

Gül çiçeği (*Rosae flos*), uçucu yağ (*Rosae aetheroleum*) ve yağ altı suyu (*Rosae aqua*) elde edilmesinde kullanılmaktadır. Gül çiçeklerinin su distilasyonu sonucu gül yağı ve yağ altı suyu olarak Gül suyu elde edilmektedir. Gül yağı koku verici ve fiksator olarak kozmetoloji ve parfümeride kullanılmaktadır. Gül yağı antiseptik özelliğinden dolayı pomatların terkininde yer almaktadır. Ayrıca gıda sanayinde de koku ve lezzet verici olarak kullanılmaktadır.

Gül suyu (Rosae aqua)

Su distilasyonu ile Gül yağı elde edilmesi sırasında, yan ürün olarak, elde edilen bir mahsuldür. Özel gül kokulu ve renksiz bir sıvıdır. Ana bileşik olarak feniletıl alkol taşır. Antiseptik etkiye sahiptir. Haricen ve özellikle göz hastalıklarında, antiseptik olarak kullanılır (Baytop, 1999). Yine antiseptik özelliğinden dolayı diş ağrılarında, gözdeki iltihaplanmalarda, ekzema tedavisinde, dahilen hafif müşil etkili olduğundan barsak bozukluklarında laksatif (gül çiçeğinin yapraklarını kaynatarak elde edilen çay barsakları rahatlatır) olarak kullanılmaktadır. Gül suyu, ayrıca parfümeri sanayinde, gül kremi ve traş losyonu üretiminde, şuruplarda, ayrıca alkolsüz oluşu nedeniyle dini törenlerde kullanılmaktadır (Duke, 1986; Leung ve Foster, 1996; Kürkçüoğlu, 1995). Ayrıca Gül Likörü ve Marasken Likörü'nün yapımında kullanıldığı bilinmektedir (Başer, 1997).

Türk Standartları Enstitüsü (TSE)'ne göre gül suyunun standartlara uygunluğunun belirlenmesi için yapılan bazı analizler vardır. Bu analizler sırasıyla, pH tayini,

özümlü ağırlık tayini, asitlik sayısı tayini, uçucu olmayan maddelerin tayini, patojen mikroorganizma üremesi ve uçucu yağ tayinidir (TSE, 1988).

Hayıt meyvesi (*Agni-casti fructus*)

Ayıld, Ayıt, Beşparmakotu, Hayıt tohumu.

Vitex agnus-castus L. (Verbenaceae) türünün olgun meyveleridir. Bu tür, yaprakları el biçiminde parçalı, mavimsi renkli çiçekli, çalı görünüşünde bir ağaççıktır. Meyve küre biçiminde, 3 mm kadar çapında, sert, özel kokulu ve hafif acımsı lezzetlidir. Bir Akdeniz bitkisi olup Anadolu'da çok yaygındır. Uçucu yağ ve reçine taşır. İzmir civarından toplanmış olan materyal (yaprak, çiçek, meyve karışımı) de % 0,75 uçucu yağ bulunduğu saptanmıştır. Meyveler idrar arttırıcı, gaz söktürücü ve yatıştırıcı olarak kullanılmaktadır. Diyarbakır (Siverek) bölgesinde meyvelerden hazırlanan infüzyonun doğumu önleyici etkisi bulunduğu iddia edilmektedir. Hayıt meyvesi içerisindeki eterli uçucu yağların ve diğer sinerjetik bileşiklerin hipofiz bezi üzerinde pozitif etkileri vardır. Bilindiği gibi hipofiz bezi pek çok vücut hormonunun dengesinden sorumludur. Hayıt meyvesi, hipofiz bezini yumurtalıklardaki *corpus luteum* tarafından progesteron üretiminin artmasına yol açan belirli hormonları daha çok veya daha az üretmek için uyarır. Hayıt meyvesi vücuttaki kadınlık hormonlarını doğal bir şekilde dengeleyerek işlev görür.

Batı Anadolu Bölgesi'nde (Muğla) çiçek durumlarının distilasyonundan elde edilen uçucu yağ, kekik yağı yerine kullanılmaktadır. Meyve veya yaprak tozunun, yünlu kumaşları güvelere karşı koruduğu söylenmektedir (Baytop, 1999). Meyve ekstrelerinden hazırlanan preparatların günümüz modern ilaçları içinde yer aldığı ve menstrual problemlerin tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir.

Meyve uçucu yağının ana bileşikleri 1,8-sineol (% 16), terpinen-4-ol (% 11), sabinen (% 9), α -pinen (% 8) ve Z- β -farnesen (% 5) olarak belirlenmiştir (Güzel, 2002).

Karabaş lavanta çiçeği (*Lavandulae romanae flos*)

Gargan (Muğla), Keşişotu.

Lavandula stoechas L. (Karabaşotu) türünün kurutulmuş çiçek durumlarıdır. Bu tür 45-50 cm yükseklikte, tüylü, kuvvetli kokulu, çalı görünüşünde ve çok yıllık bir bitkidir. Yapraklar dar uzun, kenarları biraz alta doğru kıvrık. Çiçekler siyahımsı mor renkli, dalların ucunda silindirik durumlarda toplanmıştır. Batı Anadolu'nun maki bölgelerinde yaygın bir türdür. Çiçek durumu sapının boyuna göre iki alttüre ayrılmaktadır:

subsp. *stoechas*: Çiçek durumunun sapı 0,5-2,5 cm, durumdan daha kısa.

subsp. *cariensis*: Çiçek durumunun sapı 5-20 cm, durumdan daha uzun.

Saponinler ve uçucu yağ taşımaktadır. İstanbul civarından toplanmış olan örneklerde % 0,5 oranında uçucu yağ bulunduğu saptanmıştır. Eski yazarlar tarafından çok önem verilen bir drogtur. Ağrı kesici, antiseptik, yara iyi edici, yatıştırıcı (sara ve astımda), balgam söktürücü, idrar yolları iltihaplarını giderici, ekzema yaralarını iyi edici, sinir ve kalp kuvvetlendirici gibi etkileri nedeniyle geniş bir kullanılış alanı bulmuştur. Etkileri taşıdığı uçucu yağdan ileri gelir.

Zararsız ve etkili bir drogtur (Baytop, 1999). Ayrıca Kekik, Biberiye ve Çörekotu ile yapılan karışımın diş ağrılarına iyi geldiğine inanılmaktadır (Gürsoy ve Gürsoy, 2004). Osmanlı İmparatorluğu döneminde de önemli bir drog idi. Keşiş dağında bulunan Karabaş otu'nun, kolera hastalığı tedavisinde kullanılması ve eczanelerde sattırılması ile ilgili, 1848 tarihli bir padişah emri vardır. Genellikle infüzyon (% 2-5) halinde haricen ve dahilen kullanılmaktadır (Baytop, 1999).

Kafur (% 45,8), α -fenkon (% 31,8), bornil asetat (% 4,2) ve kamfen (% 2,5) tespit edilen ana bileşiklerdir (Alan ve ark., 2008).

Kekik (*Origanum herba*)

Gövde kekiği, kırkbaş kekiği, İzmir kekiği, İzmir mercanköşkü, dağ kekiği, oğlan kekiği, peynir kekiği, akkekik, bilyalı kekik, nemamul otu, sater (Baytop, 1999; Baytop, 1994; Başer ve ark., 1986; Sezik ve Yeşilada, 1999; Yeşilada ve ark., 1993; Yeşilada ve ark., 1995).

Origanum cinsi bir İran-Turan elementi olup Anadolu'nun doğusundaki bölgeden dünyaya yayılmıştır. Daha önceki bilgilere göre bu cinse ait bilinen tür sayısı 39'dur. Bu türler 10 seksiyonda toplanmıştır. Türkiye florasında (Davis, 1982) bu 10 seksiyondan 8'ine ait 21 tür ve toplam 25 takson bulunur. Bunlardan 14'ü endemiktir (Tümen ve ark., 1995; Başer, 2002). Dünya üzerinde ekonomik önem taşıyan kekik türleri, Yunan kekiği (İstanbul kekiği) (*Origanum vulgare* subsp. *hirtum* L. (Boiss.) Hayek), Türk kekiği (*Origanum onites* L.), İspanyol kekiği (*Coridothymus capitatus* (L.)) ve Meksika kekiği (*Lippia graveolens* HBK)'dir (Lawrence ve Reynolds, 1984).

Türkiye'de "Kekik" kelimesi, karvakrol kokusuna sahip olan bitkiler için kullanılır. Uçucu yağları yüksek miktarda karvakrol içermektedir. Labiatae familyasına dahil olan *Origanum*, *Thymus*, *Thymbra*, *Satureja* ve *Coridothymus capitatus* kekik adı ile bilinen bitkilere aittir (Başer, 1995; Baytop, 1995).

En yaygın kullanılan tür *O. onites*'tir. 60 cm yüksekliğe kadar erişebilen, beyaz çiçekli, sık tüylü, çok yıllık bir bitkidir. Bir Akdeniz bitkisi olup Batı Anadolu Bölgesi'nde bol olarak yetişir. Yapılan kültür denemelerinde İzmir bölgesinde, verimli bir şekilde yetiştirilebileceği de gösterilmiştir (Baytop, 1999; Davis, 1982). Uçucu yağ (% 0,5-3,5), acı madde ve tanen taşımaktadır. Uçucu yağ içinde fenolik izopren türevleri olarak karvakrol (% 50-82) ve timol (% 1-12) bulunmaktadır (Kırimer ve ark., 1995).

Çiçekli dallarından su buharı distilasyonu ile elde edilen uçucu yağ antiseptik amaçla (Gürsoy ve Gürsoy, 2004) ve haricen romatizma, omuz sertleşmesi ve sırt ağrılarında kullanılmaktadır (Tabata ve ark., 1993; Sezik ve Yeşilada, 1999; Honda ve ark., 1996).

Kekik suyu

Batı ve Güneydoğu Anadolu yaylalarında yetişen bazı *Origanum* türlerinin çiçekli dallarından su buharı distilasyonu ile elde edilir ve az miktarda fenolik bileşikler (karvakrol, timol) taşır. Mide rahatsızlıklarında ve hazımsızlıkta kullanılmaktadır (Tabata ve ark., 1993). Osmanlı döneminde seyyar satıcılar tarafından İstanbul sokaklarında satılır ve dahilen öksürük kesici ve balgam söktürücü olarak kullanılırdı (Baytop, 1999). Kekik suyunda bulunan uçucu bileşiklerden karvakrol

(% 85-90) ve timole (% 3-6) ana bileşikler olarak rastlanmaktadır (Arslandere, 2002; Boydağ, 2004).

Oğulotu (melisa) yaprağı (*La. Melissae folium*)

Limon otu, dağ çayı, melisa otu, kovan otu, limon nanesi, tatramba ve temre otu (Baytop, 1994; 1999).

Melisa officinalis L. (Labiatae) türünün taze veya kurutulmuş yapraklarıdır. Bu tür 20-150 cm yükseklikte, tüylü, çok yıllık ve otsu bir bitkidir. Yapraklar basit, saplı ve dişli kenarlıdır. Çiçekler iki dudaklı, beyaz sarımsı veya kırmızımtırak renklidir. Anadolu'nun dış kısımlarında ve Akdeniz Bölgesi'nde bol olarak bulunmaktadır. Yaprak ve gövdedeki tüylerin şekillerine ve cinslerine göre, Türkiye'de 3 alttür saptanmıştır. Bunlardan yalnız subsp. *officinalis* limon kokulu olup tedavide kullanılır. Diğer iki alttür kokusuz veya fena kokulu olduklarından tedavi alanında kullanılmamaktadır. Tıbbi olan alttür Avrupa'da geniş bir şekilde yetiştirilmektedir (Baytop, 1999; Davis, 1982). Yapraklar oval veya kalp biçiminde, uzun saplı, 3-5 cm uzunluk ve 3 cm kadar genişlikte, kenarları dişli ve her iki yüzde de seyrek tüylü yapraklardır. Limon kokusunu andırır kokulu ve baharlı lezzetlidir.

Tanen ve uçucu yağ (% 0,015-0,1) taşımaktadır. Uçucu yağ içinde özellikle sitral, sitronellal, sitronellol ve linalol bulunmaktadır.

Bitkinin, yaprağı (*Melissae folium*), herbası ve uçucu yağı kullanılmaktadır. *Melisa officinalis*, yatıştırıcı, midevi, gaz söktürücü, terletici ve antiseptik etkilere sahiptir (Baytop, 1999). Herbasından hazırlanan dekoksasyonu mide rahatsızlıklarında kullanılmaktadır. Sinirsel uyku bozukluklarına karşı kullanımı da vardır (Blumenthal ve ark., 1998; ESCOP, 1997).

Oğulotu, kalp rahatsızlıklarında ferahlatıcı olarak kullanılmaktadır. Uçucu yağı, kalp çarpıntılarında bir parça şeker üzerine 5 damla damlatılır ve yenir (Başer ve ark., 1986). İnfüzyonu nefes darlığında kullanılmaktadır. Balla karıştırılan herbası öksürük kesici olarak, papatya ile karışım halinde hazırlanan infüzyonu ise midevi olarak kullanılmaktadır (Akalın ve Alpınar, 1994).

Ayrıca melisa yaprağı ve tohumunun alkolik kimseyi içmekten vazgeçirmek için içkinin içine katılması, halk arasındaki kullanımlarından biridir (Tümen ve Sekendiz, 1989). Melisa yaprağının böbrek ve mesane taşlarını düşürücü, iltihapları kurutucu bitki çaylarının bileşiminde de yer aldığı bilinmektedir (Başer ve ark., 1986; Akalın ve Alpınar, 1994).

Melisa yaprağı, ayrıca Acı Mandalina Likörü, Beğendik Likörü, Sarı Likör yapımında da kullanılmaktadır (Başer, 1997).

Kuru veya taze yaprağından hazırlanan infüzyonu ya da yapraklarının kaynatılması ile hazırlanan çayı diş ağrısına karşı kullanılır (Gürsoy ve Gürsoy, 2004).

İnfüzyon (% 2-5), yemeklerden önce veya sonra bir fincan içilir. Bu drogun yatıştırıcı olarak kullanılan en tanınmış şekli "Mürekkkep melisa alkolası"dır. Sinir yatıştırıcı ve hafif mide bozukluklarında başarı ile kullanılan iyi bilinen bir terkiptir. Günde 5-20 g alınır.

M. officinalis L. subsp. *inodora* (Bornm.) Bornm. (Turunca, Turunçotu) yapraklarının kokusuz olması ile tanınır ve infüzyon halinde kalp yetmezliğine karşı kullanılır (Merzifon). Yapraklarında % 0,099 oranında uçucu yağ saptanmıştır (Baytop, 1999).

Ökalyptus yaprağı (*La. Eucalypti camaldulensis folium*)

Sıtma ağacı.

Eucalyptus globulus Labill. ve buna yakın diğer türler (Myrtaceae)'in yaşlı dallarından toplanıp gölgede kurutulmuş yapraklarıdır. Halen dünyanın sıcak ve sulak olan bütün bölgelerinde yetiştirilmektedir. Memleketimizde bu tür yetişmemektedir. Güney Anadolu'da yetiştirilen ağaçlar *E. camaldulensis* Dehnh. türüne ait olup memleketimizde "Adana ökalyptusu" ismiyle tanınmaktadır (Baytop, 1999).

Mersingiller familyasından olan ökalyptusun anayurdu Avustralya'dır. Yetiştirmesi çok kolay olan bu ağacın yüksekliği 60-70 metreyi bulmaktadır (Gökçe ve Karlıkaya, 2002).

15-30 cm uzunluk ve 2-5 cm genişlikte, tam kenarlı, ortak biçiminde, sert, gevrek ve sarımsı yeşil renkli yapraklardır. Kafura benzer kokulu, baharlı ve acımsı lezzetlidir.

Uçucu yağ (% 3-5) tanen, acı madde reçine taşır (Baytop, 1999).

Ökalyptus ağacının yapraklarında sarı renkli, hoş tatta, biraz acımtırak, keskin kokulu, 1,8-sineol (ökalyptol) adı verilen uçucu bir madde vardır. Bu madde ökalyptus yapraklarından elde edilen yağın özünü oluşturmaktadır. Bu yağın hoş kokusu lavantaya benziyorsa da, ondan daha keskin ve farklıdır. Ağza alındığında baharata benzer bir tat verse de, biraz zaman geçince hem acılık hem de burukluk hissedilir. Alınan miktar ne kadar az olursa olsun, merkezi sinir sistemi üzerine etki etmesini engellememektedir (Gökçe ve Karlıkaya, 2002).

Kabız, antiseptik ve balgam söktürücü olarak kullanılır. Şeker hastalığına karşı da tavsiye edilmiştir (Baytop, 1999).

Kökleri yayılarak suyu çok fazla emdiği için ağaç bataklıklarının kurutulmasında yararlıdır. Bu özelliğinden dolayı, sıtmanın yaygın olduğu bölgelerde bataklıklarının kurutulmasında kullanıldığı için bu ağaca "sıtma ağacı" adı da verilmiştir. Soğuk algınlığında nefes açmak için emilen bazı pastillerin bileşiminde mentolün yanı sıra genellikle ökalyptus yağı da bulunmaktadır (Gökçe ve Karlıkaya, 2002).

İnfüzyon (% 2). Bal ile tatlandırılarak günde 2-3 bardak içilir (Baytop, 1999).

Papatya çiçeği (*La. Chamomillae flos*)

Adi papatya, Babunç, Mayıs papatyası, Tıbbi papatya.

Matricaria chamomilla L. (Compositae) türünün gölgede kurutulmuş çiçek durumlarıdır. Bu tür 20-50 cm yükseklikte, çok dallı, yaprakları parçalı, tüysüz, çiçekleri küçük başlar (kapitulum) şeklinde, bir yıllık otsu bir bitkidir. Türkiye'de, yol kenarları ve boş tarlalarda bol miktarda yetişir. Avrupa'nın bazı ülkelerinde ekimi de yapılmaktadır.

Meyvenin tepesinde taç (korona) bulunup bulunmadığına göre birbirinden ayrılan 3 varyetenin Türkiye’de bulunduğu bilinmektedir.

Çiçek durumu 5-10 mm çapında, dil şeklindeki çiçekler beyaz renkli, bir sıra ve 12-20 tane. Tüp şeklindeki çiçekler sarı renkli, çok adette ve kapitulumun ortasında. Çiçek tablası az çok koloni biçiminde, üzeri çıplak ve içi boş (diğer papatyalardan farkı). Kokusu özel ve kuvvetli, tadı acımsıdır.

Uçucu yağ (% 0,2-1), reçine, acı madde ve fenolik bileşikler (flavonlar, kumarin) taşımaktadır. Uçucu yağ içinde kamazulen, terpenik ve seskiterpenik (bisabolol, bisabololoksit, bisabolonoksit gibi) bileşikler bulunmaktadır.

Bu bileşiklerin Anadolu’da yetişen *M. chamomilla* varyetelerinde de bulunduğu gösterilmiştir.

Ege Bölgesi’nde elde edilen materyaldeki uçucu yağ miktarı % 0,75 oranındadır.

Anadolu kökenli bazı materyalin uçucu yağında kamazulen bulunmadığı görülmüştür.

Türkiye kökenli droglar bisabololoksit ve bisabolonoksit yönünden zengindir. Almanya’dan getirilen tohumlar ile İzmir (Bornova) Bölgesi’nde yetiştirilen bitkilerin çiçeklerindeki uçucu yağdaki kamazulen miktarının Almanya’da yetiştirilen bitkilerdekine yakın olduğu saptanmıştır.

Dış pazarlar kamazulen taşımayan drogları satın almamaktadırlar. Bu nedenle, dış ülkelere papatya satışı yapabilmek için, kamazulen miktarı yüksek, çiçek açma süreci kısa ve hastalıklara mukavim türlerin tohumlarının dış ülkelere getirilerek Ege Bölgesi’nde yetiştirilmesi dış satım yönünden yararlı olacaktır.

İdrar çoğaltıcı, iştah açıcı, yatıştırıcı, gaz ve safra söktürücü etkileri bulunmaktadır. Haricen infüzyon boğaz iltihaplarına karşı gargara halinde, iltihaplı yaralara (basur gibi) karşı ise pansuman halinde, ağrı kesici ve yara iyi edici olarak kullanılmaktadır (Baytop, 1999).

Yaprak ve çiçekleri kaynatılarak elde edilen sıvı ile yapılan gargaranın oral enfeksiyonlara iyi geldiğine inanılmaktadır (Gürsoy ve Gürsoy, 2004).

Toz, 1-2 g, günde birkaç defa. İnfüzyon (% 1) sabahları aç karnına bir bardak içilir. Haricen yaralar veya basur memeleri bu infüzyon ile yıkanır ve pansuman yapılır. Basur memelerinde, ağrı kesici ve tedavi edici diğer bir kullanılış şekli şöyledir: Bir oturak içine bir miktar kaynar su konulur, içine iki üç tutam papatya çiçeği atılır ve sıcak iken üzerine oturulur. Bu şekilde sabah ve akşam olmak üzere günde iki defa tekrar edilir (Baytop, 1999).

Yağ Altı Sularının Mikrobiyolojik Analizi

T. C. Sağlık Bakanlığı tarafından 17 Şubat 2005 tarih ve 25730 sayılı Resmî Gazete’de yayımlanarak yürürlüğe giren “İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik’te belirtildiği gibi yağ altı suyunun da içme suları grubuna girdiği esas alınarak, olması gereken parametrik değerlerle karşılaştırılmıştır.

Toplam mezofilik aerobik bakteri

Toplam bakteri sayımı, içme suyunun güvenilirliğini yani sağlığa zararlı olup olmadığını gösterme yönünden büyük önem taşımaya da suya uygulanan işlemlerin etkinliğini göstermede ve dağıtım şebekesindeki suyun temizlik derecesini ölçmede yararlı bir kriterdir. Diğer taraftan doğal olarak yüksek sayıda bakteri içeren sular sağlığa az veya çok zararlı kabul edildiğinden toplam canlı bakteri sayımı suyun kirlilik derecesi hakkında bir fikir vermektedir (Akman, 1961).

Toplam bakteri denildiğinde asıl olarak bir genel katı besiyerinde gelişerek koloni oluşturabilen mezofilik aerobik bakteriler ifade edilmektedir. İnkübasyon parametreleri farklı standartlarda farklı şekilde görülebilmektedir. Örneğin, ABD’de genel olarak 35-37°C ve 24 saat kullanılırken AB ülkelerinde genel olarak 28-30°C ve 24 saat benimsenmektedir. İnkübasyonda başka parametrelere de rastlanmaktadır.

Su ya da gıda örneklerinde toplam bakteri sayısı, genel kalite kriteri olarak değerlendirilmektedir.

Bununla beraber, bu kavram kargaşalığına bağlı olarak, toplam canlı ya da toplam jerm (hücre) ifadesinin de bu grubu tanımlamak için kullanıldığına rastlanmaktadır.

T. C. Sağlık Bakanlığı tarafından 17 Şubat 2005 tarih ve 25730 sayılı Resmî Gazetede yayımlanarak yürürlüğe giren “İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik”, toplam jerm ifadesini kullanmaktadır.

Baskın olarak bulunan bakteriler Standart TTC besiyerinde ürerler. Kolonilerin büyük kısmı TTC indirgemesi nedeni ile kırmızı renklidir (Halkman ve Gürgün, 2000).

Toplam koliform bakteri, fekal koliform bakteri, Escherichia coli

Koliform grubu bakteriler, *Enterobacteriaceae* familyası içinde yer alan, fakültatif anaerob, gram negatif, spor oluşturmayan, 35°C’de 48 saat içinde laktozdan gaz ve asit oluşturan, çubuk şeklindeki bakterilerdir.

Koliform grup mikroorganizmalara pek çok gıda hammaddesinde rastlanmaktadır. Bunların başında; taze sebzeler, taze yumurta, çiğ süt, kanatlı etleri ve koliform bakımından sayıca zengin sulara alınan kabuklu ve diğer su ürünleri gelmektedir.

Gıdalarda koliform mikroorganizmaların bulunması; kötü sanitasyon koşullarının, yetersiz veya yanlış pastörizasyon uygulamalarının, pişirme ve pastörizasyon sonrası tekrar bulaşma olduğunun bir göstergesi olarak kabul edilmektedir.

Koliform grubu mikroorganizmaların hepsi dışkı kökenli değildir. Bu grupta bulunan bakterilerden normal florası insanların ve sıcakkanlı hayvanların alt sindirim sistemleri olanlar “fekal koliform” olarak tanımlanmakta ve bunlar fekal kontaminasyonun bir göstergesi olarak kabul edilmektedirler. Koliform grup içinde fekal koliform olarak tanımlanan bakterilerin büyük çoğunluğunun *E. coli* olduğu bilinmektedir. Grubun diğer üyeleri toprak ve bitki kökenli olabilmektedirler. Herhangi bir örnekte *E. coli*’ye ve/veya fekal koliform bakterilere rastlanması oraya doğrudan ya da dolaylı olarak dışkı bulaştığının ve

yine bağırsak kökenli *Salmonella* ve *Shigella* gibi primer patojenlerin de olabileceğinin bir göstergesidir (Halkman ve Gürgün, 2000).

E.coli insan ve hayvanların kalın bağırsağında, dolayısıyla dışkısında daima bulunan, patojen bağırsak bakterileri olarak da bilinen *Salmonella* ve *Shigella* cinslerinden ayrımda en çok laktozu fermente özelliğinden yararlanılan, diğer koliform (sitratta ürememesi ile ayrılan, hareketli, sporsuz, gram negatif çomak şeklinde) bakteridir (http-1). *E. coli* fekal kontaminasyonun bir göstergesi olması yanında genetik yapısı en iyi bilinen canlı olma özelliğine de sahiptir (Chaslus ve ark., 1980).

Fekal kirlenmenin değerlendirilmesinde *E. coli*, *Streptococcus feacalis*, *Clostridium perfringens* ve fekal koliform fajları gibi organizmalar gösterge olarak kullanılmasına rağmen genelde indikatör organizma olarak *E. coli*'dir. Mikrobiyolojik kirleticiler suda bulunabilecek diğer kirleticilerle kıyaslanmayacak derecede büyük ve yaygın tehdit oluşturabilmektedirler. Bunların varlığı suya hammaddeden başlayıp suyun taşınmasına kadar bir ya da daha fazla aşamada doğrudan ya da dolaylı olarak lağım ile dışkı bulaştığının göstergesidir (Dinçer ve ark., 2001).

Bu nedenle hiçbir gıda maddesinde, içme ve kullanma sularında, denizlerde ve göllerde *E.coli* ve fekal koliform bulunmasına izin verilmezken, bazı gıdalarda belirli sayıda koliform bakteri bulunmasına izin verilebilmektedir.

Standart *E. coli* olarak bilinen bakteri genellikle zararsız hatta vücutta B vitamini sentezine katıldığı için yararlı olarak tanımlanmaktadır. Bunun dışında başka *E. coli* serotiplerinin de özellikle ishale yol açtığı bilinmektedir. Bunlar genel olarak DEC (Diyarejenik *E. coli*) olarak tanımlanırlar. Suşların birçoğu zararsız olan bu bakterinin bazı patojenik tipleri, insan ve hayvanlarda sonucu ölüme kadar giden ishallere, yara enfeksiyonlarına, menenjit, sepsis, arteriosklerosis, hemolitik üremik sendrom, çeşitli immünolojik hastalıklar vb. gibi hastalıklara sebep olabilmektedir (Özaslan, 2009).

Bu yönetmelik koliform grup bakteriler ve *E. coli*'nin "Endo" besiyerinde analizini göstermektedir.

T. C. Sağlık Bakanlığı tarafından 17 Şubat 2005 tarih ve 25730 sayılı Resmî Gazetede yayımlanarak yürürlüğe giren "İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik", koliform grup ve *E. coli*'nin membran filtrasyon tekniği ile analizini hükme bağlamıştır.

E. coli metalik parlaklık veren ve membranın altında kırmızı beneklere sahip olan kırmızı renkli, diğer koliformlar metalik parlaklığa sahip olmayan ve koyu kırmızıdan açık kırmızıya kadar değişen renklerde koloniler oluştururlar. Renksiz koloni oluşturan laktoz negatif bakteriler sayılmazlar (Halkman ve Gürgün, 2000).

Enterokok grubu bakteriler

Hemen her zaman, her yerde bulunabilen mikroorganizmalardır. Süt ürünlerinde ve diğer gıdalarda da yüksek oranlarda bulunabilen bu bakterilerin, bakteriyosin üretimi, probiyotik karakteri süt endüstrisinde kullanılabilirlikleri gibi önemli biyoteknolojik özellikleri olduğu halde, onların gıda kaynaklı patojenler olarak görülüp görülmeyeceği üzerine fikir birliği yoktur. Ancak son yayınlar *E.*

faecalis'in ve diğer laktik asit bakterilerinden bazı türlerinin klinik enfeksiyonlara, özellikle de endokartitis oluşumuna katıldıkları belirtilmektedir.

E. faecalis insan ve hayvan dışkıında bulunan fekal orijinli bir türdür. Ancak bu bakterilere insan ve memeli hayvanların dışkısı dışında toprak, su, bitki ve böcek gibi birçok çevrede de rastlanmaktadır. Bu nedenle gıdalarda enterokokların bulunması, gıdanın dışkı ile doğrudan kontamine olduğu ve *Salmonella* ile *Listeria* gibi diğer enterik patojenlerin de bu gıda maddelerinde bulunabileceği anlamına gelmez. *E. faecalis*'in bazı türlerinin bitkilerde de yaygın olarak bulunması bu bakterilerin sanitasyon indikatörü olarak değerini büyük ölçüde azaltmaktadır.

Enterokoklar gram pozitif, birkaç istisna dışında hareketsiz, aerobik veya fakültatif anaerob, katalaz negatif (oksijen varlığında gelişen ve pseudokatalaz üreten bazı türler hariç), oval kok formunda, genellikle diplokok veya kısa zincir görünümündedirler. Gram negatif bakterilere kıyasla, beslenme gereksinimleri daha seçicidirler. Geliştirildikleri besiyerinde daha fazla üreme faktörüne gereksinim duymaları açısından da diğer pek çok gram pozitif bakteriden ayrılırlar. Örneğin, gelişebilmeleri için B vitaminleri ve bazı temel aminoasitler açısından pek çok gram pozitif bakteriden çok daha fazla oranda besin maddesine ihtiyaç duyarlar. Belirli türlerin üreme faktörü olarak bazı spesifik aminoasitlere gereksinim duymalarından dolayı bu spesifik aminoasitlerin nicel olarak belirlenmesinde test organizması olarak kullanılmaktadır.

Enterokokların en önemli özelliği, gram pozitif bakteri enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan birçok antimikrobiyal ajana karşı kısmi veya tam direnç göstermeleridir (Ersoy ve ark., 2005).

Enterokoklar insan dışkısında genellikle *E. coli*'den daha az sayıda bulunur ve suda iyi üreyemezler. Diğer taraftan suda koliformlardan daha uzun süre canlılıklarını koruyabilmektedirler. Bu özellikler, enterokokların sular için fekal kontaminasyon indikatörü olarak değerini belirli ölçüde de olsa arttırmıştır. Ancak daha doğru sonuç elde edebilmek için klasik enterokokların koliform bakteri veya toplam bakteri sayısı ile birlikte verilmesinin uygun olacağı tartışılmaktadır.

Enterokoklar fenotipik olarak heterojen organizmalardır. Pek çok yararlı özellikleri taşıırken potansiyel patojenik özellikler de sergileyebilirler. Bu mikroorganizmalar doğal süt starter kültürlerinde yararlı rol oynarlarken, diğer taraftan da bazı süt ürünlerinde enterokokların fekal orijinli olanları hakkında kuvvetli bir soru işareti vardır (Halkman ve Gürgün, 2000).

Genellikle immun sistemi zayıflamış kişilerin endojen florasından kaynaklanan intraabdominal veya pelvik enfeksiyonlar, cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları, endokardit, üriner sistem enfeksiyonları, menenjit, bakteriyemi veya neonatal sepsis gibi çeşitli enfeksiyonlara sebep olabilmektedirler (Ersoy ve ark., 2005).

Enterokoklar, pembe, kırmızıdan kırmızımsı kahverengine değişen renklerde ve 0,5-2,0 mm (genellikle yaklaşık 1 mm) çapında ve düzgün kenarlı koloniler oluştururlar. Dehidre besiyeri rengindeki değişiklikler, hedef mikroorganizmanın gelişimini ve sayısını etkilemez (Halkman ve Gürgün, 2000).

Patojen stafilokok grubu bakteriler

Micrococcaceae familyası üyesi olan *Staphylococcus* türleri gram pozitif, 0,5-1,5 µm çapında kok şeklinde, spor oluşturmayan, hareketsiz, katalaz pozitif, fakültatif anaerob bakterilerdir. Bu cins içinde 28 tür ve 32 alt tür bulunmaktadır. Grubun en önemli üyesi koagülaz pozitif ve termostabil nükleaz (termonükleaz) pozitif bir bakteri olan *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) dur. *S. aureus* başta ısı işlem olmak üzere mikroorganizmaların indirgenmesine yönelik tüm uygulamalara karşı yüksek bir duyarlık göstermesine rağmen, insanlarda hastalığa neden olan ve yüksek derecede ısı stabilitesi gösteren protein yapısında 5 tip toksin üretir.

S. aureus'un da dahil olduğu pek çok stafilokok türü insanların ve hayvanların doğal florası olarak kabul edilmektedir. Bir diğer deyiş ile bu bakterilerin doğal habitatları arasında insan ve hayvanlar da önemli bir yer tutar. Gıda zehirlenmelerine neden olan *S. aureus*'un gıdaya bulaşmasındaki en önemli etkenin insan olduğu saptanmıştır. İnsanlar taşıyıcı olarak bu bakteriyi diğer insan ve gıdalara bulaştırırlar. Benzer şekilde bakterinin hava, toz, lağım ve sudan kolaylıkla izole edilebilmesi gıdaların kontaminasyonu için çok sayıda kaynağın bulunduğunu göstermektedir.

S. aureus'un bazı özel direnç mekanizmaları gıdalarda bulunmasını ve gelişmesini sağlamaktadır. Spor oluşturmadığı halde vücut dışında canlılığını uzun süre koruyabilen tek insan patojenidir. Ağır metallere, klinik mikrobiyolojide kullanılan pek çok antimikrobiyale karşı genetik olarak kazanılmış bir direnç sistemine sahiptir. Bununla beraber tuz dışında gıda koruyucularına direnci yoktur (Halkman ve Gürgün, 2000).

Koagülaz pozitif stafilokoklar insanlarda hem toplum kökenli hem de hastane enfeksiyonlarına yol açabilen, enfeksiyonları hemen tüm hekimleri ilgilendiren mikroorganizmalardır. *S. aureus*'un hastalık yapmada rolü olan pek çok enzim ve toksini vardır. Bazı toksinleri tipik hastalık tablolarına yol açar (Haşlanmış deri sendromu, toksik şok sendromu, besin zehirlenmeleri gibi).

T. C. Sağlık Bakanlığı tarafından 17 Şubat 2005 tarih ve 25730 sayılı Resmî Gazetede yayımlanarak yürürlüğe giren “İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik”, kaynak sularının 100 mL'sinde patojen *Staphylococcus* türlerinin bulunmamasını hükme bağlamıştır. Ek'de verilmektedir.

S. aureus, sarı bir bölge ile çevrelenmiş altın sarısı ile turuncu arası (mannitol pozitif), *Staphylococcus epidermidis* ise beyazımsı koloniler oluşturur (Halkman ve Gürgün, 2000).

Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonaceae familyası içinde yer alan ve fırsatçı türleri de içerebilen *Pseudomonas* cinsi bakteriler gram negatif, hafif veya düz kıvrımlı çubuklar şeklinde bakteriler olup, polar flagella ile hareket ederler ve son elektron alıcısı oksijen olan, zorunlu aseptoturlar. Oksidaz ve katalaz pozitif olan bu bakteriler fluoresans ve fluoresans olmayan çeşitli pigmentler üretirler. Birçoğu doğada, toprakta ve sulara yaygın bulunan *Pseudomonas* türlerinin bazıları bitkiler veya hayvanlar için patojendirler. *Pseudomonas*lar ısıya dirençli değildir, 55°C'de bir saat ısı uygulanması büyük bir kısmını tahrip eder. Penisilline karşı dirençlidirler (Nickerson ve Sinskey, 1977).

Sporsuz, kapsülsüz çomakçıklardır. Çoğu kez bir uçlarında bir veya nadiren iki veya üç adet kirpiği vardır ve çok hareketlidirler. Gram negatif, 1,5-3 µm uzunluğunda ve 0,5 µm genişliğinde, çiftli veya kısa zincirler halinde görülen bakterilerdir. Genellikle 30-37°C'de ürer. 41°C'de üremesi *P. florescens*'den ayrılmasını sağlar.

Doğada yaygın olarak bulunabilen bir bakteri olduğu için, organik maddeler içinde, sularda uzun süre canlı kalabilirler. İnsan ve memeli hayvanların bağırsağında flora elemanı olarak bulunur. Yüksek ısı ve kuruluğa dirençsizdirler. Hastane ortamları organik madde (kan, irin, deri döküntüleri) yönünden zengin olduğu için ve direnç gösteren kökenlerin bu ortamlarda daha fazla oluşması nedeniyle sık rastlanılan bir patojen olarak görülür (http-2).

Pseudomonas'lar cinsi psikrofil türlerde içermesi nedeniyle buzdolabında saklanan ürünlerin bozulmasına neden olmaktadır. *Pseudomonas*'ların bazıları 0°C'ye yakın sıcaklıklarda, bazıları ise 0°C'nin altındaki sıcaklıklarda gelişmektedirler. *Pseudomonas* türleri soğukta saklanan gıdalarda bozulmaya neden olabilen organizmalardır. Özellikle süt, tavuk, balık, et ve sebzenin bozulmasından sorumludurlar (Banwart, 1989).

Pseudomonas aeruginosa (*P. aeruginosa*)nın proteolitik enzim, letal ekzotoksin ve enterotoksin özellikli hücre dışı salgılarının olması ve fırsatçı patojen özelliğinin bulunması çeşitli hastalıkların oluşmasına neden olur. *Pseudomonas*'lar; idrar yolu, göz, dış kulak, orta kulak, yanık ve yara enfeksiyonları, menenjit, bronşit ve bronkopnömoni, sepsisemi, osteomyelit, psödomembranöz kolit gibi hastalıklardan izole edilebilirler (http-2).

P. aeruginosa sağlıklı kişilerde nadiren hastalığa neden olur. Ancak hastalık normal konak immünitesinin değişmesiyle başlar. Özellikle deri ve mukoza bütünlüğünün bozulması, damar içi, üriner kateter varlığında, nötropeni, hipogamaglobulinemi, kompleman eksikliği gibi bağışıklık sisteminin baskılandığı durumlarda enfeksiyon meydana gelir.

P.aeruginosa'nın yol açtığı enfeksiyonlar genel olarak, solunum sistemi enfeksiyonları, endokardit, bakteriyemi, merkezi sinir sistemi enfeksiyonları, kemik ve eklem enfeksiyonları, gastrointestinal enfeksiyonlar, deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarıdır (http-1).

P. aeruginosa 1-2 mm çapında mavi ve mavi zonlu koloniler oluşturur. Koloni rengi bazen mavimsi yeşil, sarımsı yeşil ya da renksiz olabilir. Koloniler piyosiyenin ve flürosein pigmentleri üretirler ve UV ışığı altında floresan verirler. Diğer *Pseudomonas* türleri farklı renkte koloniler oluştururlar.

Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon

Çözücü ekstraksiyonu, bir maddenin bir çözücünden diğerine aktarılmasını esas alan bir ayırma yöntemidir. Birbiri ile temas eden bu iki çözücü karışmaz. Bu teknik hızlı, kolay ve kullanışlı olduğundan çok tercih edilmektedir. Ayırım tam olarak gerçekleşir. Çünkü iki sıvı faz arasındaki relative olarak küçük ara yüzey alanı, çöktürerek yapılan ayırımların birçoğunu zorlaştıran ve istenmeyen önceden çökme olayına benzer herhangi bir etkiye meydan vermez. İşlem için sadece bir ayırma hunisinin kullanılması birçok durumda yeterlidir. Genellikle ekstraksiyon adımını gerçekleştirmek için sadece birkaç dakikaya ihtiyaç vardır. İşlemler eser

veya yoğun şekilde çözünmüş maddeler için kullanılabilir. Çok hassas organik veya biyokimyasal maddeler ekstraksiyon işlemleri ile ayrılabilirler. Diğer ayırım işlemlerinde mevcut olan dekompozisyon gibi maddenin yapısına zarar veren durumlar söz konusu değildir (Freiser, 1973).

Sıvı-sıvı ekstraksiyonu değerli bir bileşiğin elde edilmesi için kullanılabileceği gibi, bir hammaddeden istenmeyen bileşiklerin uzaklaştırılması için de gıda endüstrisinde uygulama bulmaktadır.

Küçük ölçekte işlemlere gereksinim duyulmasına rağmen kokuların ve aromaların ekstraksiyonu her zaman büyük ilgi ile karşılanmıştır ve çok sayıda uygulama bilinmektedir. Alkollü çözücüler yaygın olarak kullanılırlar, ayrıca etilen klorür de kullanılmaktadır. Bu çözücü su ile heterojen azeotrop oluşturmamasından dolayı bir avantaj sağlar ve bu şekilde çözücünün kazanılması kolaylaşır. Limon ve portakal uçucu yağları gibi narenciye yağları, gıda endüstrisi için tat bakımından önemli kaynaklardır. Bu yağlar yüksek oranlarda terpen ve seskiterpen gibi hidrokarbonları içerirler (Limon yağında % 90'dan, portakal yağında % 95'den fazla limonen vardır). Bir oksijenli bileşik olan sitral % 4-5 oranında bulunur. Yağ bir gıda katkı maddesi olarak özellikle meşrubatlarda kullanılmadan önce, çözünürlük ve stabilite kriterlerini etkileyen hidrokarbonların uygun seviyelere düşürülmesi gerekir. Bu amaçla kullanılabilecek metotlardan biri de sıvı ekstraksiyonudur. Tek bir çözücü veya polar-apolar çözücü çifti kullanılabilir. Genellikle alifatik bir alkol olan tek bir çözücünün kullanılması büyük miktarda çözücüye ihtiyaç varsa uygundur.

Kimyasal proses endüstrilerinde bir ekstraksiyon işlemi için çözücü seçimi, çözücü kapasitesi, seçicilik ve geri kazanım maliyeti gibi hususlara bağlıdır. Her ne kadar gıda endüstrisinin bu kriterlerin tümünü dikkate alması gerekse de bir çözücünün kullanılması ile meydana gelen toksikolojik tehlikelere de değer biçmesi gerekmektedir. Ayrıca yüksek kaynama noktasına sahip çözücülerin geri kazanılması esnasında oluşan yüksek sıcaklık nedeni ile ürüne verilebilecek zararlar da düşünülmelidir. Çalışılan mekandaki zararlı çözücü buharlarına maruz kalmaktan doğacak problemler tüm proses endüstrilerinde önemli bir sorundur.

Kanserojen olmaları nedeni ile bazı çözücülerin toksikolojik testlerine olan ilgi artış göstermiştir. Bu çözücülerin gıda maddelerinin işlenmesinde kullanımı kontrol altına alınmıştır. Çok sayıda kısa zincirli hidrokarbon (C_5-C_8) sıvı ekstraksiyonunda kullanılmaktadır.

Kullanımı uygun görülen bir çözücü, ekstraksiyonda kullanıldıktan sonra izin verilen çözücü artığı seviyeleri otoriteler tarafından belirlenmektedir. Bu miktarların etkisi çözücülerin uzaklaştırılması esnasında herhangi bir soruna neden olmayan çözücüler daha çok tercih edilmektedir. Her ne kadar düşük molekül ağırlığına sahip alkoller bu kategoride yer alıyorsa da bunları kullanırken istenmeyen esterleşme reaksiyonlarının oluşumunu önlemek için dikkatli olmak gerekir. Sulu alkol bu amaca hizmet eder (Hamm, 1983).

GEREÇLER

Bu bölümde çalışmalarımızda kullanılan yağ altı su numuneleri, kimyasal maddeler ve aletler açıklanmakta ve yapılan deneysel çalışmalar hakkında bilgi verilmektedir. Deneysel çalışmaların bir kısmı Anadolu Üniversitesi Farmakognozi Laboratuvarı, bir kısmı ise Eskişehir Büyükşehir Belediyesi ESKİ Genel Müdürlüğü Merkez Laboratuvarı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Kullanılan Maddeler

Kullanılan yağ altı su numuneleri

Kullanılan su numunelerinin temin edildiği yer ve tarih **Çizelge 1**'de verilmiştir.

Çizelge 1. Kullanılan Su Numunelerinin Temin Edildiği Yer ve Tarih

Drog	Marka	Temin Edildiği Yer	Tarih
Gül Suyu	4 adet	Aktar-Eskişehir, Eczane-Esk.	Ağustos 2008
Hayıt Suyu	1 adet	Aktar-Eskişehir	Ağustos 2008
Karabaş Otu Suyu	2 adet	Aktar-Eskişehir	Ağustos 2008
Kekik Suyu	3 adet	Aktar-Eskişehir	Ağustos 2008
Melisa Suyu	1 adet	Aktar-Eskişehir	Ağustos 2008
Ökalyptus Suyu	1 adet	Aktar-Eskişehir	Ağustos 2008
Papatya Suyu	1 adet	Aktar-Eskişehir	Ağustos 2008

Kullanılan kimyasal maddeler, çözücüler ve besiyerleri

Deneylerin tamamında Merck kalite çözücüler ve kimyasal maddeler kullanılmıştır. Mikrobiyolojik analizler için kullanılan besiyerleri **Çizelge 2**'de verilmiştir.

Çizelge 2. Kullanılan Besiyerlerinin İsimleri ve Bileşimleri

Bakteri Adı	Besiyeri Adı	Bileşimi
Toplam Koliform Bakteri	Endo NKS/NPS (Sartorius 14053)	Lactose, Peptone, Yeast Extract, Sodium lauryl sulfate, Sodium chloride, Fuchsine, Potassium diphosphate, Potassium monophosphate, Sodium desoxycholate, Sodium sülfite
<i>E.coli</i>	Endo NKS/NPS (Sartorius 14053)	
Fekal Koliform Bakteri	Endo NKS/NPS (Sartorius 14053)	

Çizelge 2. (Devam) Kullanılan Besiyerlerinin İsimleri ve Bileşimleri

Bakteri Adı	Besiyeri Adı	Bileşimi
Patojen Stafilokok Grubu Bakteriler	Chapman NKS/NPS (Sartorius 14074)	D-Mannitol, Meat Extract, Peptone, Sodium chloride, Phenol red
Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri	Standard TTC NKS/NPS (Sartorius 14085)	Dextrose/Dextrin, Peptone, Yeast extract ve TTC (%1)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Cetrimide NKS/NPS (Sartorius 14075)	Glycerol, Magnesium chloride, Peptone, Potassium sulfate, Cetrimide, Nalidixic acid
Enterokok Grubu Bakteriler	Azide NKS/NPS (Sartorius 14051)	Dextrose/Dextrin, Potassium diphosphate, Peptone, Yeast extract, Sodium azide, TTC (%1)

*Formül literatürde yaygın şekilde tanımlanan bileşenlere göre verilmiştir

Kullanılan Cihazlar

- Laminar hava kabini, (Nüve)
- Bakteriyolojik etüv, (Nüve)
- Soğutmalı İnkübatör, (Nüve)
- Gaz Kromatografisi, (Agilent 6890N GC)
- Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi, (Agilent 5975 GC-MSD)
- Rotavapor, (Heidolph)

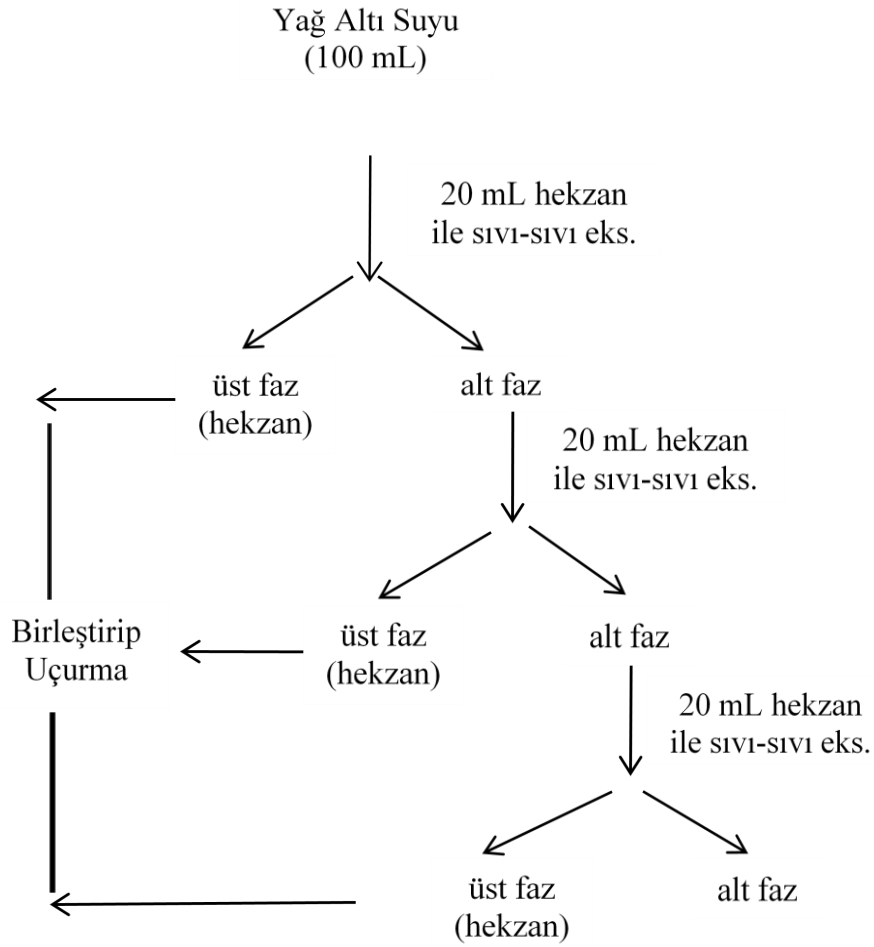
YÖNTEMLER

Yağ Altı Sularının Uçucu Bileşiklerinin Tayini

Bu bölümde piyasada bulunan yağ altı suları üzerinde yapılan analizlere ait bilgiler verilmiştir. Gül suyu, hayıt suyu, karabaş suyu, kekik suyu, melisa suyu, ökaliptus suyu ve papatya suyu olmak üzere 7 adet aromatik suyun sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile elde edilen numunelerin GK ve GK/KS analizleri ve mikrobiyolojik analizleri yapılmıştır.

Sıvı-sıvı ekstraksiyonu

Yağ altı suyunda bulunan uçucu bileşiklerin tespiti ve miktarının belirlenebilmesi için sıvı-sıvı ekstraksiyonu yapılmıştır. Ekstraksiyonda *n*-hekzan kullanılmıştır. Sıvı-sıvı ekstraksiyonun şeması **Şekil 1**'de verilmiştir.



Şekil 1. Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu Şeması

Tek çözücü olarak kullanılan hekzan için Yağ Altı Suyu : Çözücü Oranı 5:1 olacak şekilde seçildi (Guenther, 1948; Gallori ve ark., 2001). Yağ altı suları süzülmedi ancak ayırma hunisinde dinlendirildikten sonra alttaki su fazı alınarak çalışma materyali olarak kullanıldı. 100 mL su fazı ayrılarak 250 mL'lik ayırma hunisine aktarıldı. Üzerine kısımlar halinde çözücü ilave edilerek sıvı-sıvı

ekstraksiyonu yapıldı. Çözücü 5:1 oranı için 20+20+10 olacak şekilde kısımlar halinde kullanıldı.

Ekstraksiyon işlemleri sonucunda elde edilen ekstreler susuz sodyum sülfat (Merck) tan süzülerek armudi balona aktarıldı ve rotavapor balonu kullanılarak 40°C’de uzaklaştırıldı. Balonda kalan ekstre az miktarda hekzan ile alınarak küçük kahverengi şişeye aktarıldı. N₂ gazı ile çözücü uzaklaştırıldı (Boydağ, 2004).

Sıvı-sıvı ekstraksiyonu sonunda elde edilen hekzan ekstreleri analiz için GK/KS’a enjekte edildi.

Gaz kromatografisi / kütle spektroskopisi

Hekzan ekstreleri içindeki uçucu bileşikler gaz kromatografisi kolonunda ayrılıp, iyonlaştırıldıktan sonra her birinin tek tek kütle spektrumları alındı. Değerlendirmeler, “BAŞER Uçucu Yağ Bileşenleri Kütüphanesi” kullanılarak yapıldı.

Gaz kromatografisi (GK) analiz koşulları

Yağ altı sularından elde edilmiş olan ekstreler gaz kromatografisine uygulanarak tutunma sürelerine göre ayrılmış ve relatif oranlara göre değerlendirilmiştir. Gaz Kromatografisi analiz koşulları aşağıda verilmiştir:

Sistem	: Agilent 6890N GC
Kolon	: Innowax Silika kapiler kolon (60 m x 0.25 mm i.d. x film kalınlığı, 0.25 µm)
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 koşulları

Yağ altı sularından elde edilen ekstreler gaz kromatografisi kolonunda ayrılıp iyonlaştırıldıktan sonra her birinin tek tek spektrumları alınmıştır. Değerlendirme işlemleri “BAŞER Uçucu Yağ Bileşenleri Kütüphanesi” kullanılarak yapılmıştır. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi analiz koşulları aşağıda verilmiştir:

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	: 250°C
Taşıyıcı gaz	: Helyum (1 ml/dak)

Split oranı	: 40:1
Elektron enerjisi	: 70 eV
Kütle Aralığı	: m/z 35-450
Kütüphane	: Başer Uçucu Yağ Bileşenleri Kütüphanesi, Wiley ve Adams - LIBR (TP) Kütüphane tarama Yazılımları

Yağ Altı Sularının Mikrobiyolojik Analizi

Membran filtrasyon yöntemi

Hem toplam bakteri sayısının hem de canlı bakteri sayısının belirlenmesine uygundur. Belli hacimdeki bir bakteri süspansiyonunun, alanı belli bir filtre yüzeyinden süzülmesi, bu yöntemin prensibini oluşturur. Bu mikroorganizmaların sayısı, filtre yüzeyinin doğrudan mikroskopla incelenmesiyle belirlenebileceği gibi (toplam mikroorganizma sayımı), filtrenin uygun bir besiyeri yüzeyine konulup inkübasyonundan sonra oluşan kolonilerin sayımı ile de belirlenebilir (gelişme yeteneğinde olan canlı mikroorganizmaların sayımı).

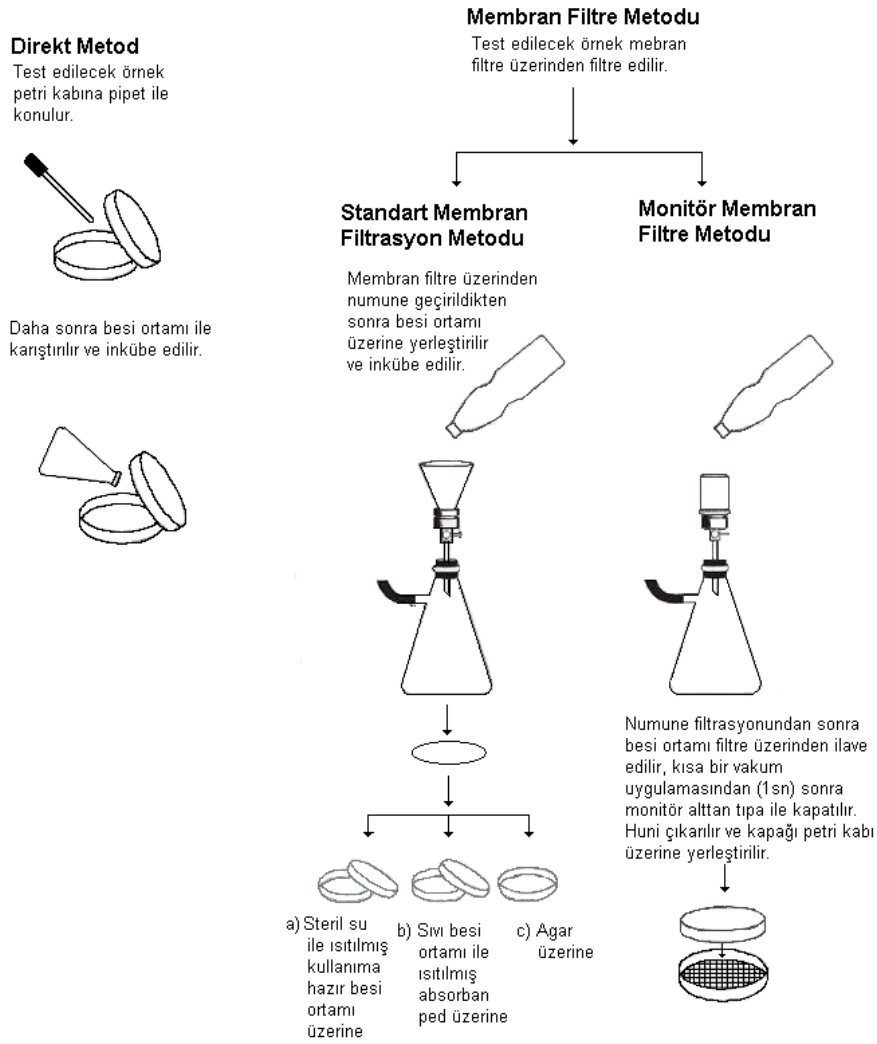
Filtre yüzeyindeki mikroorganizmaların doğrudan sayımında, aynı Thoma lamı ile sayımda olduğu gibi, uygun sayıdaki mikroorganizma popülasyonunun filtre yüzeyine homojen bir şekilde dağılması önemlidir. Direk sayım yöntemi sırasında filtre yüzeyindeki bakteri yoğunluğunun, her bir mm^2 için 1.000-3.000 hücre arasında olması uygundur. Eğer filtre edilecek sıvının bakteri yoğunluğu çok daha fazla ise, materyal önce steril su ile seyreltilmelidir.

Su analizleri için, filtre çapı 50 mm, etkili filtrasyon alanı 12 cm^2 ve gözenek büyüklüğü 0,3-0,6 μm olan filtreler uygundur. Bu amaçla Sartorius ve Millipore firmalarının ürettiği filtreler kullanılabilir (Halkman ve Gürgün, 1990).

Bu kolay, ucuz ve oldukça hızlı olduğundan su ve hava gibi ortamlarda bulunan bakterilerin sayımında ekseri mikrobiyoloji laboratuvarlarında uygulanan bir tekniktir. Burada milipor filtre kullanılır. Bu filtrelerin piyasada birçok çeşitleri vardır. Bunlar esas itibarıyla por büyüklüklerine göre derecelendirilir. "Millipore Filter Corporation" tarafından yapılan milipor filtrelerin porları 10 nm (nanometre)'den 8 μ (mikron) a kadar değişir. Bu firmanın yaptığı filtrelerin yapısını saf ve biyolojik yönden herhangi bir etkisi olmayan selüloz esterleri oluşturur (Öner, 2001).

Özellikle su analizlerinde mikrobiyolojik yaklaşım ve yasal bir yükümlük olarak membran filtrasyon sistemi kullanılmaktadır.

Membran filtrasyon sistemi; paslanmaz çelikten yapılmış vakum filtre tutucusu (tercihe göre tekli, üçlü veya altılı ve yine tercihe göre 100 veya 500 mL huni kapasiteli olmak üzere), vakum pompası, vakum hortumu, hava filtresi, vakum erleni, dozajlama şırıngası, şırınga ucu filtre, paslanmaz çelik pens, besiyeri ve membran filtrelerden oluşmaktadır.



Şekil 2. Membran Filtre Metodu

Membran filtrasyon çalışma prensibi

Filtrasyon, sıvı veya gaz içerisindeki istenmeyen partiküllerin bir ayırıcı (seperatör) kullanılarak tutulması işlemidir.

Tamamen fiziksel bir işlem olan filtrasyon ile partikül ve mikroorganizmalar, uygun filtre kullanılarak filtrenin yüzeyinde veya derinliğinde tutulurlar.

Membran filtrasyonun prensibi kısaca, analizi yapılacak numunenin, içerdiği mikroorganizmanın büyüklüğünden daha küçük gözeneklere sahip membran filtre üzerinden vakum desteği ile süzülmesidir. **Şekil 2**'de görülebilmektedir. Böylece numunenin içerdiği bütün mikroorganizmalar membran filtre üzerinde tutulmuş olur. Numune içerisinde bulunan tüm mikroorganizmaları üzerinde tutmuş olan filtre, uygun besiyeri üzerine arada hava kabarcığı kalmayacak şekilde yerleştirilerek, uygun sıcaklıktaki inkübatöre, filtre kısmı yukarıda kalacak şekilde yerleştirilir. Gerekli inkübasyon işleminin sonunda petri kutusu inkübatörden alınarak oluşan koloniler besiyeri çeşidine bağlı olarak sayılır.



Çoklu filtre düzeneği kullanılıyorsa, bütün vakum muslukları kapalı olmalıdır. Laboratuvar tezgâhı uygun bir dezenfektan ile silinir (% 75'lik etil alkol iyi bir dezenfektandır).

Havadan gelebilecek mikroorganizmaya karşı bunzen beki alevi yakılır. Bunzen beklerinin doğal gaz, LPG için farklı çeşitleri de mevcuttur.



Besiyerinin ambalajı, dezenfektan ile silinmiş bir makasla kesilerek kullanıma hazır besiyeri içeren petri kutuları çıkarılır. Kullanılmayacak (fazla) besiyerleri kendi ambalajında, nemsiz bir oda ortamında ve oda sıcaklığında son kullanma tarihine kadar saklanabilir.

Dozaj şırıngası 3,0-3,5 mL'ye ayarlanarak hortumu, steril su içine daldırılır. İnkübasyon sonunda petri kutusu üzerinde aşırı su damlaları oluyorsa bir dahaki sefere 3,0 mL ile ıslatma uygulanmalıdır.



Şırınga ucuna takılabilen steril paketteki 0,2 µ membran filtre dozaj şırıngasının ucuna el değdirmeden takılır. Bu işleme başlamadan önce ellerin dezenfektan ile temizlenmesi önerilir.

Kuru besiyeri, daha önce ayarlanmış dozaj şırıngasıyla 3,0-3.5 mL steril su ile ıslatılır. Dozaj şırıngası yoksa; steril su, steril bir pipet kullanılarak 3,0-3,5 mL olacak şekilde kurutulmuş besiyeri üzerine aktarılabilir.



Filtre desteği, bek alevinden geçirilerek sterilize edilir. Aşırı ısıtmadan kaçınılmalıdır.

Huni kapağı alevden geçirilerek kapatılır. Bu aşamada da aşırı ısıtmanın kapaktaki contaya zarar verebileceği unutulmamalıdır.



Filtre hunisinin alt kısmı bek alevinden geçirilir ve yerine oturtulur. İstenirse, temiz bir kâğıda sarılarak sistem komple olarak otoklavda da sterilize edilebilir.

Filtre tutucusu kapağı açılarak tekrar alevden geçirilir. Aşırı ısıtma, paslanmaz gövde üzerinde lekeler yol açar. Ayrıca sudaki mikroorganizmalara da ilk temas sırasında zarar verebilir.



Steril paketlerdeki membran filtre el ile temas etmeyecek şekilde açılır. Hijyene önemli olduğu için işlem bunzen beki alevi yanında yapılmalıdır.

Paslanmaz çelik pens bek alevinden geçirilir. İstenirse %75'lik alkolde 1-2 dakika tutularak da sterilize edilebilir. Bu koşulda pens üzerinde kalan alkol, bunzen bekenden hafifçe geçirilir ve yanarak uzaklaşması sağlanır.



Filtre üzerindeki koruyucu tabaka ile birlikte alevden geçirilmiş pens ile tutularak filtre destek kısmına yerleştirilir. Bu işlemden önce, destek kısmının 1-2 mL steril damıtık su ile ıslatılmış olması gerekir.

Filtre yerleştirildikten sonra üzerindeki sarı koruyucu tabaka alınır. Desteğin önceden ıslatılmış olması koşulunda birkaç saniye içinde sarı koruyucu tabaka kendiliğinden ayrılır.



Huni tekrar yerine yerleştirilir ve kapağı yarım açılarak numune içerisine konulur. Numune kabının ağzı, materyalin özelliğine göre dezenfektan bir madde ile silinmeli ya da alevden geçirilmelidir. Dezenfektan kullanılırsa, dezenfektanın su

ile karışmaması sağlanmalıdır. Alev ile sterilizasyonda aşırı ısıtmadan kaçınılmalıdır.

Vakum pompası çalıştırılarak, vakum musluğu açılır ve numune filtre edilir. Bu sırada diğer muslukların kapalı olmasına dikkat edilmelidir. Aksi halde yeterli bir süzme sağlanamaz.



Filtrasyon işlemi tamamlandıktan sonra vakum musluğu kapatılır. Sonra vakum pompası durdurulur.

Paslanmaz çelik pens tekrar alevden geçirilerek sterilize edilir.



Filtre bek alevinden geçirilmiş pens ile alınır. Paslanmaz çelik pens, bunzen beki alevinde sterilize edildi ise, aşırı sıcak pensin filtreye ve mikroorganizmalara zarar vereceği unutulmamalıdır.

Filtre daha önce steril su ile ıslatılmış olan besi ortamı üzerine yerleştirilir. Bu aşamada filtrenin, mikroorganizmaların tutunmuş olduğu yüzeyinin üste gelmesine dikkat edilmelidir.



Besiyerleri etüve tabanları üzerine yerleştirilir. Hedef mikroorganizmanın inkübasyon parametrelerine (sıcaklık ve süre) uyularak inkübasyon tamamlanır. Değerlendirme sonrası petri kutuları otoklavda sterilize edilerek çöpe atılır (Halkman ve Gürgün, 1990).

Membran filtrasyon ile mikrobiyolojik analizin temel yaklaşımı

Membran Filtrasyon Yöntemi ile yapılan mikrobiyolojik analizlerde, 1,0-2,0 mL temsili numune yerine çok daha büyük miktarlarda numunenin, bazen de ürünün tamamının analizi yapılabilir. Bu özellik, bize ürünün çok az sayıda mikroorganizma içermesi halinde dahi, mikroorganizma yükünü tespit edebilme imkânı sağlar. Bilindiği gibi, geleneksel yöntemler ile yapılan mikrobiyolojik analizlerde üründen alınan ve tüm ürünü temsil ettiği varsayılan, temsili numune (0,1-1 mL) besiyeri üzerine ekilmektedir.

Analiz sırasında ortamdan ve kullanılan diğer aparatlardan gelecek mikroorganizmaların, numune değerlendirmesini etkilememesi için aseptik tekniklere uyulması gerekir.

Membran filtrasyon yönteminin uygulanması ve ön filtrasyon

Membran filtrasyon yönteminde dikkat edilmesi gereken en önemli 2 husus;

1. Filtrenin, mikroorganizmaların tutunmuş olduğu yüzeyi üste gelecek şekilde besiyerine yerleştirilmesi,
2. Petri kutusunun, filtre yüzeyi yukarı gelecek (kapak yukarıda kalacak) şekilde inkübatöre konulmasıdır.

Ön filtrasyon ataçmanı, asıl filtrenin tıkanmasını önlemek için kullanılan yardımcı ek bir düzeneştir. Filtre edilecek numunedeki 8 µm'den daha büyük partikülleri ön filtre üzerinde tutar.

Ön filtre ataçmanı ve 8 mikron gözenek çapında, selüloz nitrattan mamul ön filtre, membran filtrasyon tutucusunun üzerine ek bir işlem gerektirmeden kolaylıkla takılabilmektedir.

Partikül yükü fazla olmayan su kaynaklarının mikrobiyolojik analizinde ön filtrasyona gerek yoktur. Sadece askıda katı madde miktarı yüksek olan kanalizasyon sularının analizinde gerekebilir ama zaten kanalizasyon suyu gibi yüksek düzeyde mikroorganizma içeren örneklerin mikrobiyolojik analizinde membran filtrasyon öncelikli bir uygulama değildir.

Analiz edilebilecek numune ve özellikleri

Numune, amaçlanan hacminin filtrasyonu sırasında filtreyi tıkamamalıdır. Partikül yoğunluğu fazla olan numuneler için ön filtre kullanılarak sonuç almak mümkündür.

Besiyeri seçimi

Membran filtrasyon uygulamalarında kullanılacak, kullanıma hazır besiyerleri farklı şekillerde elde edilebilir. Aynı isimde ancak farklı markadaki besiyerleri arasında kalite farkı olabileceği kullanıcı tarafından asla göz ardı edilmemelidir.

Membran filtrasyon uygulamasında 2 farklı tip besiyeri kullanılabilir;

1. Hazır toz besiyeri ya da formül üzerinden laboratuvarında hazırlanan besiyeri,
2. Kullanıma hazır, kurutulmuş (özel bir yöntemle pedlere emdirilerek dehidre edilmiş) besiyeri.

Bunlar membran filtrasyon uygulamalarında yaygın şekilde görülen, kullanıma hazır, kurutulmuş, tek tek petri kaplarına yerleştirilmiş, sadece steril su ilavesi ile kullanıma hazır hale getirilen besiyerleridir.

Kurutulmuş besiyerleri yaygın olarak NKS/NPS (Nutrient Ped Sets/Kurutulmuş Hazır Besiyeri) adı ile bilinir. Tespit edilecek mikroorganizmaya göre farklı NKS türleri vardır.

Numunenin hazırlanması

- Ekimi istenilen bakteriye göre NKS hazır besiyeri 0,2 µ'luk filtreden süzölmüş 3 mL saf su ile aktif hale getirilir.
- Çalışılacak olan suyun yapısına uygun olarak İnsani Tüketim Amaçlı Sular Yönetmeliği'nde istenilen miktarda su numunesi süzölür.
- Standard Methods'ta belirtilen sıcaklık ve inkübasyon süresine bırakılır.
- Azide ve Standart TTC besiyerlerinde "yeşil", diğerlerinde ise "sarı" renkli 0,45 µ'luk filtre kağıdı kullanılır.

Membran filtrasyon yıkama çözeltisi

Kozmetik sektöründeki yağlı krem veya merhem gibi yağ-su emülsiyonlarında yağ; membran filtrenin gözenekleri üzerinde bir film oluşturarak mikroorganizmanın sağlıklı gelişmesi için gerekli hava alışverişini engeller ve filtrasyon işlemini güçleştirir. Bu gibi örneklerde filtrasyonun kolay yapılabilmesi için öncelikle numuneye yağ su fazını kırıcı steril kimyasal maddeler konulur. Bu kimyasal maddeler Tween 80, Tween 20 veya Tritonx 100 olabilir.

Filtrasyon işleminden sonra da numune içerisindeki koruyucu maddeleri membran filtreden uzaklaştırmak için uygun bir yıkama çözeltisi ile membran filtre yıkanır. Burada amaç içinde yüksek miktarda yağ, vazelin, parafin, protein, koruyucu madde olan örneklerde bu maddelerin membran filtre üzerinde kalmasını engelleyerek mikrobiyal gelişmenin sağlıklı olmasını sağlamaktır. Yıkama çözeltisi olarak; bileşimi pepton 5,0 g/L, Meat extract 3,0 g/L, Polysorbate (Tween) 80 1,0 g/L olan 80-100 mL kadar çözelti kullanılabilir. Bu formülasyon, ABD farmakopesi (USP) tarafından "Membrane Filter Rinse Fluid" olarak tanımlanmıştır.

Temiz su kaynaklarının filtrasyonunda bu çözelti ile ilave yıkamaya gerek yoktur.

Çizelge 3'de besiyeri adı, süzölmesi gerekli numune miktarı, sıcaklık ve inkübasyon süresi verilmiştir.

Çizelge 3. Besiyeri Adı, Süzülmesi Gerekli Numune Miktarı, Sıcaklık Ve İnkübasyon Süresi

	Besiyeri Adı	Süzülecek Numune Miktarı	İnkübasyon Sıcaklığı	İnkübasyon Süresi	Standard Methods
Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri	Standart TTC	1 mL	22 ± 0,5 °C	72 ± 2 saat	9216-A 9216-B
Koliform Bakteri	Endo	250 mL	35 ± 0,5 °C	24 ± 2 saat	9222-B 9222-C
<i>Escherichia coli</i>	Endo	250 mL	35 ± 0,5 °C	24 ± 2 saat	9222-B 9222-C
Fekal Koliform Bakteri	M-FC	250 mL	35 ± 0,5 °C	24 ± 4 saat	9222-D 9222-E
Enterokok Grubu Bakteri	Azide	250 mL	35 ± 0,5 °C	44 ± 4 saat	9216-A 9216-B
Pseudomonas aeruginosa	Cetrimide	250 mL	35 ± 0,5 °C	48 ± 4 saat	9213-E
Patojen Stafilokok Grubu Bakteri	Chapman	100 mL	35 ± 0,5 °C	72 saat	9222-D 9222-E

Numunenin muhafazası

Su numunesi laboratuvara steril cam şişe içerisinde ve soğuk zincirde ulaştırılmalıdır. Laboratuvara ulaştığında mümkün olan en kısa süre (hemen) içerisinde ekimi yapılmalıdır.

Sonuçların verilmesi

Standart olarak analiz sonuçları, inkübasyon sonrasında (filtre üzerinde elde edilen koloni sayısı/filtre edilen hacim) olarak verilir. Su analizlerinde çoğunlukla, filtre edilen hacim 100 mL'dir ve analiz edilen mikroorganizmanın 0 olması istenir. Buna göre 0 kob/mL gibi sonuç verilmesi gerekir.

Sağlık Bakanlığı tarafından hazırlanarak 17.02.2005 tarih 25730 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan ve yürürlüğe giren İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkındaki Yönetmelik hükümlerine göre sularda yapılması gerekli mikrobiyolojik analizler Ek'de verilmektedir.

Katı gıdalar için membran filtrasyon uygulaması

Çok az mikroorganizma içerdiği kabul edilen ya da mikroorganizma içermemesi gereken katı gıdalar da membran filtrasyon sistemi ile mikrobiyolojik olarak analiz edilebilir.

Şeker, tuz gibi suda tam olarak çözünen gıdaların mikrobiyolojik analizi, membran filtrasyon yöntemi ile kolaylıkla yapılabilir. Belirli bir ağırlıkta olmak üzere (1 g, 5 g vb.) numune tartılır, steril Maximum Recovery Diluent gibi uygun bir seyreltme çözeltisinde çözülür ve filtreden geçirilir. Sonuç, tartılmış olan ağırlığa bölünerek 1 g'daki mikroorganizma sayısı hesaplanır.

Maydanoz gibi yapraklı sebzeler ile meyvelerde mikroorganizmanın sadece yüzeyde olduğu kabul edilir. Buna göre belirli bir ağırlıktaki gıda maddesi tartılır ve yeterli miktarda steril Maximum Recovery Diluent gibi uygun bir seyreltme çözeltisinde çalkalanır. Bu aşamada yüzeydeki mikroorganizmaların seyreltme çözeltisine geçtiği “kabul edilir”. Bu çözelti filtreden geçirilir. Sonuç, tartılmış olan ağırlığa bölünerek 1 gramdaki mikroorganizma sayısı hesaplanır.

Peynir, salam gibi gıdalarda mikroorganizma tüm kitleye dağılmış konumdadır. Buna bağlı belirli bir ağırlıktaki gıda maddesi tartılır ve yeterli miktarda steril Maximum Recovery Diluent gibi uygun bir seyreltme çözeltisinde tam olarak homojenize edilir. Homojenizat 5 dakika kadar kendi halinde bırakılarak kaba materyalin dibe çökmesi beklenir. Sonra üstte kalan sıvı membran filtreden geçirilir (Halkman ve Gürgün, 2000).

Membran filtrasyonda seyreltme (dilüsyon) kavramı

Membran filtrasyon sisteminde kullanılacak seyreltme ya da homojenizasyon sıvılarının hacminin hiç önemi yoktur. Örneğin, 5 g tuzun 50 ya da 100 mL Maximum Recovery Diluent içinde çözülmesi sonucu hiç etkilemez çünkü sonuç olarak, 5 g tuz filtreden geçmektedir.

Benzer şekilde yıkama çözeltisi hacminin de önemi yoktur. Çünkü, steril olduğu için numune içerisindeki mikroorganizma sayısını etkilemeyecektir.

Burada dikkat edilmesi gereken en önemli husus, filtre üzerinde homojen bir dağılım için süzülecek numunenin hacminin en az 5 mL olmasıdır. Buna göre; ister 1 g, ister 5 g ya da 10 g tuz olsun, en az 5 mL Maximum Recovery Diluent içinde çözülmelidir.

Seyreltme ya da homojenizasyonda damıtık su yerine Maximum Recovery Diluent gibi uygun çözücüler kullanılması gereklidir. Aksi halde materyaldeki mikroorganizmalar ozmotik şoka girerek zarar görebilirler. Hatta ozmofil maya analizi yapılacaksa % 20 glikoz çözeltisi kullanılması gerekir. Bununla beraber, 1 mL dere suyunda mikrobiyolojik analiz yapılacağında bu miktarın filtreden geçirilemeyeceği için 5 mL kadar steril damıtık su ile seyreltilmesi gerektiğine bu sitede değinilmiştir. Dere suyu, içme suyu gibi örneklerde mikroorganizmalar zaten bu ozmotik basınca adapte oldukları için Maximum Recovery Diluent kullanılmasına gerek yoktur. Ancak bu gibi örneklerde seyreltme amacı ile Maximum Recovery Diluent kullanılırsa hiçbir sakıncası olmaz (http-4).

BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu bölümde, gül suyu, hayıt suyu, karabaş suyu, kekik suyu, melisa suyu, ökaliptus suyu ve papatya sularının yapılan sıvı-sıvı ekstraksiyonu sonucu GK/KS analiz sonuçlarına göre kimyasal bileşimleri ve mikrobiyolojik analiz sonuçları verilmiştir.

Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu

Piyasadan toplanan ve çalışmaya hazır halde olan yağ altı suları ile yapılan hekzan ekstraksiyonlarının sonuçları **Çizelge 4**'de verilmiştir.

Çizelge 4. Yağ Altı Sularının Ekstre Verimleri

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

GK/KS Analiz Sonuçları

Yağ altı sularının analiz sonuçları ayrı ayrı tablolar halinde aynı sıralamaya uygun olarak verilmiştir. Tablolarda yağ altı suyunun hekzan ekstresinin GK/KS analiz sonuçlarına göre bileşiklerin Bağlı Tutunma İndisleri (BTİ), isimleri, Bağlı % miktarları belirtilmiştir.

Gül suyunun bileşimi

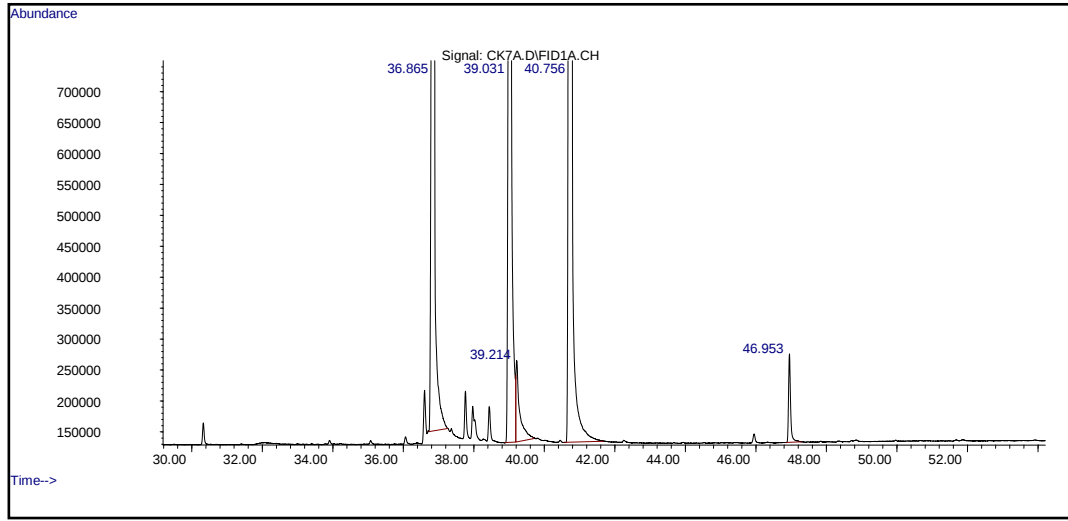
Çizelge 5'deki hekzan ekstrelerine ait GK/KS bulguları incelendiğinde A firmasında feniletil alkol (% 44), sitronellol (% 30), geraniol (% 13) bulunurken % 3 oranında öjenole de rastlanmaktadır. Toplam on üç bileşik yağın % 94,6'sına karşılık gelmektedir. B firmasının ekstresinde, feniletil alkol (% 50), sitronellol (% 24), geraniol (% 21) ün yanı sıra öjenole (% 1) A firmasına nazaran daha az miktarda rastlanmaktadır. Toplam yedi bileşik yağın % 96,8'ine karşılık gelmektedir. C firmasında ise feniletil alkol % 60 oranında bulunurken sitronellol % 9, geraniol % 0,1 gibi çok düşük miktarda bulunmaktadır. % 6 öjenol, ayrıca % 12 oranında sitroflex-2 adında bir bileşiğe rastlanmaktadır. Diğer adıyla trietil

ester olarak da bilinmektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda bu bileşiğin, deodorantların içinde terleme kokusu oluşturan bakterileri öldürücü etkisinin olduğu söylenebilir (http-3). Toplam on bir bileşik olup yağın % 98,7'sine karşılık gelmektedir. D firmasındaki ekstrede, feniletil alkol % 25 oranında bulunurken sitronellol % 19, geraniol % 24 gibi en yüksek oranda bu firmada bulunmuştur. % 8 öjenolün yanı sıra diğer üç firmada olmamasına rağmen % 6 oranında metil öjenol içermektedir. Toplam bulunan on adet bileşik yağın % 99,8'ine karşılık gelmektedir. **Şekil 3**'deki B firmasına ait gül suyunun kromatogramına bakıldığında bileşimlerin Retention Time (R.T.) değerleri; 36.865: sitronellol, 39.031: geraniol, 40.756: feniletil alkol, 46.953: öjenol olarak belirlenmiştir. **Şekil 4**'deki C firmasına ait gül suyunun kromatogramına bakıldığında bileşimlerin R.T. değerleri; 36.795: metilfenil asetat, 36.940: sitronellol, 37.852: nerol, 40.942: feniletil alkol, 46.956: öjenol, 54.255: sitroflex-2 olarak belirlenmiştir.

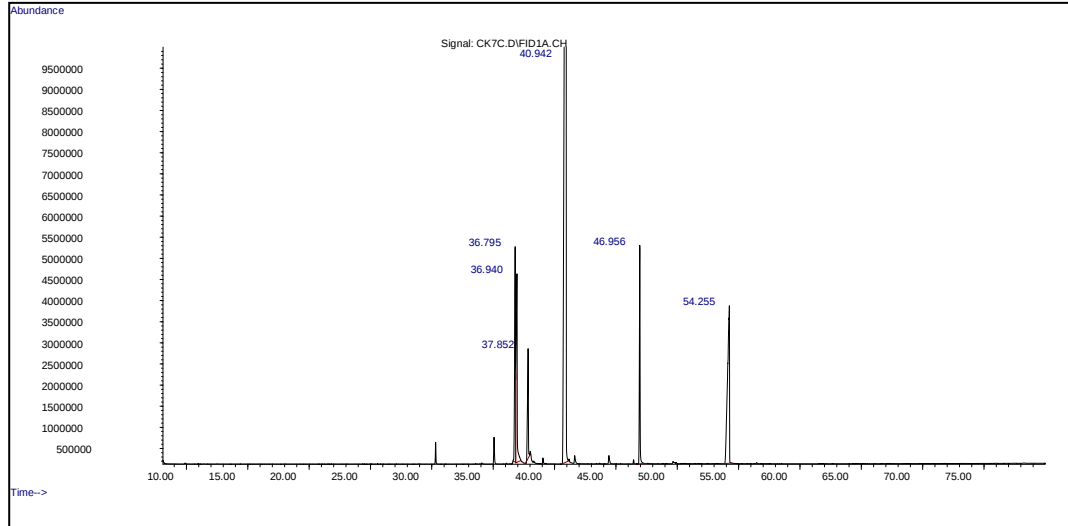
Çizelge 5. Gül Suyunun Bileşimi

BTİ	Bileşik	Hekzan Ekstresi			
		A	B	C	D
1362	cis-roz oksit	-	0.3	-	-
1468	dihidro mirsenol	0.5	-	-	-
1553	linalol	1.7	0.2	0.5	4.4
1611	terpinen-4-ol	-	-	-	0.9
1694	neral	0.1	-	-	-
1706	α -terpineol	0.1	-	0.8	2.0
1742	geranial	0.2	-	-	-
1763	metilfenil asetat	-	-	6.3	-
1772	sitronellol	29.7	24.1	8.8	19.3
1808	nerol	0.3	0.4	4.0	7.8
1838	2-feniletil asetat	0.6	-	-	3.0
1857	geraniol	13.5	21.3	0.1	23.7
1937	feniletil alkol	43.9	49.6	59.8	24.6
1948	hidroksi sitronellal	0.2	-	0.3	-
2030	metil öjenol	-	-	-	6.2
2061	lilial	-	-	0.3	-
2186	öjenol	2.7	0.9	5.8	7.9
2476	sitroflex-2 (=1,2,3-propan etrikarboksilik asit, trietil ester)	-	-	12.0	-
2797	feniletil asetat	1.1	-	-	-
Toplam		94.6	96.8	98.7	99.8

BTİ: Bağlı Tutunma İndeksleri



Şekil 3. B Firmasına Ait Olan Gül Suyunun GK/KS Kromatogramı



Şekil 4. C Firmasına Ait Olan Gül Suyunun GK/KS Kromatogramı

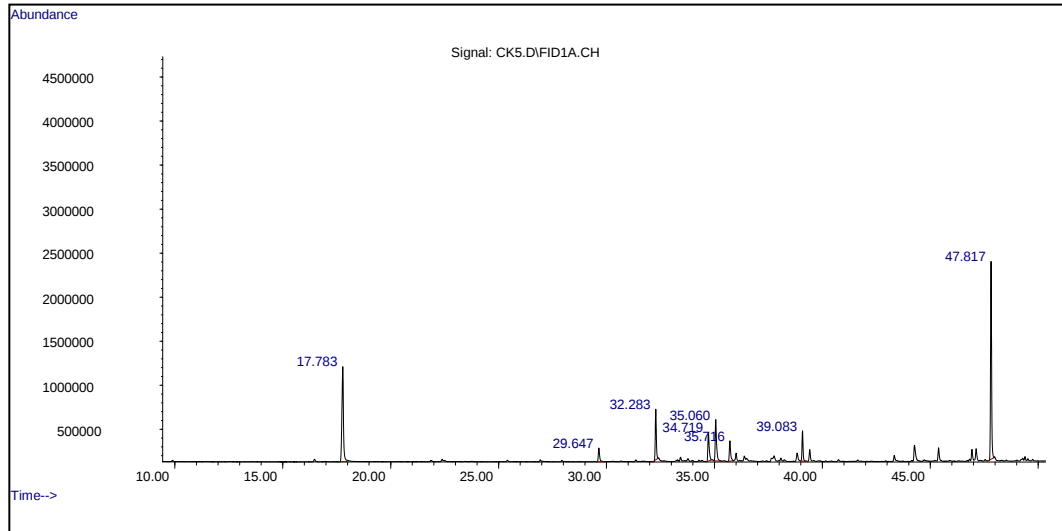
Hayıt suyunun bileşimi

Çizelge 6'daki hekzan ekstrelerine ait GK/KS bulguları incelendiğinde % 29 karvakrol, % 21 1,8-sineol bulunurken % 8 terpinen-4-ol ve % 8 α -terpineol gibi ana bileşenlerden daha düşük miktarda bulunmaktadır. Toplam on üç bileşik yağın % 88,9'una karşılık gelmektedir. Şekil 5'deki E firmasına ait hayıt suyunun kromatogramına bakıldığında bileşimlerin R.T. değerleri; 17.783: 1,8-sineol, 29.647: kafur, 32.283: terpinen-4-ol, 34.719: kripton, 35.060: α -terpineol, 35.716: verbenon, 39.083: p-simen-8-ol, 47.817: karvakrol olarak belirlenmiştir.

Çizelge 6. Hayıt Suyunun Bileşimi

BTİ	Bileşik	Hekzan Ekstresi
1213	1,8-sineol	21.0
1532	kafur	2.3
1611	terpinen-4-ol	8.3
1690	kripton	5.1
1706	α -terpineol	7.6
1719	borneol	0.4
1725	verbenon	3.5
1864	p-simen-8-ol	4.5
2030	metil öjenol	0.9
2113	kumin alkol	2.3
2186	öjenol	1.7
2198	timol	1.9
2239	karvakrol	29.4
Toplam		88.9

BTİ: Bağlı Tutunma İndeksleri



Şekil 5. E Firmasına Ait Olan Hayıt Suyunun GK/KS Kromatogramı

Karabaş suyunun bileşimi

Çizelge 7'deki hekzan ekstrelerine ait GK/KS bulguları incelendiğinde E firmasında % 32 karvakrol, % 27 kafur, % 16 α -fenkon bulunurken timol ve verbenon % 4 gibi daha düşük miktarda bulunmaktadır. Toplam yirmi bileşik yağın % 98,9'una karşılık gelmektedir. F firmasının hekzan ekstresinde karvakrol % 57 oranında ana bileşik olarak görülmektedir. Diğer firma yüksek oranda kafur içerirken burada % 7 gibi daha düşük miktarda bulunmaktadır. Ayrıca diğerinde hiç bulunmayan fakat bu firmada % 9 α -kadinol ve % 5 14-norkadin-5-en-4-onizomer* bileşiklerine rastlanmaktadır. Timol ise % 7 oranında bulunmaktadır. Toplam on dört bileşik yağın % 96'sına karşılık gelmektedir. **Şekil 6**'daki E firmasına ait karabaş suyunun kromatogramına bakıldığında bileşimlerin R.T. değerleri; 17.721: 1,8-sineol, 25.417: α -fenkon, 29.697: kafur, 35.101: borneol, 35.717: verbenon, 39.087: p-simen-8-ol, 47.121: timol, 47.835: karvakrol olarak belirlenmiştir.

Çizelge 7. Karabaş Suyunun Bileşimi

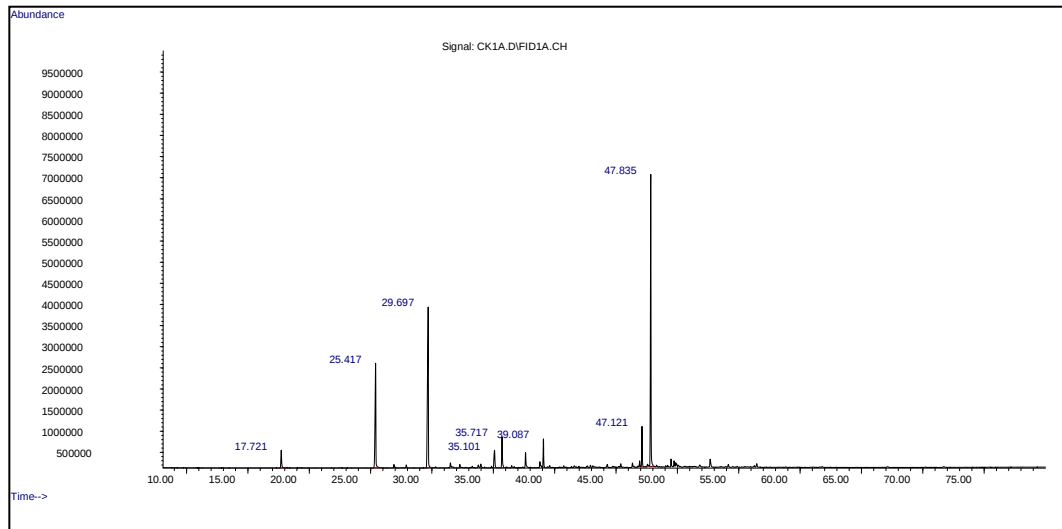
BTİ	Bileşik	Hekzan Ekstresi	
		E	F
1213	1,8-sineol	2.5	-
1406	α -fenkon	16.3	2.9
1450	trans-linalol oksit	0.4	-
1452	1-okten-3-ol	0.1	-
1478	cis-linalol oksit	0.4	-
1532	kafur	27.4	6.8
1553	linalol	-	0.4
1591	fenkil alkol	0.6	-
1704	mirtenil asetat	0.2	-
1706	α -terpineol	0.8	1.8
1719	borneol	2.3	1.9
1725	verbenon	3.8	1.2
1738	p-menta-1,5-dien-8-ol	0.2	1.2
1804	mirtenol	2.2	0.7
1845	trans-karveol	0.8	0.4
1864	p-simen-8-ol	2.9	1.4
2113	kumin alkol	0.4	-
2186	öjenol	0.7	-

Çizelge 7. (Devam) Karabaş Suyunun Bileşimi

BTİ	Bileşik	Hekzan Ekstresi	
		E	F
2198	timol	4.3	6.9
2221	izokarvakrol	0.2	-
2239	karvakrol	32.4	56.5
2255	α -kadinol	-	8.7
2320	14-norkadin-5-en-4-onizomer*	-	5.2
Toplam		98.9	96.0

BTİ: Bağlı Tutunma İndeksleri

* A ve B izomerinden birisi



Şekil 6. E Firmasına Ait Olan Karabaş Suyunun GK/KS Kromatogramı

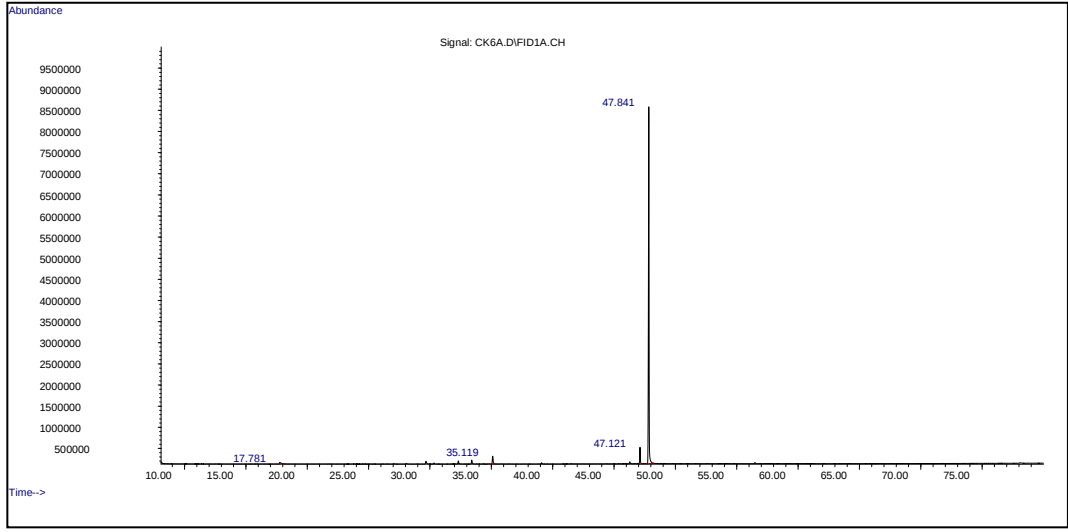
Kekik suyunun bileşimi

Çizelge 8'deki hekzan ekstrelerine ait GK/KS bulguları incelendiğinde E firmasında bulunan karvakrol miktarı % 88, F firmasında % 82, G firmasında ise % 93 oranındadır. E firmasındaki diğer bileşikler ise % 3 oranında timol ve borneol'dür. Toplam on dört bileşik yağın % 100'üne karşılık gelmektedir. G firmasında timol % 0,6 gibi çok daha düşük oranda bulunurken % 2 oranında borneol içermektedir. Toplam on dört bileşik yağın % 100'üne karşılık gelmektedir. % 12 gibi en yüksek miktardaki timol oranı F firmasında görülmektedir. Toplam on iki bileşik yağın % 99,2'sine karşılık gelmektedir. **Şekil 7**'deki E firmasına ait kekik suyunun kromatogramına bakıldığında bileşimlerin R.T. değerleri; 17.781: 1,8-sineol, 35.119: borneol, 47.121: timol, 47.841: karvakrol olarak belirlenmiştir.

Çizelge 8. Kekik Suyunun Bileşimi

BTİ	Bileşik	Hekzan Ekstresi		
		E	F	G
1213	1,8-sineol	1.2	0.1	-
1452	1-okten-3-ol	-	-	0.3
1474	trans-sabinen hidrat	-	-	1.0
1475	menton	0.2	-	-
1532	kafur	1.0	0.2	-
1553	linalol	0.2	1.0	0.7
1556	cis-sabinen hidrat	-	-	0.4
1611	terpinen-4-ol	0.9	1.1	1.1
1624	trans-dihidrokarvon	-	-	0.1
1638	mentol	1.2	-	-
1706	α -terpineol	0.1	0.5	0.5
1719	borneol	2.5	1.6	2.3
1864	p-simen-8-ol	0.3	0.2	0.2
1940	4-izopropil salisilaldehit	-	-	0.2
2140	cis-p-ment-4-en-1,2-diol	0.5	0.1	-
2181	izotimol	0.1	e	e
2198	timol	3.4	12.0	0.6
2221	izokarvakrol	0.1	0.1	e
2239	karvakrol	88.3	82.3	92.7
Toplam		100	99.2	100

BTİ: Bağlı Tutunma İndeksleri e: eser miktarda (<0,1%)



Şekil 7. E Firmasına Ait Olan Kekik Suyunun GK/KS Kromatogramı

Melisa suyunun bileşimi

Çizelge 9'daki hekzan ekstrelerine ait GK/KS bulguları incelendiğinde melisa suyunun ana bileşiği % 51 olarak öjenol'dür. Karvakrol (% 16), kafur (% 12) ve borneol (% 6) bulunmaktadır. Toplam on üç bileşik yağın % 100'üne karşılık gelmektedir. **Şekil 8**'deki E firmasına ait melisa suyunun kromatogramına bakıldığında bileşimlerin R.T. değerleri; 25.397: α -fenkon, 29.652: kafur, 35.108: borneol, 35.717: verbenon, 39.088: p-simen-8-ol, 46.953: öjenol, 47.820: karvakrol, 49.031: öjenil asetat olarak belirlenmiştir.

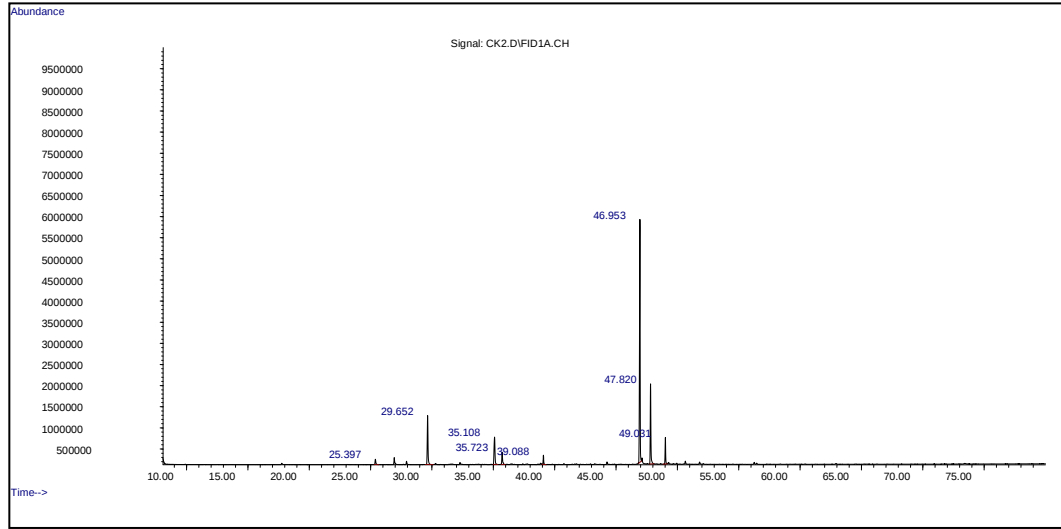
Çizelge 9. Melisa Suyunun Bileşimi

BTİ	Bileşik	Hekzan Ekstresi
1406	α -fenkon	1.5
1450	trans-linalol oksit (fur.)	1.4
1452	1-okten-3-ol	0.4
1478	cis-linalol oksit (fur.)	0.8
1532	kafur	12.0
1706	α -terpineol	2.7
1719	borneol	5.6
1725	verbenon	2.3
1864	p-simen-8-ol	1.6
2186	öjenol	50.6

Çizelge 9. (Devam) Melisa Suyunun Bileşimi

BTİ	Bileşik	Hekzan Ekstresi
2198	timol	0.6
2239	karvakrol	15.6
2282	öjenil asetat	4.9
Toplam		100

BTİ: Bağlı Tutunma İndeksleri



Şekil 8. E Firmasına Ait Olan Melisa Suyunun GK/KS Kromatogramı

Ökalyptus suyunun bileşimi

Çizelge 10'daki hekzan ekstrelerine ait GK/KS bulguları incelendiğinde ökalyptus suyunun ana bileşiği % 28 olarak 1,8-sineol'dür. Karvakrol (% 10), kafur (% 15), verbenon (% 11) bulunurken ayrıca % 10 oranında da kripton içermektedir. Toplam on dokuz bileşik yağın % 100'üne karşılık gelmektedir. **Şekil 9'**daki E firmasına ait ökalyptus suyunun kromatogramına bakıldığında bileşimlerin R.T. değerleri; 17.952: 1,8-sineol, 25.398: α -fenkon, 29.718: kafur, 32.313: terpinen-4-ol, 34.743: kripton, 35.088: α -terpineol, 35.158: borneol, 35.770: verbenon, 45.383. kumil alkol, 46.924: öjenol, 47.825: karvakrol olarak belirlenmiştir.

Çizelge 10. Ökalyptus Suyunun Bileşimi

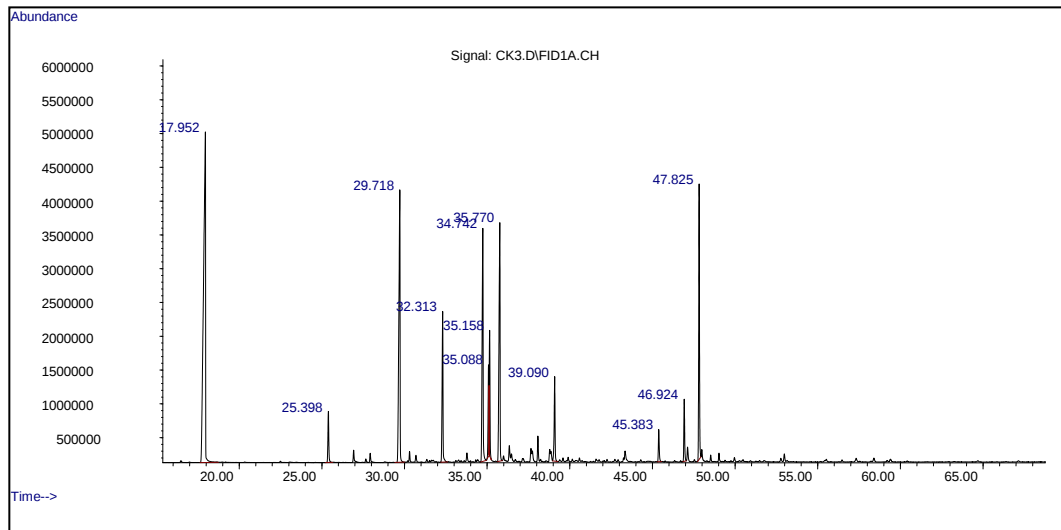
BTİ	Bileşik	Hekzan Ekstresi
1213	1,8-sineol	27.9
1406	α -fenkon	2.1

Çizelge 10. (Devam) Ökalyptus Suyunun Bileşimi

BTİ	Bileşik	Hekzan Ekstresi
1450	trans-linalol oksit (fur.)	0.5
1474	kamfenilol	0.2
1478	cis-linalol oksit (fur.)	0.3
1532	kafur	15.0
1553	linalol	0.3
1562	izopinokamfon	0.3
1611	terpinen-4-ol	6.3
1690	kripton	10.1
1706	α -terpineol	3.3
1719	borneol	4.9
1725	verbenon	11.3
1823	p-menta-1 (7), 5-dien-2-ol	1.0
1864	p-simen-8-ol	3.3
2113	kumin alkol	1.3
2186	öjenol	2.3
2198	timol	e
2239	karvakrol	9.7
Toplam		100

BTİ: Bağlı Tutunma İndeksleri

e: eser miktarda (<0,1%)

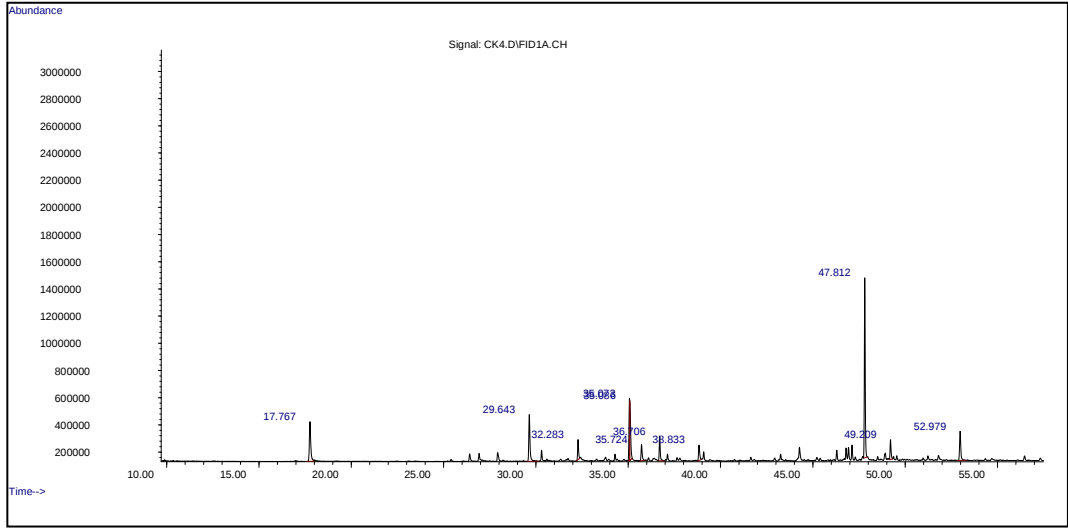
Şekil 9. E Firmasına Ait Olan Ökalyptus Suyunun GK/KS Kromatogramı
Papatya suyunun bileşimi

Çizelge 11'deki hekzan ekstrelerine ait GK/KS bulguları incelendiğinde papatya suyunun ana bileşiği % 32 olarak karvakrol'dür. Diğer bileşikler ise 1,8-sineol (% 11), kafur (% 12), borneol (% 10), α -terpineol (% 9) dür. Toplam on iki bileşik yağın % 96,3'üne karşılık gelmektedir. **Şekil 10**'daki E firmasına ait papatya suyunun kromatogramına bakıldığında bileşimlerin R.T. değerleri; 17.757: 1,8-sineol, 29.643: kafur, 32.283: terpinen-4-ol, 35.086: borneol, 35.724: verbenon, 36.706: cis-linalol oksit, 38.833: timol, 47.812: karvakrol, 49.209: dekanolik asit, 52.979: α -bisabolol oksit A olarak belirlenmiştir.

Çizelge 11. Papatya Suyunun Bileşimi

BTİ	BİLEŞİK	Hekzan Ekstresi
1213	1,8-sineol	10.8
1450	trans-linalol oksit (fur.)	e
1478	cis-linalol oksit	4.3
1532	kafur	11.6
1611	terpinen-4-ol	4.3
1706	α -terpineol	9.1
1719	borneol	9.6
1725	verbenon	3.6
2198	timol	e
2239	karvakrol	31.9
2298	dekanolik asit	3.8
2431	α -bisabolol oksit A	7.3
Toplam		96.3

BTİ: Bağlı Tutunma İndeksleri e: eser miktarda (<0,1%)



Şekil 10. E Firmasına Ait Olan Papatya Suyunun GK/KS Kromatogramı

Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Yağ altı sularının analiz sonuçları ayrı ayrı tablolar halinde, aynı sıralamaya uygun olarak verilmiştir. Tablolarda sırasıyla yağ altı suyunun varsa farklı firmalardaki, toplam mezofilik aerobik bakteri (1 mL’de), koliform bakteri (250 mL’de), *E. coli* (250 mL’de), fekal koliform bakteri (250 mL’de), enterokok grubu bakteri (250 mL’de), *Pseudomonas aeruginosa* (250 mL’de), patojen stafilkok grubu bakteri (100 mL’de) olmak üzere 7 farklı bakteri sayımları 3 paralel ekim yapılarak sonuçları kob/mL olarak verilmiştir.

Gül suyunun sonuçları

A Firması

İçerik	: Gül Esansı, deiyonize su
Suyun görünümü	: Bulanık
Ambalaj yapısı	: Plastik şişe
Üretim tarihi	: Mevcut değil
Onay	: Mevcut değil

B Firması

İçerik	: Doğaya özdeş gül kokularından ve saf su ile elde edilmiş
Suyun görünümü	: Bulanık
Ambalaj yapısı	: Plastik şişe
Son kullanma tarihi	: Mayıs 2010 (raf ömrü 2 yıl)
Onay	: Mevcut değil

C Firması

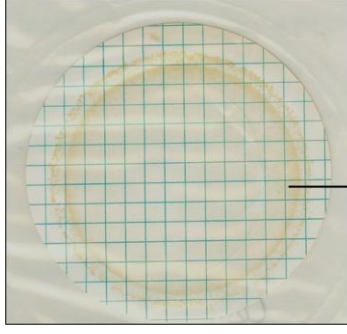
İçerik : Doğala özdeş kokulu, sentetik
 Bileşim : Saf su-Gül aroması-Boyar madde ClFood Red 7-Cl
 Yağ: 20°C’de 1.000
 Suyun görünüm : Berrak, hafif pembemsi renkli
 Ambalaj yapısı : Plastik şişe, karton kutu içerisinde
 Son kullanma tarihi : Mevcut değil
 Onay : S.M. izin no ve tarih... gibi bir ibare mevcut

D Firması

İçerik : %100 doğal (Pure Distilled)
 Bileşim : %100 distile doğal gül suyu
 Suyun görünümü : Berrak
 Ambalaj yapısı : Plastik şişe, karton kutu içerisinde
 Son kullanma tarihi : Haziran 2010
 Onay : TSE logosu mevcut

Çizelge 12. Gül Suyunun Mikrobiyolojik Analiz Sonucu

	A			B			C			D		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Toplam Mezofilik Aerobik	>100	>100	>100	>100	>100	>100	0	0	0	6	8	6
Koliiform Bakteri	>100	>100	>100	>100	>100	>100	0	0	0	0	0	0
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fekal Koliiform Bakteri	>100	>100	>100	>100	>100	>100	0	0	0	0	0	0
Enterokok Grubu Bakteri	>100	>100	>100	1	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	0	>100	>100	>100	0	0	0	0	0	0
Patojen Stafilokok Grubu Bakteri	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0



Pseudomonas aeruginosa

Şekil 11. B Firmasına Ait Olan 2 No’lu Şişedeki Gül Suyunda Tespit Edilen *Pseudomonas aeruginosa*

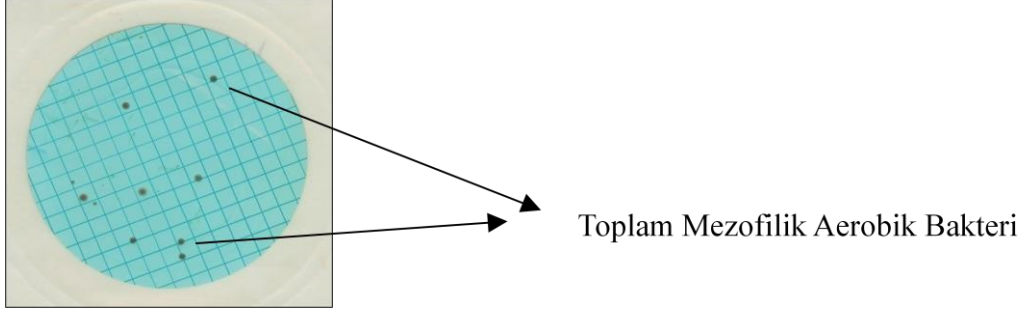
Hayıt suyunun sonuçları

E Firması

- Adı : *Agnus castus water*, aromatik hayıt suyu
- İçerik : % 100 hayıt suyu, distilasyon yoluyla elde dilmiş içme amaçlı hayıt suyu
- Suyun görünümü : Bulanık, sarı renkli, hafif tortulu
- Ambalaj yapısı : Plastik şişe, karton kutu içerisinde
- Son kullanma tarihi : Aralık 2009
- Onay : “Türk Gıda Kodeksine uygun” ibaresi mevcut

Çizelge 13. Hayıt Suyunun Mikrobiyolojik Analiz Sonucu

	E		
	1	2	3
Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri	11	10	6
Koliform Bakteri	0	0	0
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0
Fekal Koliform Bakteri	0	0	0
Enterokok Grubu Bakteri	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	0
Patojen Stafilokok Grubu Bakteri	0	0	0



Şekil 12. E Firmasına Ait Olan 2 No'lu Şişedeki Hayıt Suyunda Tespit Edilen Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri

Karabaş suyunun sonuçları

E Firması

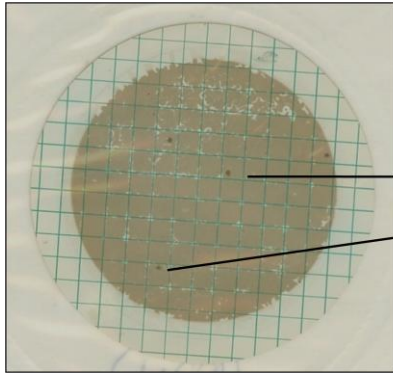
Adı	: <i>Lavander water</i> , aromatik karabaş otu suyu
İçerik	: % 100 karabaş otu suyu, distilasyon yoluyla elde edilmiş içme amaçlı karabaş suyu
Suyun görünümü	: Bulanık, sarı-gri renkli, hafif tortulu
Ambalaj yapısı	: Plastik şişe, karton kutu içerisinde
Son kullanma tarihi	: Aralık 2009
Onay	: “Türk Gıda Kodeksine uygun” ibaresi mevcut

F Firması

Adı	: <i>Lavandula stoechas</i> , aromatik karabaş suyu
İçerik	: Mevcut değil
Suyun görünümü	: Bulanık, sarı-gri renkli
Ambalaj yapısı	: Plastik şişe
Son kullanma tarihi	: 2011
Onay	: “Türk Gıda Kodeksine uygun” ibaresi mevcut

Çizelge 14. Karabaş Suyunun Mikrobiyolojik Analiz Sonucu

	E			F		
	1	2	3	1	2	3
Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri	16	9	0	>100	>100	>100
Koliform Bakteri	7	0	0	0	0	0
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	0	0	0
Fekal Koliform Bakteri	4	0	0	0	0	0
Enterokok Grubu Bakteri	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	0	0	0	0
Patojen Stafilokok Grubu Bakteri	0	0	0	0	0	0



Fekal Koliform Bakteri

Şekil 13. E Firmasına Ait Olan 1 No’lu Şişedeki Karabaş Suyunda Tespit Edilen Fekal Koliform Bakteri

Kekik suyunun sonuçları

E Firması

Adı	: <i>Oregano water</i> , kekik suyu
İçerik	: % 100 kekik suyu, distilasyon yoluyla elde dilmiş içme amaçlı kekik suyu
Suyun görünümü	: 1. ve 3. şişelerde bulanık mevcut, 2. şişe berrak
Ambalaj yapısı	: Plastik şişe, dışı alüminyum folyo ile kaplı
Son kullanma tarihi	: Ekim 2009
Onay	: “Türk Gıda Kodeksine uygun” ibaresi mevcut

F Firması

Adı : *Origanum onites*, aromatik kekik suyu, (İzmir Bilya) Beyaz Kekik

İçerik : Mevcut değil

Suyun görünümü : Az bulanıklık var

Ambalaj yapısı : Plastik şişe

Son kullanma tarihi : 2010

Onay : “Türk Gıda Kodeksine uygun” ibaresi mevcut

G Firması

Adı : *Thymus water*

İçerik : % 100 katkısızdır

Suyun görünümü : Berrak

Ambalaj yapısı : Cam şişe, karton kutu içerisinde

Son kullanma tarihi : Mayıs 2010

Onay : “Türk Gıda Kodeksine uygun” ibaresi mevcut

Çizelge 15. Kekik Suyunun Mikrobiyolojik Analiz Sonucu

	E			F			G		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri	0	0	0	11	0	5	0	0	3
Koliiform Bakteri	0	0	0	50	0	0	0	0	0
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fekal Koliiform Bakteri	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Enterokok Grubu Bakteri	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Patojen Stafilokok Grubu Bakteri	0	0	0	1	0	32	0	0	0

Melisa suyunun sonuçları*E Firması*

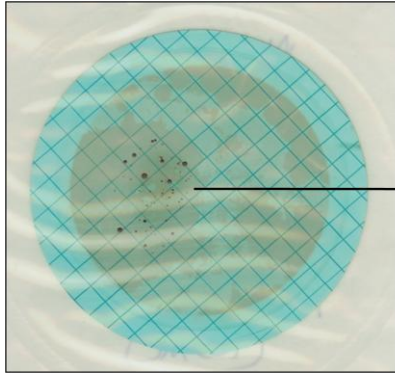
Adı : *Bee-Balm water*, aromatik melisa suyu

İçerik : % 100 melisa suyu, distilasyon yoluyla elde dilmiş içme amaçlı melisa suyu

Suyun görünümü : Bulanık
Ambalaj yapısı : Plastik şişe, karton kutu içerisinde
Son kullanma tarihi : Kasım 2008
Onay : “Türk Gıda Kodeksine uygun” ibaresi mevcut

Çizelge 16. Melisa Suyunun Mikrobiyolojik Analiz Sonucu

	E		
	1	2	3
Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri	>100	>100	>100
Koliform Bakteri	>100	>100	>100
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0
Fekal Koliform Bakteri	>100	>100	>100
Enterokok Grubu Bakteri	30	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>100	>100	>100
Patojen Stafilokok Grubu Bakteri	0	0	0



Enterokok Grubu Bakteri

Şekil 14. E Firmasına Ait Olan 1 No’lu Şişedeki Melisa Suyunda Tespit Edilen Enterokok Grubu Bakteri

Ökalyptus suyunun sonuçları

E Firması

Adı : *Eucalyptus water*, aromatik ökalyptus suyu
İçerik : % 100 ökalyptus suyu, distilasyon yoluyla elde dilmiş içme amaçlı melisa suyu
Suyun görünümü : Bulanık
Ambalaj yapısı : Plastik şişe, karton kutu içerisinde
Son kullanma tarihi : Ekim 2009 (raf ömrü 2 yıl)
Onay : “Türk Gıda Kodeksine uygun” ibaresi mevcut

Çizelge 17. Ökalyptus Suyunun Mikrobiyolojik Analiz Sonucu

	E		
	1	2	3
Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri	0	5	0
Koliform Bakteri	0	10	1
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0
Fekal Koliform Bakteri	0	0	0
Enterokok Grubu Bakteri	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	0
Patojen Stafilokok Grubu Bakteri	0	0	0

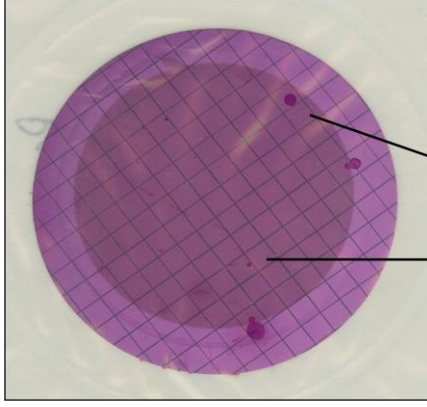
Papatya suyunun sonuçları

E Firması

Adı : Camomile water, aromatik papatya suyu
İçerik : % 100 papatya suyu, distilasyon yoluyla elde dilmiş içme amaçlı papatya suyu
Suyun görünümü : Bulanık, sarı renkli
Ambalaj yapısı : Plastik şişe, karton kutu içerisinde
Son kullanma tarihi : Ekim 2009 (raf ömrü 2 yıl)
Onay : “Türk Gıda Kodeksine uygun” ibaresi mevcut

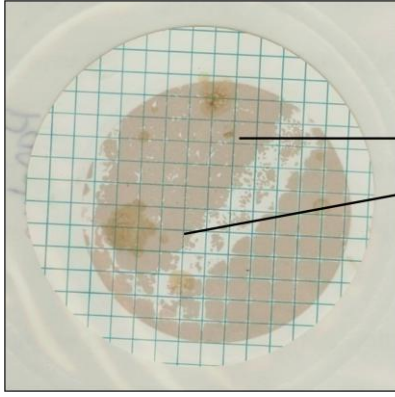
Çizelge 18. Papatya Suyunun Mikrobiyolojik Analiz Sonucu

	E		
	1	2	3
Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri	0	0	0
Koliform Bakteri	2	8	2
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0
Fekal Koliform Bakteri	0	0	0
Enterokok Grubu Bakteri	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	0
Patojen Stafilokok Grubu Bakteri	0	8	0



Koliform Bakteri

Şekil 15. E Firmasına Ait Olan 2 No'lu Şişedeki Papatya Suyunda Tespit Edilen Koliform Bakteri



Stafilokok Grubu Bakteri

Şekil 16. E Firmasına Ait Olan 2 No'lu Şişedeki Papatya Suyunda Tespit Edilen Stafilokok Grubu Bakteri

SONUÇ VE ÖNERİLER

Yağ altı suyu kavramı aromatik bitkilerden su veya buhar distilasyonu ile uçucu yağ elde edilmesi esnasında toplama kabında biriken yağ altı suyunu ifade eder. Aromatik bitkiler bakımından zengin bir floraya sahip olan ülkemizde gerek köylerde imbiklerle yapılan üretimler sonucu gerekse fabrikasyon üretimlerde yağ altı suları bol miktarda üretilmektedir. 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.

Geleneksel olarak Anadolu'da çok eski devirlerden beri bilinen ve kullanılan sulardır ki gül suyu, kekik suyu gibi. Bu ürünlerin halk tarafından büyük ilgi görmesinden yararlanan bir grup üretici yeni yeni ürünleri hızla piyasaya sürmüştür, hayıt suyu, papatya suyu gibi. İdeal yağ altı suyu berrak olmalı, süspansiyon veya emülsiyon şeklinde uçucu yağ taşımamalıdır. Yağ altı suyundaki bulanıklık uçucu yağın varlığını gösterir. Yağ altı sularının bileşimlerinin belirlenmesi ve standardizasyonu için rutin kontrol yöntemleri konusunda yapılmış bilimsel araştırmalar çok azdır (Arslandere, 2002; Boydağ, 2004). Ülkemizde sadece gül suyu için Türk Standartları Enstitüsü tarafından hazırlanmış bir standart vardır (TSE, 1988). Ancak ticarete verilen Gül sularının biri hariç çoğunluğunda standarda uygunluk konusunda bir ifadeye rastlanmamaktadır. Şu anda piyasada bulunan Gül suyu dışındaki ürünlerin üzerinde "Türk Gıda Kodeksine uygundur" ibaresi ile Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Koruma Genel Müdürlüğü'nün izin tarih ve sayısı bulunmaktadır. Bu iznin hangi kurallara veya hangi analizlere göre belirlendiği bilinmemektedir.

Ülkemizde daha önce yapılan araştırmalar yağ altı sularının standardizasyonunu sağlamak için sıvı-sıvı ekstraksiyonlarının hangi çözücülerle, hangi oranlarla yapılacağı ve elde edilen uçucu bileşik analizleri konusundadır. Bu araştırmalarda araştırmacılar kendi elde ettikleri yağ altı sularını kullanmışlardır (Arslandere, 2002; Boydağ, 2004). Bu araştırmada ise Eskişehir piyasasında bulunan yağ altı sularını bileşimleri ve mikrobiyal kirlilikleri açısından incelemesi planlanarak, piyasada en bol bulunan 7 çeşit yağ altı suyu materyal olarak seçilmiştir. Bunlar; gül suyu, hayıt suyu, karabaş suyu, kekik suyu, oğul otu suyu, ökaliptus suyu, papatya suyudur.

Bu suların kalitesini belirlemek amacıyla sıvı-sıvı ekstraksiyonlar yapılarak uçucu bileşikler elde edilmiş ve bu ekstraktların Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi analizleri yapılmıştır. Su distilasyonu ve genellikle de buhar distilasyonu yöntemiyle elde edildiği düşünülen ve dolayısı ile steril olmaları beklenen bu ürünlerin mikrobiyolojik kirlilikleri membran filtre yöntemiyle araştırılmıştır.

Eskişehir piyasasında 4 farklı firmaya ait gül suyu bulunmaktaydı. Bu ürünlerden biri TSE logosu ile etiketlenmiş, diğerlerinde ise "TSE standartlarına uygundur" şeklinde bir ibareye ya da logosuna rastlanmamıştır. Gül suyu, gül çiçeklerinden su distilasyonu ile fabrikalarda gül yağı elde edilmesi sırasında oluşan ikinci bir üründür. Ancak bu yöntemle elde edilen ürün doğal ve TSE standartlarına uygun olabilir. TSE logosu taşıyan ürün % 25 feniletıl alkol, % 19 sitrönellöl, % 24 geraniöl, % 8 öjenöl ve % 6 metil öjenöl içermektedir. Gül suyunda 4 ana bileşen, sitrönellöl, neröl, geraniöl ve fenil etil alkol bulunmaktadır (Bayrak ve Şencan,

1995). Bu doğal ürün kaynak bilgilerine benzerdir. Etiket bilgisine göre sentetik olan üründe sitroflex-2 (=1,2,3-propan etrikarboksilik asit, trietil ester) bulunması sentetik bir ürün olduğunu açıkça göstermiştir. Sitroflex bir sitrik asit polimeri olup parfümeride koruyucu olarak kullanılmaktadır. Doğal olarak küçük miktarlarda sadece şaraplarda bulunmaktadır (http-3). Bu ürünse, % 60 feniletil alkol, % 9 sitronellol, % 0,1 geraniol, % 6 öjenol ayrıca % 12 oranında sitroflex-2 adında bir bileşik tespit edilmiştir. Diğer iki üründe doğal olmadığı düşünülmektedir. Bu iki üründe % 44-50 feniletil alkol, % 24-30 sitronellol, % 13-21 geraniol ve % 1-3 öjenol bulunmuştur. Mikrobiyal analiz sonuçları, kimyasal bileşimle uyumluluk göstermiştir. Sentetik üründe hiç üreme olmazken, doğal olanda standartların altında toplam bakteri gözlenmiştir. Diğer iki üründe ise sadece hastalık yapıcı olan *E. coli* ve patojen stafilokok üremeyip diğer bakterilerin İnsani Tüketim Amaçlı Sular Yönetmeliği'nde verilen değerlerden fazla sayıda üreme göstermesi mikrobiyal kirlilik açısından standartlara uygun olmadığını göstermektedir. Türk gül yağının ana bileşikleri sitronellol (% 31-44), geraniol (% 9-19), nerol (% 5-9), linalol (% 0,6-2) ve feniletil alkol (% 1,2-1,9) gibi terpen alkollerini bulunmaktadır (Başer ve Kürkçüoğlu, 2008).

Piyasada şu anda satışta olan hayıt suyu etiketinde bitkinin hangi kısımlarının kullanıldığına dair bir bilgi bulunmamaktadır. Tıbbi özellik taşıyan meyvelerdir, meyve uçucu yağının ana bileşikleri 1,8-sineol (% 16), terpinen-4-ol (% 11), sabinen (% 9), α -pinen (% 8) ve Z- β -farnesen (% 5) olarak belirlenmiştir (Güzel, 2002). Piyasadan temin edilen Hayıt suyu hekzan ektresinde % 29 karvakrol, % 21 1,8-sineol bulunurken % 8 terpinen-4-ol ve % 8 α -terpineol gibi ana bileşenlerden daha düşük miktarda bulunmaktadır. Bu bulgular suyun meyveden elde edilmiş olabileceğini göstermekte iken, karvakrolün yüksek oranda bulunması üretim tesislerinin kekik distilasyonu sonrası iyi temizlenmemiş olduğunu düşündürmektedir. Bu özellikte bir ürünün piyasaya sürülmesi son derece sakıncalıdır. Hayıt suyundan beklenen fizyolojik etkiler yerine karvakrolün biyolojik aktivitesi ön plana çıkacak ve istenmeyen sonuçlara neden olabilecektir. Mikrobiyolojik kontrolünde 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 son yapılan analizde kafur (% 46), α -fenkon (% 32), bornil asetat (% 4) ve kamfen (% 3) ana bileşik olarak bulunmuştur. Bu araştırma için piyasa araştırması sırasında Eskişehir'de iki firmaya ait Karabaş suyu bulunmuştur. Bir ekstre % 32 karvakrol, % 27 kafur, % 16 α -fenkon, % 4.3 timol taşıırken diğeri % 57 karvakrol, % 7 timol, % 7 kafur, % 3 fenkon ve % 9 α -kadinen taşımaktadır. Her iki örnekte de kekik uçucu yağına ait karvakrol ve timolün bulunuşu üretim işlemlerinin titizlikle yapılmadığını veya hammadde saflığına özen gösterilmediğini düşündürmektedir. Mikrobiyolojik kontrolünde standartların altında toplam bakteri gözlenmiştir.

Kekik suyu Anadolu'da en yaygın olarak üretilen ve dahilen sıkça kullanılan yağ altı suyudur. Genellikle *Origanum* türlerinden, özellikle *O. onites*'ten elde edilmektedir. Kekik yağ altı suları ile yapılan araştırmalarda en verimli ekstraksiyonun 5:1 oranında hekzanla gerçekleştiği bildirildiğinden bu oran tercih edilmiştir (Boydağ, 2004). Kekik suyunun uçucu bileşikleri ortalama olarak % 85 karvakrol, % 6 timol ve % 5 linalool olarak verilmiştir (Arslandere, 2002;

Boydağ, 2004). Üç farklı firmaya ait kekik sularının analizlerinde % 82-93 karvakrol, % 1-6 timol, % 0.2-1 linalool, % 2-3 borneol ve % 1 terpinen-4-ol belirlenmiştir. Mikrobiyolojik kontrollerinde iki firmanın ürününde herhangi bir bakteriye rastlanmazken, diğer firmanın ürününde üç farklı şişe ile yapılan analizlerde, birinde Stafilokok diğerinde koliform bakteri bulunurken üçüncü şişede herhangi bir bakteri bulunmaması şişe temizliğinde veya dolum esnasında ki kontaminasyonları düşündürmektedir.

Ülkemizde *Melissa officinalis*'in üç alt türü doğal olarak yetişmesine (subsp. *officinalis*, subsp. *altissima*, subsp. *inodora*) 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, β -karyofilen, geraniol ve sitronellol'e de ana bileşik olarak rastlanmaktadır (Lawrence, 1996). Eskişehir piyasasında bulunan melisa suyunun hekzan ekstresi ana bileşiği % 51 olarak öjenol olarak belirlenmiştir. Karvakrol % 16, kafur % 12 ve borneol % 6 olarak bulunmaktadır. Öjenolün yüksek oranda bulunması bitki kaynağı konusunda şüphe doğurmakta karvakrolün bulunuşu ise 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 % 3-31 oranında bulunmaktadır. Bunun yanında oranı yüksek diğer bileşenler arasında α -pinen ve limonen sayılabilir (Başer ve ark., 1998). Piyasadaki yağ altı sularının hammadde kaynağı bilinmemekle beraber hekzan ekstresinin ana bileşiği % 28 oranında 1,8-sineol'dür. Karvakrol % 10, kafur % 15, verbenon % 11 oranında bulunurken ayrıca % 10 oranında da kripton içermektedir. Karvakrolün yüksek oranda bulunması diğerlerinde olduğu gibi üretim aşamasındaki karışmayı göstermektedir. Mikrobiyal kirlilik olarak 3 şişeden sadece birinde az da olsa koliform bakteriye rastlanması şişe temizliği ve dolum esnasındaki hijyen kurallarına dikkat edilmediği izlenimini vermektedir.

Papatya suyu adı altında piyasada tek bir firmanın ürününe rastlanmıştır. Ülkemizde papatya (*Matricaria chamomilla*) kültürü büyük ölçüde yapılmadığı için bu ürünün hammaddesi konusunda fikir yürütülememektedir. Doğadan toplanan ürün ise başka *Compositae* bitkilerinin karışık olması kuvvetle muhtemeldir. Tıbbi papatya uçucu yağları kamazulen (mavi) ve bisabololce zengin olanlar olarak iki tiptir. Bisabololce zengin uçucu yağlarda yetiştirme bölgelerine göre bisabolol oksit A % 3-54, bisabolol oksit B % 4-51 ve α -bisabolol % 2-59 oranında bulunmaktadır (Lawrence, 1996). Bu araştırmada kullanılan papatya suyu ekstresinde 1,8-sineol % 11, kafur % 12, borneol % 10, α -terpineol % 9 ve α -bisabolol oksit A % 7 oranındadır. Bu bulgu bisabolol içeren bir hammaddeyi işaret etmekte ise de % 32 oranındaki karvakrol üretim aşamasındaki ve mikrobiyal kirlilik olarak 3 şişeden sadece birinde az da olsa koliform bakteriye rastlanması şişe temizliği ile üretim ve/veya dolum esnasındaki kontaminasyonu göstermektedir.

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 firmanın diğer yağ altı sularında da bulunduğunu göstermiştir. Bu durum distilasyon ünitelerinin hammadde değişimi sırasında yeterince temizlenmeden, yıkanmadan kullanıldığı düşüncemizi doğrulamaktadır. Farklı yağ altı sularında karvakrol bulunuşu kullanan kişilerde istenmeyen etkilerin ortaya çıkmasına neden olacaktır, bu şekilde kullanılmaları sakıncalıdır. Distilasyon ürünü olarak steril olması beklenen ürünlerin bazılarında gözlenen standart üstü bakteri sayıları şişe temizlikleri ve dolum sırasındaki hijyen kurallarına uyulmadığını göstermektedir.

Yağ altı sularının;

- Hammadde kalitesinin belirlenerek üretime alınması,
- Üretim tesislerinin özellikle hammadde değişimi aşamalarında itina ile yıkanması,
- Ambalajların renkli cam şişe olarak seçilmesi ve sterilizasyonunun yapılması,
- Yağ altı sularında uçucu yağ zerreciklerinin itina ile ayrılması,
- Filtrasyonun titizlikle yapılması,
- Dolum esnasında ortamın ve işçilerin hijyen kurallarına uygunluğunun sağlanması,
- Son kullanma tarihleri ve saklama koşullarının ambalaj üzerinde yer alması

önerilmektedir.

Halkımızın hekim ve eczacısına danışmadan kontrolsüz olarak dahilen tükettiği bu ve benzeri ürünlerin üretim izni ve kontrollerinin en kısa sürede Sağlık Bakanlığı izin ve denetimine verilmesi gereklidir.

KAYNAKLAR

- Akalın, E., Alpınar, K., Tekirdağ'ın tıbbi ve yenen yabancı bitkileri hakkında bir araştırma, Ege Üniv. Ecz. Fak. Derg., 2 (1), 1-11 (1994).
- Akman, M., Su, Süt ve Türevlerinin Rutin Bakteriolojik Muayeneleri, Ege Mat., Ankara (1961).
- Alan, S., Altintas, A., Demirci, B., Koca, F., Baser, K.H.C., 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, AB_416 (2008).
- ANONYMOUS a, İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik, 17.02.2005 tarihli 25730 nolu Resmi Gazete, Ankara, Türkiye (2005).
- Arslandere, Ö., Yağ Altı Sularının Kimyasal Bileşimi, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye (2002).
- Banwart, G.J., Basic Food Microbiology, AVI Book, New York, Publishing Company Inc., Westport, Connecticut, 2, P-519 (1989).
- Başer, K.H.C., Honda, G., Miki, W., Herbs drugs and herbalist in Turkey, Institute for the study of languages and cultures of Asia and Africa, İngilizce-Türkçe, Tokyo (1986).
- Başer, K.H.C., Essential oils from aromatic plants which are used as herbal tea in Turkey, K.H.C. Başer (Ed.), Flavours, Fragrances and Essential Oils, Proceedings of the 13th International Congress of Flavours, Fragrances and Essential Oils, AREP Publ., 15-19 Ekim, İstanbul, 67-79 (1995).
- Başer, K.H.C., Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin İlaç ve Alkollü İçki Sanayiinde Kullanımı, İstanbul Ticaret Odası, 39, İstanbul (1997).
- Başer, K.H.C., Gülbaba, A.G., 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).
- Başer, K.H.C., The Turkish *Origanum* species, In: Oregano, The Genera *Origanum* and *Lippia*, Kitzios, S.E. (Ed.), Taylor & Francis, Londra, 109-126, (2002).
- Başer, K.H.C., Kürkçüoğlu, M., Özek, T., Turkish rose oil research: Recent Results, Perfum. Flav., 28, 34-42 (2003).
- Başer, K.H.C., Kürkçüoğlu, M., Turkish Rose Oil: The Queen of Essential Oils, Link Nat. Prod. Digest, 4 (1), 21-24 (2008).
- Bayrak, A., Şencan, D., Gülyağından Gülsuyuna Geçen Bazı Monoterpen Alkollerin Gaz Kromatografisiyle Belirlenmesi, Standard, 70-77 (Aralık 1995).
- Baytop, T., Osmanlı İmparatorluğu Döneminde Anadolu'da Yağ Gülü Yetiştirilmesi ve Gül Yağı, Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bült., 4, 8-10 (1990).

Baytop, T., Türkçe Bitki Adları Sözlüğü, Atatürk Kültür, Dil ve Tarih Yüksek Kurumu Yayınları, 578, Ankara, 1994.

Baytop, T., Türkiye Tıbbi Bitkileri, florası ve Türk Eczacılık Tarihine Katkıları, İstanbul, 1995.

Baytop, T., Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi, Geçmişte ve Bugün, Nobel Tıp Kitapevleri, 2, Baskı, İstanbul (1999).

Blumenthal, M., Busse, W. R., Goldberg, A., Gruenwald, J., Hall, T., Riggins, C. W., Rister, R. S., The Complete German Commission E Monographs-Therapeutic Guide to Herbal Medicines, American Botanical Council Austin, Texas, Integrative Medicine Commissions Boston, Massachusetts (1998).

Boydağ, İ., *Origanum onites* L. (Kekik) Yağ Altı Suyunun Uçucu Bileşikleri, Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye (2004).

Chaslus, E., Lafont, JP., Guillot, JF., Inc Groups Among Plasmids Harbored by *Escherichia coli* of Avian Origin, Ann Microbiol Paris, 203-206 (1980).

Davis, P. H., Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Edinburgh University Press, 7, 297-313 (1982).

Dinçer, S., Matyar, F., Sönmez, N., Seyhan Nehrinin Fekal Kirlilik Düzeyi ve Fekal Koliformların Antibiyotik Hassasiyetleri, 12. Biyoteknoloji Kongresi, Ayvalık (2001).

Duke, J.A., Handbook of Medicinal Herbs, CRC Press Boca Ratan, Florida (1986).

Eaton, A.D., Clesceri, L.S., Rice, E.W., Greenberg, A.E., Standard Methods For the Examination of Water & Wastewater, 21st edition, 2005.

Ersoy, Y., Bayraktar, M., Fırat, M., Yağmur, M., Durmaz, R., Klinik Örneklerden İzole Edilen Enterokok Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları, Ankem Dergi, 19 (2), 92-96 (2005).

ESCOP, “*Melissae folium*” Monographs on the Medicinal Uses of Plant Drugs, Exeter, U.K: European Scientific Cooperative on Phytotherapy, 1997.

Freiser, H., Solvent Extraction, In: An Introduction to Separation Science, Korger, B.L., Snyder, L.R., Horwath, C. (Eds.), John Wiley and Sons, New York (1973).

Gallori, S., Flamini, G., Bilia, A.R., Morelli, I., Landini, A., Vincieri, F.F., Chemical Composition of some Traditional Herbal Drug Preparations: Essential Oil and Aromatic Water of Costmary (*Balsamita suaveolens* Pers.), J. Agric.Food Chem., 49, 5907-5910 (2001).

Gökçe, N., Karlıkaya, E., Ökalyptus (*Eucalyptus Globulus*): Sıtma Ağacı, Trakya Üni. Tıp Fak. Der., 19 (3-4), 189-194 (2002).

Guenther, E., The Essential Oils, Ciltler I-VI, Robert E. Krieger Publishing Co., Inc., Malabar, Florida (1948).

Gürsoy, O.V., Gürsoy, U.K., Anadolu'da Diş ve Diş Eti İle İlgili Hastalıkların Tedavisinde Halk Arasında Yaygın Olarak Kullanılan Bitkiler, Kullanım Şekilleri ve Bitkisel Özellikleri, Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 7 (1), 2004.

Güzel, N.S., *Vitex agnus-castus* Uçucu Yağının bileşimi ve Bazı Diterpenlerinin ve Seskiterpenlerinin İzolasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye (2002).

Halkman, A.K., Gürgün, V., Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri, Gıda Teknolojisi Derneği, Yayın No: 7, 2, Ankara (1990).

Halkman, A.K., Gürgün, V., Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, 2, Ankara (2000).

Hamm, W., Liquid-Liquid Extraction in the Food Industry. In: Handbook of Solvent Extraction, Lo, T.C., Baird, M.H.I., Hanson, C. (Eds.), John Wiley and Sons, U.S.A., 1983.

Honda, G., Yeşilada, E., Tabata, M., Sezik, E., Fujita, T., Takeda, Y., Takaishi, Y., Tanaka, T., Traditional Medicine in Turkey VI. Folk Medicine in West Anatolia: Afyon, Kütahya, Denizli, Muğla, Aydın provinces, J. Ethnopharmacol., 53, 75-87 (1996).

http-1 <http://www.tip.erciyes.edu.tr> (Nisan 2008)

http-2 <http://www.mikrobiyoloji.org> (Nisan 2008)

http-3 <http://www.snowdriftfarm.com/citroflex.html> (Temmuz 2009)

http-4 <http://www.sumikrobiyolojisi.org> (Nisan 2008)

Lawrence, B.M., Reynolds, R.J., The Botanical and Chemical Aspects of Oregano, Perf. Flav., 9, 41-44 (1984).

Lawrence, B.M., Progress in Essential Oils, Perf. Flav., 21 (3), P-55 (1996).

Leung, Y.A., Foster, S., Encyclopedia of Common Naturel Ingredients Used in Food, Drugs and Cosmetics., John Wiley & Sons, Inc, New York (1996).

Kırimer, N., Başer, K.H.C., Tümen, G., Carvacrol-Rich plants in Turkey, Chem. Nat. Comp., 31 (1), (1995).

Kürkçüoğlu, M., Türk Gül Yağı, Konkrete ve Absolüsünün Üretimi ve Özellikleri, Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye (1995).

Nickerson, J.T., Sinskey, A.J., Microbiology of foods and food processing, Elsevier NorthHolland, P-306 (1977).

Öner, M., Genel Mikrobiyoloji, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi, 94, 2001.

Özaslan, A., Adana İçme Suyunda Fekal Koliform Düzeyinin Belirlenmesi ve Antibiyotik Dirençlilik Frekansı, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, Türkiye (2009).

Sezik, E., Yeşilada, E., Uçucu Yağ Taşıyan Türk Halk İlaçları, In: Essential Oils in honour of Prof.Dr.K.Hüsnü Can BAŞER on his 50th birthday, N. Kırimer, A. Mat (Eds.), 98-131, Eskişehir (1999).

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 (1993).

Tümen, G., Sekendiz, O.A., Balıkesir ve Merkez Köylerinde Halk İlacı Olarak Kullanılan Bitkiler, Uludağ Üniversitesi Necatibey Eğitim Fakültesi, Balıkesir (1989).

Tümen, G., Başer, K.H.C., Kırimer, N., The Essential Oils of Origanum Species: A Treatise, In: 13th International Congress of Flavours, Fragrances and Essential Oils, K.H.C. Başer (Ed.), AREP Publ, 15-19 Ekim, İstanbul, 200-210 (1995).

Türk Standartlar Enstitüsü (TSE), Gülsuyu monografi, TS 5555 (1988).

Yeşilada, E., Honda, G., Sezik, E., Tabata, M., Goto, K., Ikeshiro, Y., Traditional Medicine in Turkey IV. Folk Medicine in the Mediterranean subdivision, J. Ethnopharmacol., 39, 31-38 (1993).

Yeşilada, E., Honda, G., Sezik, E., Tabata, M., Fujita, T., Tanaka, T., Takeda, Y., Takaishi, Y., Traditional Medicine in Turkey V. Folk Medicine in inner Taurus Mountains, J. Ethnopharmacol., 46, 133-152 (1995).

EK (http-4)

İçme-Kullanma Suları için:

Parametre	Parametrik değer sayısı / 100 mL
<i>Escherichia coli</i> (E. Coli)	0/100 mL
Enterokok	0/100 mL
Koliform bakteri	0/100 mL

İçme Suları için (İmlahanede):

Parametre	Parametrik değer sayısı / mL
<i>Escherichia coli</i> (E. Coli)	0/250 mL
Enterokok	0/250 mL
Koliform bakteri	0/250 mL
<i>P. aeruginosa</i>	0/250 mL
Fekal koliform bakteri	0/250 mL
<i>Salmonella</i>	0/100 mL
<i>Clostridium perfringens</i>	0/50 mL
Patojen Staphylococlar	0/100 mL
22 °C'de koloni sayısı	100/ mL
37 °C'de koloni sayısı	20/ mL
Parazitler	0/100 mL
Diğer Mikroskopik Canlılar	0/100 mL

Kaynak Suları için:

Parametre	Parametrik değer sayısı / mL
<i>Escherichia coli</i> (E. Coli)	0/250 mL
Enterokok	0/250 mL
Koliform bakteri	0/250 mL
<i>P. aeruginosa</i>	0/250 mL
Fekal koliform bakteri	0/250 mL
Patojen Mikroorganizmalar	0/100 mL
Anaerob sporlu sülfat redükte eden	0/50 mL
Patojen Staphylococlar	0/100 mL
Kaynaktan alınan numunede maksimum: 22 °C'de 72 saatte agar-agar veya agar-jelatin karışımında koloni sayısı 37 °C'de 24 saatte agar-agar karışımında koloni sayısı	20/ mL 5/ mL
Ambalajlanmış sularda ambalajlandıktan sonra maksimum: (Numune, Ambalajlanmayı takiben 12 saat içerisinde alınmak ve bu süre içerisinde 4 °C ± 1 °C'de saklanmış olmak kaydıyla): 22 °C'de 72 saatte agar-agar veya agar-jelatin karışımında koloni sayısı	100/ mL
Parazitler	0/100 mL
Diğer Mikroskopik Canlılar	0/100 mL