



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN
ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



FARKLI ENDEMİK *ORIGANUM* TAKSONLARININ SSR
VE SRAP MARKÖRLERİ İLE GENETİK
ÇEŞİTLİLİĞİNİN BELİRLENMESİ VE BAZI
GIDALARDAKİ ENZİM AKTİVİTELERİ ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Esra TANHAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Mart-2019
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Esra TANHAŞ tarafından hazırlanan “Farklı Endemik *Origanum* Taksonlarının SSR ve SRAP Markörleri ile Genetik Çeşitliliğinin Belirlenmesi ve Bazı Gıdalardaki Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması” adlı tez çalışması 03/05/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan

Prof. Dr. Abdurrahman AKTÜMSEK

Danışman

Prof. Dr. Esra MARTİN

Üye

Doç. Dr. Mustafa YÖNTEM

İmza

.....

.....

.....

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Süleyman Savaş DURDURAN
FBE Müdürü

Bu tez çalışması Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 181315001 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Esra TANHAŞ

Tarih: 28.05.2019

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARKLI ENDEMİK *ORIGANUM* TAKSONLARININ SSR VE SRAP MARKÖRLERİ İLE GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİNİN BELİRLENMESİ VE BAZI GIDALARDAKİ ENZİM AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Esra TANHAŞ

Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Esra MARTİN

2019, 65 Sayfa

Jüri

Prof. Dr. Esra MARTİN
Prof. Dr. Abdurrahman AKTÜMSEK
Doç. Dr. Mustafa YÖNTEM

Bu çalışmada, içlerinde endemik türlerinin de yer aldığı bazı *Origanum* taksonlarına ait bitki örneklerinde moleküler markörlerle bitkiler arasındaki genetik çeşitlilik belirlenmiştir. *Origanum* cinsi için geliştirilmiş SSR (simple sequence repeat) ve SRAP (sequence-related amplified polymorphism) markörlerinin kullanıldığı çalışmada, 18 *Origanum* türüne ait 21 farklı örneğin moleküler genetik çeşitliliği elde edilen 91 polimorfik allel ile analiz edildi. İşaretçi lokusların ortalama polimorfizm bilgi içeriği (PIC) 0,2785 iken, NJ (Neighbor Joining) ile kümeleme analizi minimum ve maksimum benzememezlik değerleri sırasıyla 0,127 ve 0,882 olarak bulunmuştur. Elde edilen verilere göre, *O. syriacum* L. subsp. *bevanii* (Holmes) Greuter & Burdet ve *O. majorana* L. birbirine en uzak iki tür olarak bulunurken, *Origanum onites* L. ve *Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link.) Letswaart birbirine en yakın türler olarak bulunmuştur.

Ayrıca, bazı *Origanum* türlerinin çalışma kapsamında seçilmiş gıda örneklerindeki (kıvırcık marul, ıspanak, mantar, patlıcan ve marul) bazı enzimlerin aktivitelere olan etkileri de bu bitkilerin sulu ekstrakt, hidrosol ve uçucu yağ formları ile incelenmiştir. Bu gıdaların ihtiva ettiği gıdalarda bozulma etmeni peroksidaz (POD), polifenoloksidaz (PPO) ve lipoksigenaz (LOX) gibi enzim grupları üzerinde gerçekleştirilen analizlerin hiçbirinde, söz konusu enzim grubunun tamamen inaktivasyonu sağlanamamıştır. *Origanum* bitki türlerinin doğal bir gıda katkı maddesi olarak potansiyel kullanımı göz önüne alındığında, türler arasındaki ilişkiyle bağlantılı enzim aktivitesi üzerindeki etkilerini anlamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Gıda muhafaza, *Origanum*, SRAP, SSR

ABSTRACT

MS THESIS

DETERMINATION OF GENETIC DIVERSITY OF DIFFERENT ENDEMIC *ORIGANUM* TAXA VIA SSR&SRAP MARKERS AND INVESTIGATION OF THEIR EFFECTS ON ENZYME ACTIVITIES IN SOME FOODS

Esra TANHAŞ

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE
OF NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY

Advisor: Prof. Dr. Esra MARTİN

2019, 65 Pages

Jury

Prof. Dr. Esra MARTİN

Prof. Dr. Abdurrahman AKTÜMSEK

Assoc. Prof. Dr. Mustafa YÖNTEM

In this study, the genetic diversity was determined by molecular markers in some *Origanum* plant samples, including endemic species. Simple sequence repeats (SSR) and sequence-related amplified polymorphism (SRAP) markers which was developed for the genus *Origanum* were used to analyze molecular genetic diversity of 21 different samples of 18 *Origanum* species with obtained 91 polymorphic alleles. While the average polymorphism information content (PIC) of the pointer loci was 0.2785, the minimum and maximum dissimilarity values of clustering analysis with Neighbor Joining (NJ) were found to be 0.127 and 0.882, respectively. According to the obtained data, *O. syriacum* L. subsp. *bevanii* (Holmes) Greuter & Burdet and *O. majorana* L. were found to be the most distant species of each other, while *Origanum onites* L. and *Origanum vulgare* L. subsp. (Link.) Ietswaart was found as the closest species to each other.

Also, the effects of some *Origanum* species on the activities of some enzymes in selected food samples (curly lettuce, spinach, mushroom, eggplant and lettuce) were also investigated with the aqueous extract, hydrosol and volatile oil forms of these plants. In all of the assays carried out on enzyme groups such as peroxidase (POD), polyphenoloxidase (PPO) and lipoxygenase (LOX) which cause degradation in the food samples, no completely inactivation of these enzyme groups has been achieved. Considering the potential use of *Origanum* plant species as a natural food additive, more studies are needed to understand their effect on enzyme activity linked by relationship among species.

Keywords: Food preservation, *Origanum*, SRAP, SSR

ÖNSÖZ

Çalışmalarım esnasında her türlü bilgi ve tecrübesinden yararlandığım ve üzerimde çok büyük emeği ve desteği olan sevgili danışmanım sayın Prof. Dr. Esra MARTİN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, bu tez konusunda her türlü bilgi birikimini benimle paylaşan ve çok büyük yardımlarını gördüğüm değerli hocalarım sayın Dr. Öğr. Üyesi Ali Tevfik UNCU'ya, sayın Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Özgür UNCU'ya, sayın Dr. Öğr. Üyesi Emine Nedime KORUCU'ya, sayın Doç. Dr. Derya ARSLAN DANACIOĞLU'na, sayın Doç. Dr. Gökhan ZENGİN'e ve sayın Araş. Gör. Dr. Fatih ERCİ'ye teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmada kullanılan tüm bitki materyallerinin teminini sağlayan sayın Prof. Dr. Tuncay DİRMENCİ ve ekibine teşekkürü bir borç bilirim.

Bu çalışmayı, yetiştirilmemde emeği geçen ve benden maddi, manevi hiçbir desteği esirgemeyen biricik eşim Eyüp TANHAŞ'a, canım babam Faruk KARAKAŞ'a, sevgili annem Hatice KARAKAŞ'a ve kardeşim Metin KARAKAŞ'a ithaf ederim.

Esra TANHAŞ
KONYA-2019

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	iv
ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
ÇİZELGELER LİSTESİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. <i>Origanum</i> Taksonlarında Genetik Çeşitliliği Saptamada Moleküler Markörlerin Kullanıldığı Bazı Çalışmalar	3
2.2. Bitkilerde Genetik Çeşitliliği Saptamada SSR ve SRAP Markörlerinin Kullanıldığı Bazı Çalışmalar	5
2.3. Gıdalarda Enzim Aktivitesinin Önemi	7
2.4. Gıdalarda Enzim Aktivitesinin Azaltılmasına Yönelik Son Yıllarda Yapılmış Bazı Çalışmalar	9
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	12
3.1. Moleküler Genetik Analizleri	12
3.1.1. Bitki örnekleri	12
3.1.2. DNA ekstraksiyonu.....	14
3.1.3. EST-SSR analizi	14
3.1.4. SRAP analizi.....	15
3.1.5. Veri analiz yöntemi.....	15
3.2. Gıdalarda Enzim Analizleri	16
3.2.1. Bitki örnekleri	16
3.2.2. Gıda örnekleri	16
3.2.3. Ekstrakt, hidrosol ve uçucu yağ eldesi.....	17
3.2.4. Ekstrakt, hidrosol ve uçucu yağın gıda örneklerine uygulanması	17
3.2.5. Enzim aktivite testleri	18
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	20
4.1. Moleküler Genetik Analiz Sonuçları	20
4.1.1. Darwin veri analiz yöntemine ait sonuçlar	21
4.1.2. Structure veri değerlendirme yöntemine ait sonuçlar	23
4.2. Gıdalarda Enzim Aktivitesi Analiz Sonuçları	25

4.2.1. Peroksidaz (POD) aktivitesine ait sonuçlar	25
4.2.2. Polifenoloksidaz (PPO) aktivitesine ait sonuçlar.....	37
4.2.3. Lipoksigenaz (LOX) aktivitesine ait sonuçlar	50
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	56
5.1 Sonuçlar	56
5.2 Öneriler	56
KAYNAKLAR	58
ÖZGEÇMİŞ	64



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 4.1. Me2-Em3 SRAP primerleri kullanılarak <i>Origanum</i> genotiplerinde elde edilen SRAP analizi agaroz jel görüntüsü	21
Şekil 4.2. Mmx 272 EST-SSR primerleri kullanılarak <i>Origanum</i> genotiplerinde elde edilen EST-SSR analizi kapiler elektroforez görüntüsü	21
Şekil 4.3. Çalışmada kullanılan <i>Origanum</i> izolatlarının (1'den 21'e kadar örnek kodu verilmiş) EST-SSR ve SRAP markörleri ile oluşturulan genetik ilişki ağacı.....	22
Şekil 4.4. Çalışmada kullanılan <i>Origanum</i> izolatlarının uzaklık yakınlık ilişkisi bar grafiği.....	23
Şekil 4.5. Çalışmada kullanılan <i>Origanum</i> izolatlarının EST-SSR ve SRAP markörleri ile oluşturulmuş structure grafiği.....	23
Şekil 4.6. Ekstraktla (500 µl) muamele edilmiş kıvrıcık örneklerinin beş günlük depolama süresince POD aktivitelerindeki değişim	26
Şekil 4.7. Hidrosolle (500 µl) muamele edilmiş kıvrıcık örneklerinin beş günlük depolama süresince POD aktivitelerindeki değişim	26
Şekil 4.8. Uçucu yağlarla (5 µl) muamele edilmiş kıvrıcık örneklerinin beş günlük depolama süresince POD aktivitelerindeki değişim	27
Şekil 4.9. Ekstraktla (500 µl) muamele edilmiş kıvrıcık örneklerinin 5 günlük depolama periyodu sonrası görüntüsü (a: Kontrol örneği; b: <i>O. bilgeri</i> ; c: <i>O. majorana</i> ; d: <i>O. minutiflorum</i> ; e: <i>O. onites</i> ; f: <i>O. syriacum</i> subsp. <i>bevanii</i> ; g: <i>O. vogelii</i> ; h: <i>O. vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> sulu ekstraktı uygulanmış örnekler).....	29
Şekil 4.10. Hidrosolle (500 µl) ile muamele edilmiş kıvrıcık örneklerinin 5 günlük depolama periyodu sonrası görüntüsü (a: Kontrol örneği; b: <i>O. bilgeri</i> ; c: <i>O. majorana</i> ; d: <i>O. minutiflorum</i> ; e: <i>O. syriacum</i> subsp. <i>bevanii</i> ; f: <i>O. vogelii</i> hidrosolü uygulanmış örnekler).....	30
Şekil 4.11. Uçucu yağ (5 µl) ile muamele edilmiş kıvrıcık örneklerinin 5 günlük depolama periyodu sonrası görüntüsü (a: Kontrol örneği; b: <i>O. bilgeri</i> ; c: <i>O. majorana</i> ; d: <i>O. minutiflorum</i> ; e: <i>O. syriacum</i> subsp. <i>bevanii</i> ; f: <i>O. vogelii</i> uçucu yağı uygulanmış örnekler).....	31
Şekil 4.12. Ekstraktla (500 µl) muamele edilmiş ıspanak örneklerinin beş günlük depolama süresince POD aktivitelerindeki değişim	32
Şekil 4.13. Hidrosolle (500 µl) muamele edilmiş ıspanak örneklerinin beş günlük depolama süresince POD aktivitelerindeki değişim	32
Şekil 4.14. Uçucu yağlarla (5 µl) muamele edilmiş ıspanak örneklerinin beş günlük depolama süresince POD aktivitelerindeki değişim	33
Şekil 4.15. Ekstraktla (500 µl) muamele edilmiş ıspanak örneklerinin 5 günlük depolama periyodu sonrası görüntüsü (a: Kontrol örneği; b: <i>O. bilgeri</i> ; c: <i>O. majorana</i> ; d: <i>O. minutiflorum</i> ; e: <i>O. onites</i> ; f: <i>O. syriacum</i> subsp. <i>bevanii</i> ; g: <i>O. vogelii</i> ; h: <i>O. vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> sulu ekstraktı uygulanmış örnekler).....	35
Şekil 4.16. Hidrosolle (500 µl) ile muamele edilmiş ıspanak örneklerinin 5 günlük depolama periyodu sonrası görüntüsü (a: Kontrol örneği; b: <i>O. bilgeri</i> ; c: <i>O. majorana</i> ; d: <i>O. minutiflorum</i> ; e: <i>O. syriacum</i> subsp. <i>bevanii</i> ; f: <i>O. vogelii</i> hidrosolü uygulanmış örnekler).....	36
Şekil 4.17. Uçucu yağ (5 µl) ile muamele edilmiş ıspanak örneklerinin 5 günlük depolama periyodu sonrası görüntüsü (a: Kontrol örneği; b: <i>O. bilgeri</i> ; c: <i>O. majorana</i> ; d: <i>O. minutiflorum</i> ; e: <i>O. syriacum</i> subsp. <i>bevanii</i> ; f: <i>O. vogelii</i> uçucu yağı uygulanmış örnekler).....	37
Şekil 4.18. Ekstraktla (500 µl) muamele edilmiş mantar örneklerinin beş günlük depolama süresince PPO aktivitelerindeki değişim.....	38

Şekil 4.19. Hidrosolle (500 µl) muamele edilmiş mantar örneklerinin beş günlük depolama süresince PPO aktivitelerindeki değişim.....	39
Şekil 4.20. Uçucu yağlarla (5 µl) muamele edilmiş mantar örneklerinin beş günlük depolama süresince PPO aktivitelerindeki değişim.....	39
Şekil 4.21. Ekstraktla (500 µl) muamele edilmiş mantar örneklerinin 5 günlük depolama periyodu sonrası görüntüsü (a: Kontrol örneği; b: <i>O. bilgeri</i> ; c: <i>O. majorana</i> ; d: <i>O. minutiflorum</i> ; e: <i>O. onites</i> ; f: <i>O. syriacum</i> subsp. <i>bevanii</i> ; g: <i>O. vogelii</i> ; h: <i>O. vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> sulu ekstraktı uygulanmış örnekler).....	41
Şekil 4.22. Hidrosolle (500 µl) ile muamele edilmiş mantar örneklerinin 5 günlük depolama periyodu sonrası görüntüsü (a: Kontrol örneği; b: <i>O. bilgeri</i> ; c: <i>O. majorana</i> ; d: <i>O. minutiflorum</i> ; e: <i>O. syriacum</i> subsp. <i>bevanii</i> ; f: <i>O. vogelii</i> hidrosolü uygulanmış örnekler).....	42
Şekil 4.23. Uçucu yağ (5 µl) ile muamele edilmiş mantar örneklerinin 5 günlük depolama periyodu sonrası görüntüsü (a: Kontrol örneği; b: <i>O. bilgeri</i> ; c: <i>O. majorana</i> ; d: <i>O. minutiflorum</i> ; e: <i>O. syriacum</i> subsp. <i>bevanii</i> ; f: <i>O. vogelii</i> uçucu yağı uygulanmış örnekler).....	43
Şekil 4.24. Ekstraktla (500 µl) muamele edilmiş patlıcan örneklerinin beş günlük depolama süresince PPO aktivitelerindeki değişim.....	44
Şekil 4.25. Hidrosolle (500 µl) muamele edilmiş patlıcan örneklerinin beş günlük depolama süresince PPO aktivitelerindeki değişim.....	44
Şekil 4.26. Uçucu yağlarla (5 µl) muamele edilmiş patlıcan örneklerinin beş günlük depolama süresince PPO aktivitelerindeki değişim.....	45
Şekil 4.27. Ekstraktla (500 µl) muamele edilmiş patlıcan örneklerinin 5 günlük depolama periyodu sonrası görüntüsü (a: Kontrol örneği; b: <i>O. bilgeri</i> ; c: <i>O. majorana</i> ; d: <i>O. minutiflorum</i> ; e: <i>O. onites</i> ; f: <i>O. syriacum</i> subsp. <i>bevanii</i> ; g: <i>O. vogelii</i> ; h: <i>O. vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> sulu ekstraktı uygulanmış örnekler).....	47
Şekil 4.28. Hidrosolle (500 µl) ile muamele edilmiş patlıcan örneklerinin 5 günlük depolama periyodu sonrası görüntüsü (a: Kontrol örneği; b: <i>O. bilgeri</i> ; c: <i>O. majorana</i> ; d: <i>O. minutiflorum</i> ; e: <i>O. syriacum</i> subsp. <i>bevanii</i> ; f: <i>O. vogelii</i> hidrosolü uygulanmış örnekler).....	48
Şekil 4.29. Uçucu yağ (5 µl) ile muamele edilmiş patlıcan örneklerinin 5 günlük depolama periyodu sonrası görüntüsü (a: Kontrol örneği; b: <i>O. bilgeri</i> ; c: <i>O. majorana</i> ; d: <i>O. minutiflorum</i> ; e: <i>O. syriacum</i> subsp. <i>bevanii</i> ; f: <i>O. vogelii</i> uçucu yağı uygulanmış örnekler).....	49
Şekil 4.30. Ekstraktla (500 µl) muamele edilmiş marul örneklerinin beş günlük depolama süresince LOX aktivitelerindeki değişim.....	50
Şekil 4.31. Hidrosolle (500 µl) muamele edilmiş marul örneklerinin beş günlük depolama süresince LOX aktivitelerindeki değişim.....	51
Şekil 4.32. Uçucu yağlarla (5 µl) muamele edilmiş marul örneklerinin beş günlük depolama süresince LOX aktivitelerindeki değişim.....	51
Şekil 4.33. Ekstraktla (500 µl) muamele edilmiş marul örneklerinin 5 günlük depolama periyodu sonrası görüntüsü (a: Kontrol örneği; b: <i>O. bilgeri</i> ; c: <i>O. majorana</i> ; d: <i>O. minutiflorum</i> ; e: <i>O. onites</i> ; f: <i>O. syriacum</i> subsp. <i>bevanii</i> ; g: <i>O. vogelii</i> ; h: <i>O. vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> sulu ekstraktı uygulanmış örnekler).....	53
Şekil 4.34. Hidrosolle (500 µl) ile muamele edilmiş marul örneklerinin 5 günlük depolama periyodu sonrası görüntüsü (a: Kontrol örneği; b: <i>O. bilgeri</i> ; c: <i>O. majorana</i> ; d: <i>O. minutiflorum</i> ; e: <i>O. syriacum</i> subsp. <i>bevanii</i> ; f: <i>O. vogelii</i> hidrosolü uygulanmış örnekler).....	54
Şekil 4.35. Uçucu yağ (5 µl) ile muamele edilmiş marul örneklerinin 5 günlük depolama periyodu sonrası görüntüsü (a: Kontrol örneği; b: <i>O. bilgeri</i> ; c: <i>O. majorana</i> ; d: <i>O.</i>	

minutiflorum; e: *O. syriacum* subsp. *bevanii*; f: *O. vogelii* uçucu yağı uygulanmış örnekler)..... 55



ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan bitki örnekleri.....	13
Çizelge 3.2. Gıda örnekleri ve içerdiği enzim grupları.....	17
Çizelge 3.3. Gıda örneklerinin depolanma ve analiz yöntemi.....	18
Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan EST-SSR primerlerinin listesi.	20
Çizelge 4.2. Çalışmada kullanılan SRAP primer kombinasyonlarının listesi.	21
Çizelge 4.3. Çalışmada kullanılan <i>Origanum</i> taksonlarının Clusture analiz sonuçları (K değeri: 1-3 aralığında).....	24
Çizelge 4.4. Çalışmada kullanılan <i>Origanum</i> taksonlarının Structure analiz sonuçlarına göre gruplandırılması.....	24
Çizelge 4.5. Ekstraktla (500 µl) muamele edilmiş kıvırcık örneklerinin beş günlük depolama süresince POD aktivitelerindeki (Ünite/mg protein) değişim.....	27
Çizelge 4.6. Hidrosolle (500 µl) muamele edilmiş kıvırcık örneklerinin beş günlük depolama süresince POD aktivitelerindeki (Ünite/mg protein) değişim.....	28
Çizelge 4.7. Uçucu yağ (5 µl) ile muamele edilmiş kıvırcık örneklerinin beş günlük depolama süresince POD aktivitelerindeki (Ünite/mg protein) değişim.....	28
Çizelge 4.8. Ekstraktla (500 µl) muamele edilmiş ıspanak örneklerinin beş günlük depolama süresince POD aktivitelerindeki (Ünite/mg protein) değişim.....	33
Çizelge 4.9. Hidrosolle (500 µl) muamele edilmiş ıspanak örneklerinin beş günlük depolama süresince POD aktivitelerindeki (Ünite/mg protein) değişim.....	34
Çizelge 4.10. Uçucu yağ (5 µl) ile muamele edilmiş ıspanak örneklerinin beş günlük depolama süresince POD aktivitelerindeki (Ünite/mg protein) değişim.....	34
Çizelge 4.11. Ekstraktla (500 µl) muamele edilmiş mantar örneklerinin beş günlük depolama süresince PPO aktivitelerindeki (Ünite/ml) değişim.....	40
Çizelge 4.12. Hidrosolle (500 µl) muamele edilmiş mantar örneklerinin beş günlük depolama süresince PPO aktivitelerindeki (Ünite/ml) değişim.....	40
Çizelge 4.13. Uçucu yağ (5 µl) ile muamele edilmiş mantar örneklerinin beş günlük depolama süresince PPO aktivitelerindeki (Ünite/ml) değişim.....	40
Çizelge 4.14. Ekstraktla (500 µl) muamele edilmiş patlıcan örneklerinin beş günlük depolama süresince PPO aktivitelerindeki (Ünite/ml) değişim.....	45
Çizelge 4.15. Hidrosolle (500 µl) muamele edilmiş patlıcan örneklerinin beş günlük depolama süresince PPO aktivitelerindeki (Ünite/ml) değişim.....	46
Çizelge 4.16. Uçucu yağ (5 µl) ile muamele edilmiş patlıcan örneklerinin beş günlük depolama süresince PPO aktivitelerindeki (Ünite/ml) değişim.....	46
Çizelge 4.17. Ekstraktla (500 µl) muamele edilmiş marul örneklerinin beş günlük depolama süresince LOX aktivitelerindeki (Ünite/ml) değişim.....	52
Çizelge 4.18. Hidrosolle (500 µl) muamele edilmiş marul örneklerinin beş günlük depolama süresince LOX aktivitelerindeki (Ünite/ml) değişim.....	52
Çizelge 4.19. Uçucu yağ (5 µl) ile muamele edilmiş marul örneklerinin beş günlük depolama süresince LOX aktivitelerindeki (Ünite/ml) değişim.....	52

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

% : Yüzde
bp : Base Pair
dk : Dakika
g : Gram
Gst: Moderate Genetic Differentiation
L : Litre
M : Molarite
ml : Mililitre
mM : Milimolar
ng: Nanogram
nm : Nanometre
°C : Santigrad Derece
sn : Saniye
U : Ünite
µl : Mikrolitre
µM : Mikromolar

Kısaltmalar

AFLP : Amplified Fragment Length Polymorphism
CAPS: Cleaved Amplified Polymorphic Sequences
cDNA : Chloroplast Deoxyribonucleic Acid
CTAB : Cetyltrimethyl-Ammonium Bromide
DNA : Deoxyribonucleic Acid
dNTP : Deoxyribonucleotide Triphosphate
EDTA : Etylendiamintetraaceticacid
EST : Expressed Sequence Tags
H₂O₂ : Hidrojen Peroksit
ISSR : Inter Simple Sequence Repeats
ITS: Internal Transcribed Spacer
LOX : Lipoksigenaz
MgCl₂ : Magnezyum Klorür
Na₂HPO₄ : Disodyum Hidrojen Fosfat
NaCl : Sodyum Hidroklorür
NJ : Neighbor Joining
PCR : Polymerase Chain Reaction
PIC : Polymorphism Information Content
POD : Peroksidaz
PPO : Polifenoloksidaz
PVP : Polyvinylpyrrolidone
RAPD : Randomly Amplified Polymorphic DNA
RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism
RNA : Ribonucleic Acid
SAMPL: Selective Amplification of Microsatellite Polymorphic Loci
SRAP : Sequence-Related Amplified Polymorphism
SSR : Simple Sequence Repeats

subsp.: Subspecies

Tris : Tris (hidroksil metil) Aminometan

Tris-HCl : Tris Hidroklorür

UPGMA : Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean

UV : Ultraviolet

var. : Varyete



1. GİRİŞ

Origanum (Lamiaceae), gıda ve sağlık alanında çeşitli amaçlar için kullanılan yüksek değerli tıbbi ve aromatik bitki türlerinden biridir. Bu cinsin pek çok türünün, dünya ticaretinde şifalı ot, baharat, ilaç ve kozmetik endüstrilerinde hammadde olarak kullanımı yerel pazarlarda önem arz eder (İnce ve ark., 2014). *Origanum* cinsi güçlü aromatik bitkiler olmakla birlikte, bu cinsin türleri arasında morfolojik ve kimyasal olarak yüksek miktarda çeşitlilik mevcuttur. Temel kimyasal kompozisyonunu karvakrol, timol, linalool ve p-simen gibi fenolik bileşenler oluşturmaktadır. *Origanum* türleri genellikle antispazmodik, antimikrobiyal, balgam söktürücü gibi etkilere sahip olması nedeniyle halk arasında da tedavi amaçlı çay ve/veya baharat olarak kullanımı yaygın bitkilerdir (Başer ve Kırimer, 2006).

Günümüzde tıbbi bitkiler ilaç keşfi için yeni ve biyoaktif moleküller olabilme potansiyeli nedeniyle önemli bir araştırma alanı haline gelmiştir. *Origanum* cinsi, antifungal, anti-hiperglisemik, antibakteriyel, antitrombin ve antioksidan aktivite gibi çeşitli biyolojik aktiviteleri gösterdiği rapor edilen bir bitkidir ve pek çok çalışma, *Origanum* cinsinin bu antioksidan etkilerinin bitkinin sahip olduğu karvakrol ve timol gibi ana bileşenlerle ilişkili olabileceği yönündedir (Chishti ve ark., 2013; Elezi ve ark., 2013).

Origanum taksonları yüksek çeşitlilikte barındırdıkları ikincil metabolitler sayesinde günümüz bilim dünyasının ilgisini çekmekte olup, özellikle insan sağlığına yönelik geliştirilmeye çalışılan yeni nesil ilaçların tasarlanması noktasında büyük önem taşımaktadır. Ülkemiz topraklarında yetişen bu endemik taksonlara ait çalışmalar mevcut olmakla birlikte kısıtlı sayıda bulunmakta ve böylesine önemli bir materyal için geniş kapsamlı bir çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Gıdalarda, mikrobiyolojik nedenlerin yanı sıra gıdanın ihtiva ettiği bazı enzim gruplarının da bozulma etmeni olduğu bilinmektedir. Genellikle yeşil yapraklı sebzelerde peroksidaz (POD), polifenol oksidaz (PPO) ve lipoksigenaz (LOX) gibi enzimlerin varlığı ve bunların aktivitelerindeki artış, gıdanın raf ömrü süresince duyusal kalitesinde bozulmalara sebep olabilmektedir. Son yıllarda minimum işlem görmüş gıdaları tüketmeye karşı giderek artan ilgi nedeniyle, bu enzimlerin aktivitelerinin, eliminasyonu ya da inhibisyonu için gıda sanayiinde hali hazırda mevcut fiziksel ve kimyasal yöntemlerin dışında geliştirilebilecek alternatif yöntemlere olan ihtiyaç da giderek artmaktadır.

Bu çalışma kapsamında, farklı *Origanum* taksonlarının moleküler anlamda akrabalık ilişkisi genetik çeşitliliği saptamada sıklıkla kullanılan SSR ve SRAP markörleri ile belirlenmiştir. Buna ilaveten, cinsin bazı türlerinden elde edilmiş sulu ekstraktların, hidrosollerin ve uçucu yağların seçilmiş bazı gıda örneklerinde raf ömrü (5 gün) süresince duyu kalitede bozulmaya sebep olabilecek bazı enzim gruplarının (peroksidaz, polifenoloksidaz, lipoksigenaz) aktiviteleri üzerine etkileri incelenmiştir.



2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. *Origanum* Taksonlarında Genetik Çeşitliliği Saptamada Moleküler Markörlerin Kullanıldığı Bazı Çalışmalar

Günümüzde, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) temelli DNA markör sistemleri çevre koşullarından etkilenmemeleri, ekonomik, kolay uygulanabilir ve polimorfik olma özelliklerinden dolayı pek çok genetik çalışmada yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu markör sistemleri dominant ve kodominant moleküler markör olarak ikiye ayrılır. PCR esaslı bu markör sistemlerinin kullanımı, birçok tıbbi ve aromatik bitkinin moleküler genetik çeşitliliğini belirleme çalışmalarında da büyük önem arz etmektedir (Weber ve May, 1989; Liu, 1998, Nybom ve Weising, 2007; Karadut ve Kafkas, 2013).

Literatüre bakıldığında, *Origanum* cinsine ait moleküler genetik çeşitlilik konusundaki çalışmaların oldukça sınırlı sayıda olduğu (Klocke ve ark., 2002; Ayanoğlu ve ark., 2006; Azizi ve ark., 2009; Katsiotis ve ark., 2009) ve bu çalışmaların çoğunda RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) ve SAMPL (Selective Amplification of Microsatellite Polymorphic Loci) gibi dominant markör sistemlerinin kullanıldığı görülmektedir. Yapılan diğer çalışmaların ise cinse ait türlerin genetik çeşitlilik çalışmalarının bugüne kadar bitki boyu, yaprak uzunluğu, yaprak genişliği, gövde rengi, yaprak rengi ve çiçek biçimi gibi morfolojik özelliklere (Kitiki ve ark., 1997; Gündüz ve Özörgücü, 1999; Novak ve ark., 2002; Farías ve ark., 2010) ya da bitkinin kimyasal kompozisyonuna (Gounaris ve ark., 2002; Elezi ve ark., 2013; De Mastro ve ark., 2017) dayandığı görülmektedir. Ancak bahsi geçen bu özellikler iklim, yetiştirme koşulları, hasat ve muhafaza yöntemi gibi çeşitli çevre koşullarının etkisiyle kolayca değişebilir olup, her zaman aynı sonuçları veren bitkinin nükleotit ve DNA parmak izi bilgisi hakkında sınırlı sayıda mevcut moleküler çalışmalara olan ihtiyacı da ortaya çıkmaktadır (Ayanoğlu ve ark., 2006; Katsiotis ve ark., 2009). Doğal popülasyonlarda moleküler genetik çeşitliliğin belirlenmesi, ıslah programlarında alel kaynağı genotiplerin belirlenmesi ve germplazm koleksiyonlarındaki fazlalık oranının azaltılması açısından türlerin genetik karakterizasyonunda büyük önem taşımaktadır (Ayanoğlu ve ark., 2006).

Klocke ve ark. (2002) RAPD markör sistemiyle *Origanum majorana* L.'de tür içi DNA parmak izi analizi gerçekleştirmişlerdir. Çalışma sonucunda, paçal örneklerden DNA izole edilerek gerçekleştirilen RAPD analizlerinin tek bitki örneklerinde gerçekleştirilen analizlere göre daha güvenilir sonuç verdiği önerilmiştir.

Bir başka çalışmada Ayanoglu ve ark. (2006), 43 *Origanum onites* L. ve 1 *Origanum vulgare* L. türünden oluşan koleksiyonu AFLP markörü kullanarak genetik çeşitlilik açısından incelemişlerdir. Toplamda skorlanan 294 bant için Jaccard benzerlik katsayısının kullanıldığı UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) analizi ile örnekler 7 ana grup altında toplanmıştır. Bitki örneklerinin toplandığı bölgelere göre ise aralarında nispeten düşük bir genetik benzerlik (%0,396 – 0,72) saptandığı ve *O. onites*'in yüksek miktarda tür içi çeşitlilik barındırdığı bildirilmiştir.

Azizi ve ark. (2009) ise 42 farklı oregano (*Origanum vulgare*) örneğinde tür içinde genetik çeşitlilik ve alt tür ayırımını AFLP ve SAMPL markörlerini kullanarak gerçekleştirmiş. Söz konusu markörler ile ölçülen örneklere ait ortalama genetik benzerlik değerlerinin sırasıyla 0,54 ve 0,42 olduğunu tespit etmişlerdir. Bu sonuçların aynı zamanda istatistiksel açıdan anlamlı olduğu saptanan UPGMA küme analiz (Dice benzerliğine dayalı) sonuçlarını da desteklediği bildirilmiştir. Araştırmacılar AFLP ve SAMPL arasındaki korelasyondan yola çıkarak, farklı moleküler markör sistemlerin birlikte kullanımının farklı polimorfik bölgeleri saptamada daha etkili olacağı sonucuna varmışlardır. Bu şekilde yapılacak bitki taksonomi ve genetik çeşitlilik/benzerlik ilişkilerini çözümleme çalışmalarının daha iyi sonuçlar vereceğini belirtmişlerdir.

2009 yılında yapılan başka bir çalışmada ise Katsiotis ve arkadaşları, *O. vulgare* türüne ait alt grupların belirli gen bölgelerini (14 ITS1-5.8S-ITS2) sekanslayıp örneklerin filogenetik analizini gerçekleştirmişlerdir. Ayrıca, *O. vulgare* subsp. *hirtum*'a ait gen kaynaklarının çeşitliliğini RAPD markörle incelemeye çalışmışlardır. Bu amaçla yapılan çalışmada 133 tekrarlanabilir bant elde edilirken, Jaccard benzerlik katsayısının kullanıldığı UPGMA dendrogramı ile bitki örnekleri iki farklı ana gruba ayrılabilmiştir. Sonuç olarak, *O. vulgare* subsp. *hirtum* populasyonunun *O. onites* ve *O. virens* L. türlerinden tamamen farklı olduğu bildirilmiştir.

Taşcıoğlu ve ark. (2018) yaptıkları çalışmada *Origanum* cinsine ait Türkiye'de doğal olarak yetişen 22 türün (24 taksona ait) genetik çeşitliliğini, Türkiye'nin Akdeniz, Doğu Anadolu, İç Anadolu ve Karadeniz bölgelerinden gelen herbaryum örnekleri ile incelemişlerdir. Bu çalışmaya göre, 25 SRAP primer çiftinden ve 6 EST-SSR primerinden 325 alelin elde edildiği çalışmada, bireyler arasındaki genetik ilişkiyi

belirlemeye çalışmışlardır. Moleküler çeşitliliğin kabaca 1980'de Ietswaart'ın önerdiği taksonomiye tekabül ettiği bildirilirken, aynı zamanda seksiyonlar ve türler arasındaki melezleşmenin bunların yakınsaklığıyla ve/veya farklılaşmasıyla da sonuçlanabileceğini bildirmişlerdir.

2.2. Bitkilerde Genetik Çeşitliliği Saptamada SSR ve SRAP Markörlerinin Kullanıldığı Bazı Çalışmalar

SSR markörler, genel olarak 1 ile 6 bp arasında değişen tekrarlı DNA dizi bölgeleri olarak tanımlansa da bu sayının minimum 2 ve maksimum 8 bp arasında değişebildiği de bildirilmiştir. Oldukça polimorfik olmalarından dolayı birbirine çok yakın genotipleri ayırt etmede büyük kolaylık sağlamanın yanı sıra, hibridite ve saflık testlerinde de çok kullanışlı bir sistemdir (Uncu ve ark., 2015). Basit sekans tekrarları, özellikle bitki moleküler genetik çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Çünkü bu markörler yüksek seviyede polimorfizm gösterir olmaları, yüksek tekrar edilebilirlikleri ve genomda rastlanma sıklıkları sayesinde kapsamlı genomik bilgi sağlama özelliğine sahiptir (Powell ve ark., 1996).

SRAP markörü, her biri, ileri primerde CCGG ve ters primerde AATT'den oluşan ortak bir motifle rastgele diziler içeren iki primeri birleştirir. Bu motifler, protein kodlayan bölgelerin GC bakımından zengin kodonları olup, AT bakımından zengin bölgeler içerdiği için gen bölgeleri ile ilişkili bir polimorfizm üretmek için gereklidir. SRAP işaretleme sistemi gen haritalama, gen etiketi, genomik ve cDNA parmak izi analizi, klonlama gibi çeşitli amaçlar doğrultusunda kolayca uyarlanabilmektedir. Diğer sistemlere göre basit uygulanabilirliği, farklı markör sistemleri ile kombinasyon halinde kullanılabilirliği, bantların kolay izolasyonu gibi birçok avantajı vardır (Li ve Quiros, 2001). SRAP, pek çok marköre nazaran daha duyarlı, daha yüksek ayırt etme kapasitesine sahip ve reaksiyon başına birden fazla polimorfik bant tespit edebilme potansiyeline sahip bir markör sistemidir. Bu özellikleriyle *Origanum* cinsi için türler arası genetik ilişkileri ve üreme stratejilerini belirlemede ve genetik kaynakların kontrolünde uygulanabilir bir yöntemdir (Amar ve Wahab, 2013).

SRAP markör sistemi ilk olarak 2001 yılında Li ve Quiros tarafından *Brassica*'da gen haritalama ve etiketleme çalışmaları ile tanıtılmıştır. Bu amaçla, SRAP ve AFLP markörleri *Brassica oleracea* L.'nın genetik haritasının ilk örneğini

oluşturması açısından birlikte kullanılarak alifatik glukosinolatların desatürasyonunu düzenleyen GLS-ALK geni haritalanmıştır.

Bir başka çalışmada ise SRAP markörü, 58 faba fasulyesi (*Vicia faba* L.) genotipi arasındaki genetik çeşitlilik ve ilişkiyi araştırmak için kullanılmıştır. 14 SRAP primer kombinasyonu ile 1036 farklı büyüklükte polimorfik pik elde edilmiş ve PIC değeri 0,96 hesaplanmıştır. Benzerlik yüzdelerinin %2-%65 arasında değiştiği genotipler arasında ortalama benzerlik oranı %21 olarak bulunmuştur. UPGMA analizinde %28'lik bir benzerlikle genotipler, genotiplerin %78'ini oluşturan üç ana grupta toplanabilmiştir (Alghamdi ve ark., 2012).

Dendrobium loddigesii Rolfe'de genetik çeşitliliği değerlendirmek için, Cai ve arkadaşlarının (2011) güney Çin'de 7 farklı popülasyondan 92 farklı doku ile elde ettiği SRAP polimorfizm düzeyleri (%27,71-68,83) popülasyonlar arasında belirgin olarak farklılık gösterse de, moleküler varyasyon ve coğrafi yer arasında herhangi bir korelasyon bulunamamıştır. Moleküler varyans analizi sonucu ise popülasyonlarda genetik varyasyon olduğunu göstermiştir ($Gst = 0,304$).

Literatür incelendiğinde son yıllarda SSR markör sistemlerinin de genetik çeşitlilik analizlerinde yaygın bir şekilde kullanıldığı görülmektedir: *Lagerstroemia speciosa* (L.) Pers. (Jayakumar ve ark., 2014); susam (Uncu ve ark., 2015); pirinç (Mao-bai, 2015); çilek (Meng ve ark., 2015); kayısı (Khadivi-Khub ve ark., 2015); *Paeonia* L. (Guo ve ark., 2017).

Farklı *Origanum* türlerini ayırt etmek ve bu türlerin içindeki moleküler genetik çeşitliliği incelemek için Novak ve arkadaşları (2008), *O. vulgare* ve *O. majorana* için polimorfik olan 13 adet eksprese edilmiş sekans etiketi-tek sekans tekrarlı (EST-SSR) markörleri geliştirmişlerdir. Bir başka çalışmada ise Antalya, Türkiye'den toplanmış *Lamiaceae* familyasından 12 cins için transfer edilebilir 52 EST-SSR markörü geliştirilmiştir (Karaca ve ark., 2013). Daha yakın tarihli diğer bir çalışmada Antalya, Türkiye'den toplanmış sekiz *Origanum* türü için 30 yeni SSR ve CAPS (cleaved amplified polymorphic sequences) markörleri geliştirilmiştir (İnce ve ark., 2014).

Jayakumar ve arkadaşları (2014), 12 farklı Banaba (*L. speciose*) popülasyonundan elde edilen 42 örnekle gerçekleştirdikleri SSR analiz sonuçlarını, bitkinin korosolik asit içerikleri ile ilişkilendirmişlerdir. Ortalama polimorfizm bilgi içeriği (PIC değeri) 0,67 bulunurken, gözlenen heterozigotluk değerinin 0,39 ile beklenen değerden (0,28) orta derecede yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca Cluster analizinin, güneybatı Gath bölgesinin doğusundan ve batısından toplanmış bu

örneklerin genetik olarak birbirinden farklı olduklarını gösterdiği de rapor edilmiştir. Buna ilaveten, ortalama korosolik asit içeriği güney bölgesinden toplanan örneklerde kuzeyden toplananlara kıyasla daha düşük bir oranda (%0,064) bulunduğu da verilen diğer bilgiler arasındadır.

Bir başka çalışmada, Uncu ve ark. (2015) geliştirdikleri 933 susam spesifik markörü ile dünyadaki katılım koleksiyonunun moleküler genetik çeşitliliğini ve popülasyon yapısını analiz etmişlerdir. Çalışma sonucunda genetik benzerlik ile coğrafi yakınlık arasında bir ilişki olduğu rapor edilmiştir.

Son on yılda dominant markör sistemleri, bitki biyolojisinde genetik çeşitliliğin araştırılması için standart bir araç haline gelmiştir. Özellikle bu markörlerin rastgele primerlerden amplifikasyonundan dolayı seçici olarak nötr oldukları varsayımı, sistematik araştırmalarda kullanılmalarını arttırmıştır. Dominant markörler çoğunlukla moleküler fenotipik (bantların varlığı/yokluğu) veya genotipik (allel frekanslar) verilerin skorlanmasına dayalı popülasyon genetik istatistiklerini tanımlamak için kullanılmıştır (Robarts ve Wolfe, 2012).

2.3. Gıdalarda Enzim Aktivitesinin Önemi

Günümüzde, gıdaların raf ömrünü arttırmak için biyolojik koruma yöntemlerinin geliştirilmesine yönelik yapılan çalışmaların sayısı giderek artmaktadır. Özellikle doğal ve tüketiciler tarafından sağlıklı olduğu düşünülen organik gıda tüketimine artan ilgi nedeniyle, gıda işleme proseslerinde, gıdanın duyu kalitesine ve besin değerine zarar vermeyen alternatif yöntemlerin geliştirilmesine yönelik yapılmış pek çok çalışma mevcuttur. Mevcut çalışmaların çoğu, antioksidan, antimikrobiyal bitki kaynaklı maddelerin kullanımıyla gerçekleştirilmiş olup, yapılan ön işlemler genellikle gıdanın mikrobiyal kalitesi ile ilişkilendirilmiştir (Sultanbawa, 2011).

Gıdada mevcut mikrobiyolojik aktivitenin yanı sıra gıda ürününün ihtiva ettiği bozulma etmeni enzim gruplarının aktivitesi de gıdanın raf ömrünü olumsuz etkileyebilecek önemli bir husustur. Ancak, gıdanın duyu kalitesini olumsuz etkileyen enzim aktivitesine ilişkin sınırlı sayıda mevcut literatür çalışmalarına bakıldığında, bunların pek çoğunun sağlıklı olmayan kimyasal maddelerle gıda materyalinin muamele edilmesi ya da gıdanın tekstüründe olumsuz etkiler bırakabilecek fiziksel, kimyasal veya ısıl ön işlemler şeklinde olduğu görülmektedir (Mousavizadeh ve Sedaghatthoor, 2011).

Meyve ve sebzelerde istenmeyen bazı enzimlerin inhibisyonu, genellikle, ısıtma, pH veya su aktivitesi (a_w)' nin düşürülmesi veya kimyasal katkı maddeleri eklenmesi gibi fiziksel ya da kimyasal işlemler kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Kimyasallarla yapılan ön işlemler, enzimlerin inaktive edilmesinin mükemmel bir yoludur; ancak, ürünün besleyici ve duyu niteliklerinde hasarlar oluşturabilir. Tüketiciler ise genellikle, doku, lezzet ve görünüm gibi kalite özelliklerini kaybetmemiş tüketime uygun hazır taze ürünleri tercih etmektedir (Ponce ve ark, 2004).

Meyve ve sebze dokularında çoğunlukla polifenoloksidaz ve peroksidaz enzimlerinden ileri gelen enzimatik kahverengileşme, ekonomik açıdan hammadde kayıplarına neden olabilmekle birlikte, gıda işleme ve depolama sırasında istenmeyen kalite değişikliklerine de sebep olabilir. Çoğu taze gıdada bulunan bu enzimler, istenmeyen ve istenen değişikliklere neden olma özelliğine sahip olduğundan, gıdanın doğal olarak ihtiva ettiği bu enzimlerin kontrolü gıda teknolojisinde önemli bir husustur. Bu nedenle minimum işlem görmüş meyve ve sebzelerin raf ömrünü uzatmak için yapılan birçok çalışma, kahverengileşmeyi önleme yöntemlerine odaklanmıştır. Bu amaçla, sülfür dioksitten farklı olarak çeşitli indirgeyiciler, asitler, şelatlama maddeleri, inorganik tuzlar gibi maddeler yaygın olarak kullanılanlardır (Ponce ve ark., 2004).

Polifenoloksidazlar (PPO) ilk olarak 1856'da Schoenbein tarafından mantarlarda bildirilen bakır içeren proteinlerdir ve oksidoredüktaz grubuna aittirler (Whitaker ve Lee, 1995). Tirozinaz, fenoksi, katekol oksidaz, monofenol oksidaz, kresolase ve katekolaz olarak da bilinen polifenol oksidaz (1,2-benzendiol: oksijen oksidoredüktaz; EC 1.10.3.1), meyve ve sebzelerde işleme, depolama ve tüketimi esnasında kesim anından itibaren oluşmaya başlayan esmerleşme reaksiyonlarından sorumlu oksidaz enzimlerindedir. Söz konusu enzimatik esmerleşme, gıdada yalnız renk değişimine sebep olmakla kalmaz aynı zamanda istenmeyen tat, koku ve besin değeri kayıplarına da yol açar. Gıda muhafazasında genellikle sülfidler ve bunların türevleri, bu tip kararma reaksiyonlarına engel olur ancak bunların kullanımı astım hastalarında alerjik reaksiyonlara neden olabilmektedir. Bu nedenle sülfat gibi kimyasal maddeler yerine, meyve ve sebzelerdeki kararmaların önüne geçebilmek adına doğal inhibitörlerin kullanımıyla ilgili yapılan çalışmaların sayısının son zamanlarda arttığı görülmektedir (Whitaker, 1995; Altunkaya ve Gökmen, 2011; Barbagallo ve ark., 2012).

Lipoksigenaz (LOX), çoklu doymamış yağ asitlerinin oksijenlenmesini katalize eden, birçok bitki ve hayvanda bulunan bir enzimdir. Özellikle baklagillerde (fasulye ve bezelye) ve patates yumrularında bol miktarda bulunurlar. Ayrıca kabak, domates,

salatalık, badem ve ceviz lipoksigenazın bulunduğu birkaç gıdaya örnektir. Lipoksigenaz, bitkisel gıda ürünlerinin tat ve renk gibi özellikleri üzerinde belirgin bir etkiye sahip olduğundan, bu gıdaların duyu kalitesinde oluşan bazı olumsuz durumlardan da bu enzim sorumludur (Baysal ve Demirdöven, 2007; Altunkaya ve Gökmen, 2011).

2.4. Gıdalarda Enzim Aktivitesinin Azaltılmasına Yönelik Son Yıllarda Yapılmış Bazı Çalışmalar

Yeşil yapraklı sebzelerin pek çoğunda var olan LOX, POD ve PPO gibi enzimlerin söz konusu gıda ürününün renk, lezzet ve aroma gibi organoleptik özelliklerini etkileyebilecek olmasından ötürü, bu enzimlerin kontrolü de gıda sanayiinde önemli bir sorundur. Literatüre bakıldığında, söz konusu bu enzim aktivitelerinin minimize edilmesine yönelik bitki kaynaklı doğal gıda katkı maddeleriyle yapılan çalışmaların sınırlı sayıda olduğu görülmektedir.

Armut suyundaki PPO enzim aktivitesi üzerine taze soğan suyu ekstraktının ve farklı sıcaklıklarda ısıtılmış soğan suyu ekstraktlarının etkisinin incelendiği bir çalışmada, Kim ve ark. (2005) ekstrakt sıcaklığının (100 °C) ve ekstrakt konsantrasyonunun (100 mg/ml) artmasıyla birlikte enzim aktivitesinin azalmasına bağlı olarak enzimatif kararmanın geciktiği sonucuna varmışlardır.

Oda sıcaklığında ve farklı sıcaklıklarda ısıtılmış soğan ekstraktının muz örneklerindeki PPO enzim aktivitesi üzerine etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada, enzim solüsyonu olarak tampon çözelti-gıda homojenizatının santrifüj sonrası süpernatantı kullanılmıştır. Çalışmada PPO enzim aktivitesinin sıcak (100 °C) soğan ekstraktı ile büyük oranda inhibe edildiği tespit edilmiştir (Lee, 2007).

Bir başka çalışmada ise Lee ve ark. (2007) soğan ekstraktının (3,1 mg/ml) farklı sıcaklıklarda *Colocasia antiquorum* var. *esculenta* (L.) Schott örneğindeki PPO enzimi aktivitesi üzerine etkisini araştırmışlardır. Dilimlenmiş örnekleri distile su, taze soğan ekstraktı ve sıcak (100 °C/10 dk.) soğan ekstraktına 20 dk. daldırılmak suretiyle ayrı ayrı muamele işlemleri gerçekleştirilmiş. Substrat olarak 1 ml 0,2 M kateşol çözeltisinin kesilmiş yüzeye yayılmasının ardından enzimatif kararmanın sonuçları rapor edilmiş. En az kararmanın sıcak soğan ekstraktı uygulanmış örnekte gözlemlendiği bildirilmiş. Tampon çözelti yardımıyla elde edilen enzim özütündeki PPO aktivitesi sonuçlarına göre, 40 ve 100 °C arasındaki denenmiş sıcaklıklardan en etkili soğan ekstraktı

sıcaklığının 100 °C olduğu sonucuna ulaşılırken, ekstraktın ısıtılma süresinin artmasının da genel olarak enzim aktivitesi üzerinde inhibe edici bir etkiye neden olduğu bildirilmiştir.

Ananas suyunun enzimatik kahverengileşme inhibisyonundaki etkinliğinin, muz dilimleri üzerinde değerlendirildiği bir çalışmada, Chaisakdanugull ve ark. (2007) ananas suyu ile muamele edilen muz dilimlerinin 15°C'de 3 gün boyunca depolanmasından sonra, ancak 8 mM askorbik asit kadar ve 4 mM'dan az sodyum metabisülfid kadar kahverengileşmeyi inhibe ettiğini belirtmişlerdir.

Havuç (*Daucus carota* L.) örneklerinin 70-90 °C sıcaklık aralığında peroksidaz enzim inaktivasyonunun incelendiği bir çalışmada, havuç dilimlerinin önceden ısıtılmış su banyosuna daldırılmak suretiyle ayrı ayrı beş farklı sıcaklığın (70, 75, 80, 85 ve 90°C) enzim inhibisyonu üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmada, ısıl işlemin sıcaklık ve süre parametrelerinin beraber enzim inaktivasyonunu sağlamada etkin olduğu istatistiksel açıdan anlamlı ($p < 0,05$) bulunmuş. Ayrıca, 90°C/2 dk. uygulamasının POD enzim aktivitesini tamamen inhibe ettiği bildirilmiştir (Gonçalves ve ark., 2010).

Mousavizadeh ve Sedaghatthoor (2011) kereviz (*Apium graveolens* L. var. *dulce*), ıspanak (*Spinacia oleracea* L.) ve marul (*Lactuca sativa* L. var. *longifolia*) gıda örneklerini kullandıkları çalışmada, farklı konsantrasyonlardaki (50, 75, 100, 200 µl/100 ml) kekik, kişniş ve biberiye uçucu yağlarının peroksidaz enzim aktivitesi üzerine etkilerini laboratuvar şartlarında (*in vitro*) ve gıda örneklerinde (*in vivo*) incelemişlerdir. Çalışmada, 200 µl/100 ml konsantrasyonundaki biberiye yağının kerevizden elde edilen POD enzim aktivitesinde %80'den fazla bir azalmaya neden olduğu rapor edilmiştir.

Barbagallo ve ark. (2012) patlıcandaki PPO enzim inhibisyon kapasitesini *in vitro* değerlendirmek için taze veya ısıyla muamele edilmiş soğan yan ürünlerinin (soğan hamuru, suyu ve küspesi) üzerinde çalışmışlardır. Isıtılmış soğan suyunun (100 °C'de 15 dakika) PPO aktivitesinde %54,2 azalmaya neden olmuş ve test edilen tüm yan ürünlerde en iyi kahverengileşmeyi giderme özütü olarak tespit edildiği rapor edilmiştir. Araştırmacılar bu verilere dayanarak, ısıl işlemin muhtemelen bazı endojen aktif bileşikler ile ısıtma esnasında elde edilen Maillard reaksiyon ürünleri arasındaki sinerjistik bir etkileşime bağlı olarak ekstraktların etkilerinin arttığını bildirmişlerdir.

Alvarez ve ark. (2015) kesilmiş sebze karışımını (bal kabağı, pırasa, kereviz) ve bu gıda örneklerini ayrı ayrı kullandıkları çalışmalarında, 5 ve 15 °C'de depolama süresince (maksimum 14 gün) distile suyla seyreltilmiş çay ağacı yağı (15 µl/ml),

propolis ekstraktı (15 µl/ml) ve gallik asit (2 µg/ml) antioksidanları ile ayrı ayrı muamele edilmiş gıda örneklerindeki POD aktivitelerini gözlemlemiştirlerdir. 15°C ile kıyaslandığında soğukta depolamanın çalışmada kullanılan çoğu gıda örneğinin enzim aktivitesini azaltıcı yönde etkilediği ve depolama süresi arttıkça tüm örnekler için enzim aktivitesinin de istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$) oranda arttığı rapor edilmiştir. Tüm sonuçlar kontrolle kıyaslandığında, 10 günlük depolama sonrası 15 °C'de kabak örneğinde çağ ağacı ve gallik asitin POD aktivitesinde sırasıyla %34 ve %29 azalmaya neden olduğu bildirilirken, pırasa örnekleri için aynı sıcaklıkta depolama sonunda bu değerlerin sırasıyla %18 ve %24 olduğu söylenmiştir. Buna ilaveten, yalnızca propolis ve gallik asitin soğukta depolanmış sebze karışımındaki POD aktivitesini azaltmada istatistiksel açıdan anlamlı ($p<0,05$) bir şekilde etkili olduğu bildirilmiştir.

Bahsi geçen çalışmalar incelendiğinde, gıdanın duyu kalitesini bozmadan ve besin değerini kaybetmeden doğal yöntemlerle enzim inaktivasyonuna yönelik yapılmış çalışmaların sınırlı sayıda olduğu ve söz konusu enzim inhibisyonu çalışmalarının hiçbirinin moleküler genetik yöntemlerle ilişkilendirilmediği sonucuna varılmıştır. Ayrıca, gıda sanayiinde önemli bir sorun olan enzimatik gıda bozulmalarının, gıda örneklerine alternatif bir ön işlem uygulanarak önlenmesinin amaçlanması, pratikte de uygulanabilirliği olan yöntemlere yaklaşma anlamında önemli olduğu fikrini ortaya çıkarmaktadır. Bu tez konusu, işletmelerde bazı gıda işleme proseslerinde (depolama, kesme, yıkama vb.), proses süresince ve/veya sonrasında sıklıkla görülen, gıdanın raf ömrü boyunca da karşılaşılabilen enzimatik bozulmaların, ısısal olmayan doğal yöntemlerle azaltılmasını amaçlayan alternatif bir yöntem geliştirmektir. Bu amaçla, ülkemizde doğal olarak yetişen bazı *Origanum* türlerinden elde edilmiş sulu ekstraktların, hidrosollerin ve uçucu yağların kıvırcık, ıspanak, patlıcan, mantar ve marul gibi günlük hayatta sıklıkla tüketilen gıdaların bozulma etmeni enzimlerine olan etkileri araştırılmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Moleküler Genetik Analizleri

3.1.1. Bitki örnekleri

Farklı yıl ve dönemlerde farklı bölgelerden toplanmış içinde 10 adet endemik *Origanum* türlerinin (*Origanum amanum* Post, *O. bilgeri* P.H.Davis, *O. boissieri* Ietswaart, *O. brevidens* (Born.) Dinsm., *O. haussknechtii* Boiss., *O. husnucan-baseri* H.Duman, Z.Aytaç & A.Duran, *O. minutiflorum* O.Schwarz & P.H.Davis, *O. saccatum* P.H. Davis, *O. solymicum* P.H Davis, *Origanum vogelii* Greuter & Burdet) de yer aldığı oda sıcaklığında kurutulmuş 18 farklı *Origanum* türünün 21 adet yaprak doku örnekleri için moleküler analiz testleri gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılmış tüm bitki örneklerine ait lokalite bilgisi ve hasat dönemi Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan bitki örnekleri

Seksiyon	Örnek Kodu	Bitki Örneği	Lokalite Bilgisi	Toplandığı Yıl
Amaracus (Gleditsch) Benth	20	<i>Origanum boissieri</i> Ietswaart	Mersin : Çamlıyayla - Saydibi arası, 2400 m.	18.09.2014
	5	<i>Origanum brevidens</i> (Born.) Dinsm.	Osmaniye : Yarpuz - Yağlıpınar arası, 2-3 km orman altı, dere içi.	19.09.2014
	13	<i>Origanum saccatum</i> P. H. Davis	Gündoğmuş-Gelesandra yayla rası 3.km, 1000-1200 m.	17.08.2017
	12	<i>Origanum solymicum</i> P. H. Davis	Kemer, Kesme Boğazı, Kuzdere köyü yolu, Gedelma köyü yol ayrımından 1-2. Km.	18.08.2017
Anatolicon Benth	17	<i>Origanum sipyleum</i> L.	Serinhisar - Denizli arası 5. Km, 1066 m.	26.10.2014
Brevifilamentum Ietswaart	16	<i>Origanum acutidens</i> (Handel-Mazzeti) Ietswaart	Gümüşhane - Bayburt arası, Gümüşhane'ye 22 km kala, 1320 m.	04.08.2015
	6	<i>Origanum acutidens</i>	Alucra - Şirvan arası 11.km, 1610 m	03.09.2016
	8	<i>Origanum haussknechtii</i> Boiss.	Arapgir-Kemliye arası 24. Km, 1100-1200 m.	09.08.2017
	10	<i>Origanum husnucan-baseri</i> H. Duman, Z. Aytaç & A. Duran	Alanya - Sariveliler yolu, kuşkayası mevki, dik kayalıklar, 1384 m.	24.10.2014
	11	<i>Origanum rotundifolium</i> Boissier	Artvin, Artvin-Şavşat arası 650 m.	04.09.2016
	19	<i>Origanum rotundifolium</i>	Şavşat-Artvin arası 58 Km, 750 m.	07.08.2017
Chilocalyx (Briq.) Ietswaart	3	<i>Origanum bilgeri</i> P. H. Davis	Gelesandra yaylası-Gündoğmuş arası 1. Km, 1500-1600 m.	17.08.2017
	7	<i>Origanum minutiflorum</i> O.Schwarz & P.H.Davis	Kemer, Ovacık Köyü, Çukur yayla yolu, 1200-1400 m.	18.08.2017
	18	<i>Origanum vogelii</i> Greuter & Burdet	Niğde, Ulukışla, Horoz Köyü, Fenk Boğazı mevki,500-1600 m.	02.10.2015
Longitubus Ietswaart	21	<i>Origanum amanum</i> Post	Osmaniye : Düziçi, Düldül Dağı, Başkonuş yayla - Hüseyin oluk çeşme arası, Düldül Dağı'nın batı yamacı, geçit yakınları, kayalıklar, 2250 m.	19.09.2014
Majorana (Miller) Benth	2	<i>Origanum majorana</i> (L.) Ietswaart	Gündoğmuş-Manavgat arası, 2. Km, 800 m.	17.08.2017
	4	<i>Origanum onites</i> L.	Denizli, Taşocağı, 530 m.	07.10.2016
	15	<i>Origanum syriacum</i> L.	Osmaniye, Düziçi, Kuşçu köyü-Düldül dağı arası 3. Km, 950 m.	25.08.2016
	9	<i>Origanum syriacum</i> L. subsp. <i>bevanii</i> (Holmes) Greuter & Burdet	Antakya-Samandağ arası, Uzunbağ köyü, St. Symeon kilisesi civarı, 490 m.	03.08.2017
Origanum	1	<i>Origanum vulgare</i> L. subsp. <i>hirtum</i> (Link) Ietsw.	Niğde, Ulukışla, Maden-Ali Hoca arası 2.km, 1650 m.	04.08.2016
Prolaticorolla Ietswaart	14	<i>Origanum laevigatum</i> Boissier	Osmaniye : Düziçi, Düldül Dağı, Mandataşı civarı, kayalıklar, 1900 m.	21.08.2015

3.1.2. DNA ekstraksiyonu

Origanum cinsinin toplam genomik DNA'sı CTAB prosedürünü takiben farklı yıllarda toplanan bitkinin kurutulmuş yapraklarından (bitki başına 100 mg) elde edilmiştir. Sıvı nitrojen (azot) ile toz haline gelene kadar ezilmiş doku örneği üzerine 800 µl CTAB ekstraksiyon tampon çözeltisi (%2 CTAB; 100 mM Tris-HCl (pH 8,0); 20 mM EDTA (pH 8,0); 1,4 M NaCl; %1 PVP) ve 100 µl merkaptoetanol eklenerek, vortekslenmiştir. Örnek, hücre duvarlarının parçalanması için 65°C' de 1 saat süreyle inkübe edilip, fenol:kloroform:izoamil alkol (25:24:1) karışımı örneğe eklenerek, önce vortekslenip daha sonra oda sıcaklığında 10 dakika santrifüje tabi tutulmuştur. Üst faz alınıp 600 µl, hacimce 24:1 oranında hazırlanmış kloroform:izoamil alkol örneğe eklenmiştir. 10 dakika santrifüj (25°C) işlemi sonrasında, üst faz tüpe alınıp kendi hacminin altıda biri oranında %100'lük izopropanol ile karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyonun ardından pellet (DNA çökeltisi), 10 dakika oda sıcaklığında santrifüjlenip üst faz atılmıştır. DNA peletinin üzerine %70'lik etanol eklendikten sonra oda sıcaklığında 5 dakika santrifüj gerçekleştirilmiştir. Etanol faz atılıp, deney tüpü 50 °C'de 2 dakika kapağı açık şekilde bekletilmiştir. DNA'nın süspansiyonu 100 µl, otoklavda sterilize edilmiş distile su ile oluşturulup homojenite için 4°C'de bir müddet bekletilmiştir. Olması muhtemel olan RNA'nın degradasyonu için ekstrakte edilen DNA örneklerine 1 µl RNase enzimi katılıp, tüpler 37°C'de (30 dk.) inkübe edilmiştir. Elde edilen DNA örneği, ileriki analizlerde kullanılmak üzere -20°C'de muhafaza edilmiştir.

3.1.3. EST-SSR analizi

Çalışmada 13 adet EST-SSR markörü (Novak ve ark., 2008) kullanılmış olup çalışma kapsamında kullanılan tüm *Origanum* türlerinde amplifikasyon veren 11 adet EST-SSR markörü (Çizelge 4.1) çalışma kapsamında türler arası genetik ilişkilerin belirlenmesinde kullanılmıştır. EST-SSR alelleri 20 µl reaksiyon karışımında (1xPCR tampon; 1,5 mM MgCl₂; 0,25 mM her bir dNTP (Promega Corp.); 1 U Taq polimeraz; 0,25 µM primerler ve 50 ng DNA örneği) çoğaltılmıştır. PCR koşulları 94°C/10 dk.; 35 döngü 94°C/30 sn., 55°C/30 sn., 72°C/45 sn.; son olarak 1 kez 72°C/10 dk. olacak şekilde gerçekleştirilmiştir (Uncu ve ark., 2015). Çoğaltılan SSR fragmanları, üreticinin

protokolüne göre kapiler elektroforez sistemi (Qiagen, Hilden, Germany) ile yüksek çözünürlükte görüntülenmiştir.

3.1.4. SRAP analizi

SRAP analizi, Li ve Quiros (2001) tarafından tarif edildiği gibi gerçekleştirilmiştir. 4 adet Me ileri primeri ile 4 adet Em geri primeri (Çizelge 4.2) kullanılarak toplamda 16 farklı kombinasyon *Origanum* genetik kaynaklarında çeşitliliği belirlemek için kullanılmıştır. Elde edilecek polimorfik SRAP bantları varlığı için (1) yokluğu için (0) şeklinde değerlendirilmiştir. PCR karışımları için 1xPCR Tamponu, 2,5 mM MgCl₂, 200 µM her bir dNTP (Promega), 300 µM her bir primer, 1 ünite polimeraz enzimi, 4 µl (100 ng) *Origanum* DNA'sı ve nükleaz içermeyen su ile toplam reaksiyon hacimleri 100 µl olacak şekilde tamamlanmıştır. PCR ürünleri çoğaltılırken: başlangıç DNA denatürasyonu için 95°C'de 5 dakika; denatürasyon için ilk beş döngü 95°C'de 1 dakika; tavlama (annealing) reaksiyonu için 35°C'de 1 dakika ve uzama için 72°C'de 1 dakika uygulanmıştır. Daha sonra 35 döngü 95°C'de 1 dakika; tavlama (annealing) reaksiyonu için 50°C'de 1 dakika ve uzama için 72°C'de 1 dakika; son uzama 72 °C'de 10 dakika ve 4°C'de aşamaları izlenmiştir. PCR sonrası elde edilen DNA hedef parçaları agaroz jel elektroforezi cihazı (ME-96, Major Science, USA) ile görüntülenmiş ve 100 bp'lik bir DNA uzunluk standardı bantların uzunluklarının belirlenmesinde kullanılmıştır.

3.1.5. Veri analiz yöntemi

2002 yılında Matsuoka ve ark. tarafından tanıtılan metod kullanarak her bir SRAP markörü için, parçacıklar farklı alelleri temsil eden bin'lere bölünmüştür. Her bir işaretleyici için polimorfizm bilgi içeriği (PIC: Polymorphism information content) değeri her bir SRAP için Saal ve Wricke (1999) tarafından tanıtılan formüle göre hesaplanmıştır:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^k p_i^2$$

p_i i'inci alel'in sıklığını ve k ise her lokus için farklı alel'lerin toplam sayısını vermektedir. Bütün genotiplerin her bir lokus için SSR ve SRAP değerleri: var için 1, yok için 0 olarak skorlanmıştır. Bu veriler Nei'nin genetik benzerlik indeksi (The Nei index of genetic similarity) hesaplanmasında kullanılmıştır (Nei ve Li, 1979). Elde edilen bu değerler Darwin (Perrier ve Jacquemoud-Collet, 2006) programında *Origanum* türleri arasındaki genetik ilişkiyi gösteren bir NJ (Neighbor Joining) dendrogramı oluşturulmasında kullanılmıştır. Darwin (<http://darwin.cirad.fr/product.php>) bilgisayar programı kullanılarak oluşturulmuş benzemezlik matrisi ve dendrogram arasındaki korelasyon Mantel testi ile gösterilmiştir (Uncu ve ark., 2015).

Markör verileri koleksiyona ait yapı ve moleküler genetik çeşitlilik analizinde kullanılmıştır. Pritchard ve arkadaşları (2000) tarafından kullanılan model ile yapı analizi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla kullanılan Structure Harvester programı (Earl ve Von Holt, 2012) ile “posterior” olasılıklara dayalı olarak her model için K değerleri hesaplanmıştır. En yüksek ΔK değerine sahip model en iyi olarak tanımlanmıştır. Alt popülasyonlara katılımları atamak için, varsayım eşiği 0,60 olarak belirlenmiştir.

3.2. Gıdalarda Enzim Analizleri

3.2.1. Bitki örnekleri

Çalışmada 3'ü endemik olan (*O. bilgeri*, *O. minutiflorum*, *O. vogelii*) ve halk arasında bolca tüketilen (*O. majorana*, *O. onites*, *O. syriacum* subsp. *bevanii* ve *O. vulgare* subsp. *hirtum*) toplamda 7 bitki kullanılmıştır.

3.2.2. Gıda örnekleri

Çalışmada elde edilen ekstraktların, hidrosollerin ve uçucu yağların farklı enzimler üzerindeki aktivite denemeleri Çizelge 3.2' de gösterilen gıda örnekleri ile gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.2. Gıda örnekleri ve içerdiği enzim grupları

Enzim grubu	Gıda örneği	Kaynak
Peroksidaz	Kıvırcık marul (<i>Lactuca sativa</i> L.)	(Mousavizadeh ve Sedaghathoor, 2011)
	Ispanak (<i>Spinacia oleracea</i> L.)	(Mousavizadeh ve Sedaghathoor, 2011)
Polifenoloksidaz	Patlıcan (<i>Solanum melongena</i> L.)	(Barbagallo ve ark., 2012)
	Mantar (<i>Agaricus bisporus</i> (L.) Sing.)	(Samanta ve ark., 2010)
Lipoksigenaz	Marul (<i>Lactuca sativa</i> L.)	(Mousavizadeh ve Sedaghathoor, 2011)

3.2.3. Ekstrakt, hidrosol ve uçucu yağ eldesi

Origanum ekstraktları sulu ekstraksiyon yöntemi ile elde edilmiştir. Bu amaçla 10 g bitki örneği 200 ml sıcak suda (100°C) 30 dk. boyunca çalkalanmıştır. Filtreden geçirilen çözelti koyu renkli şişelerde buzdolabı koşullarında saklanmıştır (Stojanovic ve ark., 2012).

Endemik *Origanum* taksonlarından uçucu yağ ve hidrosol eldesi Klevenger yöntemi ile gerçekleştirilmiştir (Deans ve Svoboda, 1990). Yaklaşık 150 gram bitki örneği 1500 ml distile su ile 2 saat boyunca hidrolizasyona tabi tutulmuştur. Hidrolizasyon sonrası uçucu yağ ve hidrosol ayrılmıştır. Hidrosol filtre kağıdından geçirilip steril koyu renkli çözelti şişesinde kullanıma dek buzdolabı koşullarında (4°C) saklanmıştır (Sağdıç ve Özcan, 2003). Ayrılan uçucu yağ sodyum sülfattan geçirilip filtre edildikten sonra 4°C’de muhafaza edilmiştir.

3.2.4. Ekstrakt, hidrosol ve uçucu yağın gıda örneklerine uygulanması

Sulu ekstraktların, hidrosollerin ve uçucu yağların (biyoaktif bileşenler) gıda örneklerine uygulanma miktarları, depolama ve analiz koşulları Çizelge 3.3’te gösterilmiştir.

Çizelge 3.3. Gıda örneklerinin depolanma ve analiz yöntemi

<i>Enzim grubu</i>	<i>Gıda örneği</i>	<i>Paket Ağırlığı*</i>	<i>Uygulama Hacmi</i>			<i>Depolama ve Analiz Şekli</i>
			<i>Ekstrakt</i>	<i>Hidrosol</i>	<i>Uçucu Yağ</i>	
Peroksidaz	Kıvırcık	16±0,5 gram	500 µl	500 µl	5 µl	Biyoaktif bileşenlerin uygulandığı gıda örnekleri, buzdolabı poşetleri içerisinde iyice karıştırılarak bileşenlerin tüm gıda yüzeyine teması sağlandıktan sonra 4 °C’de 5 gün süreyle saklanmıştır. 0. gün sadece hiçbir işlem uygulanmamış gıda örneği paketi diğer paketler için kontrol grubu olarak analize alınırken, 1., 3. ve 5. günlerde ise tüm paketler enzim aktivitesi analizlerine tabi tutulmuştur. Bağlı aktivitenin hesaplanabilmesi için, tüm örneklerin başlangıç günü enzim aktivitesi değerleri, kontrol gruplarının 0. gün enzim aktivite değeri kabul edilmiştir.
	Ispanak					
Polifenoloksidaz	Patlıcan	35±0,5 gram				
	Mantar					
Lipoksigenaz	Marul	16±0,5 gram				

*Paket ağırlığı analiz metoduna göre şekillenmiştir.

3.2.5. Enzim aktivite testleri

3.2.5.1. Peroksidaz (POD) aktivitesi tayini

Peroksidaz aktivitesinin tayini Sciancalepore ve Longone’nin 1984’de kullandıkları yöntemden modifiye edilmiştir. İşlem için 1 g gıda örneği 5 ml 0,1 M sodyum fosfat tamponu (pH 6,0) ile buz üzerinde havanda iyice homojenize edilmiştir. 9000 devir/20 dk. 4°C’de santrifüjlenmiştir. Üst faz enzim çözeltisi olarak kullanılmıştır. UV spektrofotometresinde (Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis) absorbans ölçümü için küvete 2,10 ml ultra saf su, 0,32 ml sodyum fosfat tamponu, 0,32 ml pirogallol çözeltisi (%5’lik) ve 0,16 ml hidrojen peroksit (%0,5’lik) karışımı alınıp 10 dk. karanlıkta bekletilmiştir. Karışıma 100 µl enzim çözeltisi ilave edilerek her 15 saniyede olmak üzere toplam 3 dk. boyunca 420 nm de absorbans değeri kaydedilmiştir. Kör için aynı işlem enzim çözeltisi yerine 100 µl fosfat tamponu konularak gerçekleştirilmiştir.

3.2.5.2. Polifenoloksidaz (PPO) aktivitesi tayini

PPO aktivitesi, Galeazzi ve Sgarbieri'nin 1981'de kullandıkları yöntemde yapılan küçük modifikasyonlarla UV spektrofotometresinde 420 nm'de spektrofotometrik olarak değerlendirilmiştir. Analiz için, 5 g gıda örneğine, 10 ml 0,2 M sodyum fosfat tamponu (pH 6,8), son konsantrasyonu %1 olacak şekilde PVP ve son konsantrasyonu %0,5 olacak şekilde TritonX-100 eklenerek karışım havanda buz üzerinde iyice homojenize edilmiştir. 9000 devir/20 dk. 4°C'de gerçekleştirilen santrifüjün ardından süpernatant enzim çözeltisi olarak kullanılmıştır. Elde edilen enzim çözeltisinden 200 µl alınıp üzerine 2,80 ml kateşol (0,16 mol / L) substrat olarak eklenmiş ve absorbans 60 saniye boyunca her 15 saniyede bir kaydedilmiştir. Zamanın bir fonksiyonu olarak elde edilen absorbans eğrisi PPO etkinliğini hesaplamak için kullanılmıştır. Kör olarak enzim çözeltisi yerine 200 µl sodyum fosfat tampon çözeltisi kullanılmıştır.

3.2.5.3. Lipoksigenaz (LOX) aktivitesi tayini

LOX aktivitesi tayini Theerakulkait ve Barrett'in 1995'te kullandıkları yöntemden modifiye edilmiştir. 157,2 µl linoleik asit, 157,2 µl Tween 20 ve 10 ml ultra saf su karıştırılıp 0,1 M sodyum fosfat tamponu (pH 7,0) ile 200 ml ye tamamlanmıştır. Karışım koyu renkli çözelti şişesine alınıp yaklaşık 2 dakika oksijen (O₂) verilerek havalandırıldıktan sonra 25 °C'lik etüvde ara ara çalkalanarak 10 dk. bekletilmiştir. Bu karışım linoleik asit substrat çözeltisi olarak kullanılmıştır. 1 g gıda örneği, 10 ml 0,1 M Tris HCl tamponu (pH 8,0) ile havanda buz üzerinde iyice homojenize edilmiştir. Homojenat 9000 devir/1 saat 4°C'de santrifüjlendikten sonra sıvı kısım enzim ekstraktı olarak analiz için ayrılmıştır. 300 µl enzim ekstraktı ve 2,7 ml linoleik asit substrat çözelti karışımı absorbansı 234 nm'de 3 dakika boyunca her 15 saniyede bir kaydedildi. Bir birim enzim aktivitesi, 1 ml enzim çözeltisi başına dakikada absorbansta meydana gelen 0,001 birimlik değişim olarak ifade edilmiştir.

3.2.5.4. İstatistiksel analizler

Analizler SPSS 20 İstatistik programı kullanılarak yapılmıştır.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Moleküler Genetik Analiz Sonuçları

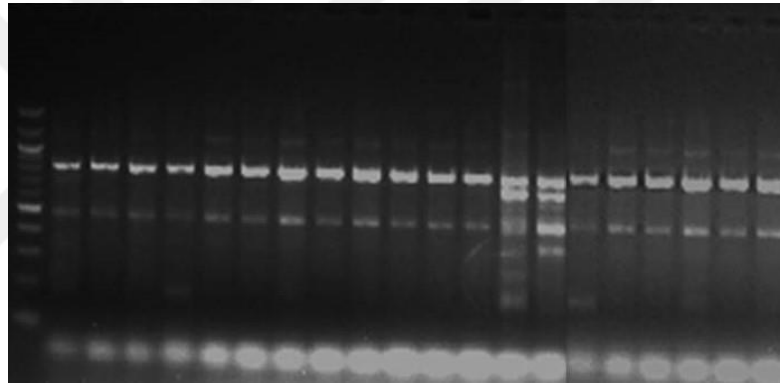
21 *Origanum* yaprak doku örneklerinden 18 farklı tür için izole edilen DNA örneklerinde geliştirilmiş SSR markörleri (Çizelge 4.1) ve 16 farklı kombinasyonla kullanılmış SRAP markörleri (Çizelge 4.2) ile gerçekleştirilmiş kapiler elektroforez sonuçlarına göre 91 adet polimorfik alel tespit edilmiştir. Bütün genotiplerin her bir lokusu için SSR ve SRAP değerleri: var için 1, yok için 0 olarak skorlanmıştır. Elde edilen skorlama verilerinin değerlendirilmesi Darwin ve Structure 2.3.4 programında gerçekleştirilmiştir. İzole edilen DNA örneklerinde polimorfik bantların varlığına örnek olarak Şekil 4.1 ve Şekil 4.2 verilmiştir.

Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan EST-SSR primerlerinin listesi.

Adı	Primer	Primer Sekansı (5'→3')	Tekrar Dizisi	Alel büyüklüğü (bp)
Mmx 13	İleri	TTGAAGCATTGTTGGAGGTAGATG	(TTTTTC)4(T)5(TTTTC)1	158-178
	Geri	CCCAACTAGGGAGAAATGTGC		
Mmx 25	İleri	TTTGCTCCGACATCTTCAACC	(ACC)1ATC(ACC)4	100-128
	Geri	AGCCTGCTGTGTTGGATCAG		
Mmx 35	İleri	GCCCTGCAGTGACTCCTAC	(AG)7G(AG)3	104-113
	Geri	AAAAAGGCTTCGACTCGATC		
Mmx 87	İleri	GAGAGAATCCAAGCCTCCGC	(AAC)7AGC(AAC)1	125-134
	Geri	TGAAGGAGTCCGATGTTGACG		
Mmx 113	İleri	TGTTTGGTGGAAACCGATCC	(GAT)8	123-142
	Geri	AGACGACGAGCTCCAATAACG		
Mmx 143	İleri	TCAGAAACAATGAAGGCCGC	(CCT)6	100-118
	Geri	CCGTACAGGTCAAACACCGG		
Mmx 154	İleri	TCTTGCCAATTTATGCGTGTTTC	(AG)6GG(AG)2GA(A G)	108-115
	Geri	GAAACAAGCATCTTTTCCTGAATTC		
Mmx 163	İleri	GCCCAAGGACATCCAACCTTG	(GGT)4GTT(GGT)1	121-133
	Geri	CAACTGAACACCTCCACAATG		
Mmx 169	İleri	TCAAGGTTAGAGCTGCTGCAG	GAT)3GAA(GAT)	140-156
	Geri	GCTTTACGGAGGAAGAATGGG		
Mmx 183	İleri	TCCCGCCTTCAAGAAATGAC	(AAG)1A3(AAG)6	174-181
	Geri	AGAGAGCACGTTGATGAACCG		
Mmx 272	İleri	CAAGAAGAATAACGGAGGAGCAG	(GCA)6	188-200
	Geri	TGGAGAATTTCTGATGCTCGG		

Çizelge 4.2. Çalışmada kullanılan SRAP primer kombinasyonlarının listesi.

Primer Tipi	Baz Kod	İleri	İleri Primer Sekansı (5' → 3')	Geri	Geri Primer Sekansı (5' → 3')
SRAP	1	Me1	TGA GTC CAA ACC GGA TA	Em1	GAC TGC GTA CGA ATT AAT
	2			Em2	GAC TGC GTA CGA ATT TGC
	3			Em3	GAC TGC GTA CGA ATT GAC
	4			Em4	GAC TGC GTA CGA ATT TGA
	5	Me2	TGA GTC CAA ACC GGA GC	Em1	GAC TGC GTA CGA ATT AAT
	6			Em2	GAC TGC GTA CGA ATT TGC
	7			Em3	GAC TGC GTA CGA ATT GAC
	8			Em4	GAC TGC GTA CGA ATT TGA
	9	Me3	TGA GTC CAA ACC GGA AT	Em1	GAC TGC GTA CGA ATT AAT
	10			Em2	GAC TGC GTA CGA ATT TGC
	11			Em3	GAC TGC GTA CGA ATT GAC
	12			Em4	GAC TGC GTA CGA ATT TGA
	13	Me4	TGA GTC CAA ACC GGA CC	Em1	GAC TGC GTA CGA ATT AAT
	14			Em2	GAC TGC GTA CGA ATT TGC
	15			Em3	GAC TGC GTA CGA ATT GAC
	16			Em4	GAC TGC GTA CGA ATT TGA



Şekil 4.1. Me2-Em3 SRAP primerleri kullanılarak *Origanum* genotiplerinde elde edilen SRAP analizi agaroz jel görüntüsü

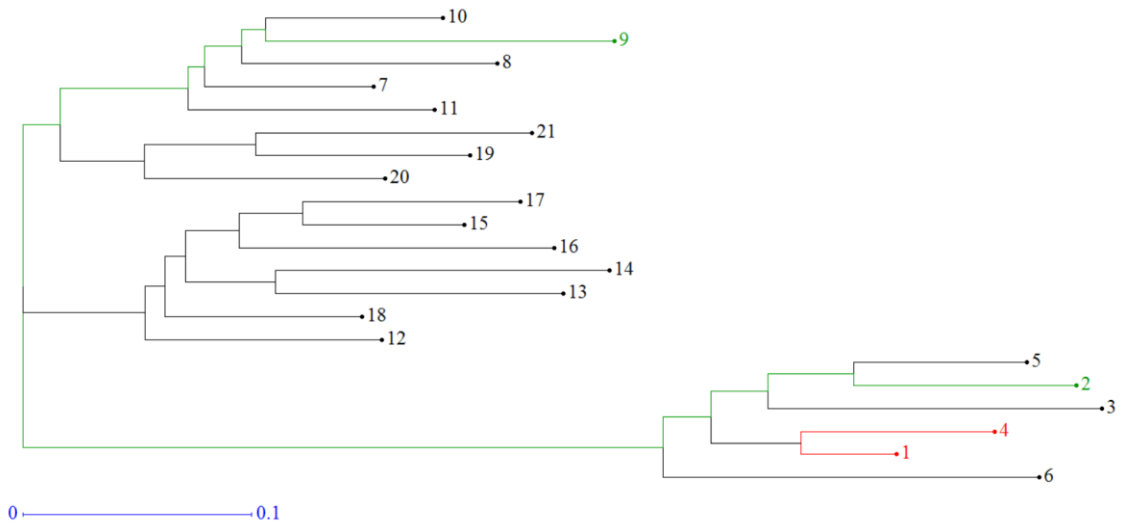


Şekil 4.2. Mmx 272 EST-SSR primerleri kullanılarak *Origanum* genotiplerinde elde edilen EST-SSR analizi kapiler elektroforez görüntüsü

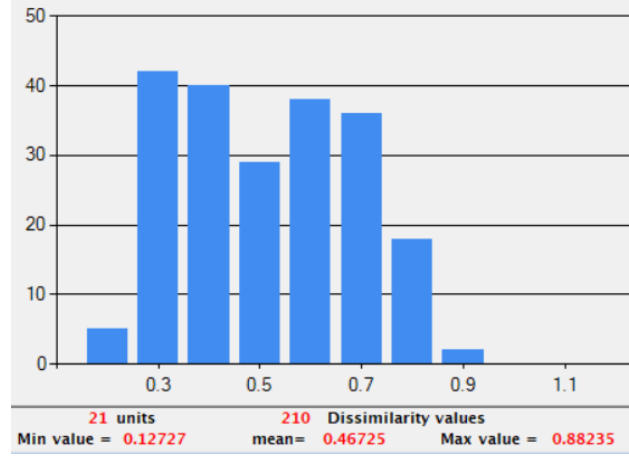
4.1.1. Darwin veri analiz yöntemine ait sonuçlar

Skorlanmış veriler yardımıyla Darwin (Perrier ve Jacquemoud-Coller, 2006) programında *Origanum* türleri arasındaki genetik ilişkiyi gösteren bir NJ (Neighbor Joining) dendrogramı oluşturulmuştur (Şekil 4.3). Benzememezlik matrisi ve

dendrogram arasındaki korelasyon Mantel testi ile gösterilmiştir. Ayrıca bitki örneklerinin birbirine olan yakınlık ilişkisi bar grafiği ile verilmiştir (Şekil 4.4). Markör lokuslarının ortalama polimorfizm bilgi içeriği (PIC) 0,2785 olarak bulunurken, NJ (Neighbor Joining) analizine göre Clustering analiz sonucu benzememezlik değerleri 0,127 ve 0,882 arasında bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre, çalışmada kullanılan bitki örneklerinin genetik benzerlik anlamında 3 farklı ana grup altında toplanabileceği sonucuna varılmıştır. Ayrıca, 21 farklı yaprak doku örneğiyle gerçekleştirilmiş analizle 18 farklı *Origanum* türü arasında, *O. majorana* ve *O. syriacum* subsp. *bevanii* birbirine en uzak iki tür olarak bulunurken, *O. onites* ve *O. vulgare* subsp. *hirtum* birbirine en yakın iki tür olarak bulunmuştur. Buna ilaveten, çalışmada kullanılan 13 EST-SSR markörünün %84'ünün (Çizelge 4.1) türler arası transfer edilebilir olduğu sonucuna varılmıştır.



Şekil 4.3. Çalışmada kullanılan *Origanum* izolatlarının (1'den 21'e kadar örnek kodu verilmiş) EST-SSR ve SRAP markörleri ile oluşturulan genetik ilişki ağacı



Şekil 4.4. Çalışmada kullanılan *Origanum* izolatlarının uzaklık yakınlık ilişkisi bar grafiği

4.1.2. Structure veri değerlendirme yöntemine ait sonuçlar

Structure Harvester programı ile “posterior” olasılıklarına dayalı olarak her model için K (1-3 arasında) değerleri hesaplanmıştır. Analizle birlikte *Origanum* izolatlarının skorlama veri sonuçlarına göre benzerlik dağılım grafiği verilmiştir (Şekil 4.5). Grafiğe göre bitki örneklerinin üç farklı grup altında toplanabileceği bir varsayımı yapılabilmektedir. Program yardımıyla cluster analiz sonuçları hesaplanmıştır (Çizelge 4.3). Varsayım eşiğinin 0,60 olarak belirlendiği veri analiz yöntemine göre bitki örneklerinin 3 farklı grupta toplandığı şekli Çizelge 4.4’te sunulmuştur. Buna göre Darwin sonuçlarına göre birbirine en yakın olan *O. onites* ve *O. vulgare* subsp. *hirtum* türlerinin aynı grupta, birbirine en uzak olarak bulunan *O. syriacum* subsp. *bevanii* ve *O. majorana* türlerinin farklı gruplarda yer aldıkları görülmektedir.



Şekil 4.5. Çalışmada kullanılan *Origanum* izolatlarının EST-SSR ve SRAP markörleri ile oluşturulmuş structure grafiği

Çizelge 4.3. Çalışmada kullanılan *Origanum* taksonlarının Clusture analiz sonuçları (K değeri:1-3 aralığında)

<i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i>	1 Genotip1 (0) : 0,006 0,001 0,993
<i>Origanum majorana</i>	2 Genotip2 (6) : 0,001 0,003 0,996
<i>Origanum bilgeri</i>	3 Genotip3 (3) : 0,009 0,002 0,989
<i>Origanum onites</i>	4 Genotip4 (0) : 0,001 0,002 0,997
<i>Origanum brevidens</i>	5 Genotip5 (5) : 0,002 0,002 0,996
<i>Origanum acutidens</i> (Alucra-Sirvan arası)	6 Genotip6 (2) : 0,016 0,051 0,933
<i>Origanum minutiflorum</i>	7 Genotip7 (0) : 0,981 0,014 0,004
<i>Origanum haussknechtii</i>	8 Genotip8 (0) : 0,988 0,008 0,003
<i>Origanum syriacum</i> subsp. <i>bevanii</i>	9 Genotip9 (0) : 0,979 0,019 0,002
<i>Origanum husnucan-baseri</i>	10 Genotip10 (12) : 0,994 0,006 0,001
<i>Origanum rotundifolium</i> (Örnek kodu: 11)	11 Genotip11 (5) : 0,993 0,006 0,001
<i>Origanum solymicum</i>	12 Genotip12 (0) : 0,017 0,981 0,002
<i>Origanum saccatum</i>	13 Genotip13 (4) : 0,008 0,988 0,004
<i>Origanum laevigatum</i>	14 Genotip14 (0) : 0,033 0,962 0,005
<i>Origanum syriacum</i>	15 Genotip15 (0) : 0,005 0,995 0,001
<i>Origanum acutidens</i>	16 Genotip16 (0) : 0,015 0,984 0,001
<i>Origanum sipyleum</i>	17 Genotip17 (0) : 0,011 0,987 0,002
<i>Origanum vogelii</i>	18 Genotip18 (0) : 0,010 0,986 0,004
<i>Origanum rotundifolium</i> (Örnek kodu: 19)	19 Genotip19 (3) : 0,991 0,008 0,002
<i>Origanum boissieri</i>	20 Genotip20 (3) : 0,990 0,008 0,002
<i>Origanum amanum</i>	21 Genotip21 (10) : 0,991 0,008 0,001

Çizelge 4.4. Çalışmada kullanılan *Origanum* taksonlarının Structure analiz sonuçlarına göre gruplandırılması

Grup 1*	Grup 2*	Grup 3*
<i>Origanum minutiflorum</i>	<i>Origanum solymicum</i>	<i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i>
<i>Origanum haussknechtii</i>	<i>Origanum saccatum</i>	<i>Origanum majorana</i>
<i>Origanum syriacum</i> subsp. <i>bevanii</i>	<i>Origanum laevigatum</i>	<i>Origanum bilgeri</i>
<i>Origanum husnucan-baseri</i>	<i>Origanum syriacum</i>	<i>Origanum onites</i>
<i>Origanum rotundifolium</i> (Örnek kodu: 11)	<i>Origanum acutidens</i>	<i>Origanum brevidens</i>
<i>Origanum rotundifolium</i> (Örnek kodu: 19)	<i>Origanum sipyleum</i>	<i>Origanum acutidens</i> (Alucra-Sirvan arası)
<i>Origanum boissieri</i>	<i>Origanum vogelii</i>	
<i>Origanum amanum</i>		

*Varsayım eşliğinin 0,60 olduğu gruplandırma

Çizelge 4.4. incelendiğinde, birbirine yakın bölgelerden toplanmış farklı türlerde (Örneğin; *O. saccatum* ile *O. bilgeri*, *O. amanum* ile *O. laevigatum*, *O. amanum* ile *O. syriacum* subsp. *bevanii*) coğrafi yakınlığın nedeni, çapraz tozlaşma ve bunun sonucunda ortaya çıkan çeşitlilik olarak açıklanabilir (Loveless ve Hamrick, 1984). Yüksek çeşitliliğin olmamasının nedeni ise neredeyse tüm *Origanum* türlerinin aynı kromozom numaralarına ($2n = 30$) sahip (Ietswaart, 1980) olmasından ileri gelebilir.

Analiz sonuçlarının genel olarak farklı seksiyonları aynı grupta topladığı görülmektedir. Bu durum Ietswaart'ın sınıflandırmasına (Ietswaart, 1980) uymamaktadır. Buna göre, çalışmamızda seksiyon farklılığının genetik çeşitlilik üzerinde etkili olmadığı sonucuna varılmıştır. Çünkü türler zaman içinde hala gelişmeye devam etmektedir. Bu durum, Taşcıoğlu ve arkadaşlarının (2018) da belirttiği gibi türler arası genetik çeşitliliği anlamada, aynı seksiyona ait daha fazla türün ve örneklemin bir arada çalışılmasının gerekliliğini işaret etmektedir.

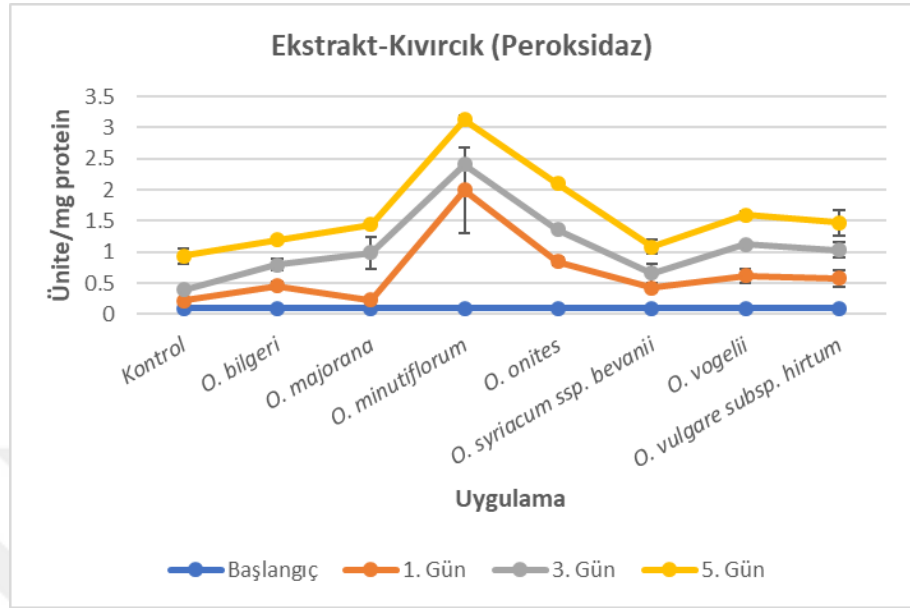
4.2. Gıdalarda Enzim Aktivitesi Analiz Sonuçları

4.2.1. Peroksidaz (POD) aktivitesine ait sonuçlar

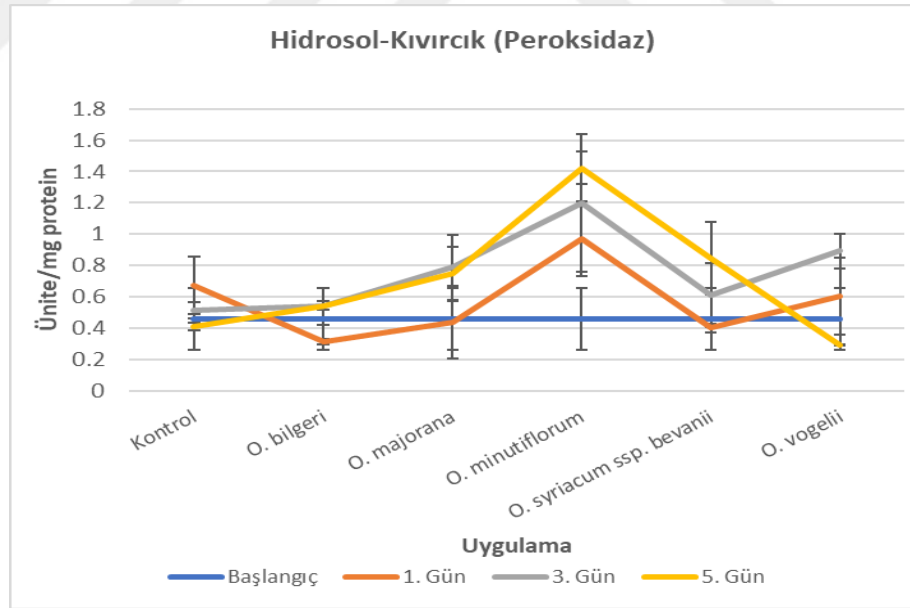
4.2.1.1. Kıvırcık örneklerindeki peroksidaz aktivitesindeki değişimler

Hiçbir ön işlem görmeden depolanmış kontrol grubu kıvırcık örneklerinde ve farklı *Origanum* türlerinden elde edilmiş sulu ekstraktların, hidrosollerin ve uçucu yağların uygulandığı kıvırcık örneklerinde, 5 günlük depolama süresince POD aktivitelerindeki değişim Şekil 4.6, 4.7 ve 4.8'de gösterilmiştir. Örneklerin başlangıç günü POD aktiviteleri göz önünde bulundurulduğunda, ekstrakt uygulanmış örneklerde aktivitede azalma olmamasına rağmen, POD aktivitesindeki minimum değerler %36,17'lik azalma ile hidrosol için 5. gün sonunda *O. vogelii* uygulanmış örnekte $0,29 \pm 0,001$ Ünite/mg protein ve %86,77'lik azalma ile uçucu yağ için 1. gün sonunda *O. majorana* uygulanmış örnekte $0,073 \pm 0,005$ Ünite/mg protein olarak belirlenmiştir. Çizelge 4.5, 4.6 ve 4.7'de görüldüğü gibi, hidrosol ve uçucu yağ uygulamasında ulaşılan minimum enzim aktivitesi değerleri başlangıçla kıyaslandığında, yalnızca uçucu yağ uygulamasında elde edilen minimum değerler istatistiksel açıdan anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p \leq 0,05$). Her üç uygulamada da POD aktivitesindeki maksimum artışa *O.*

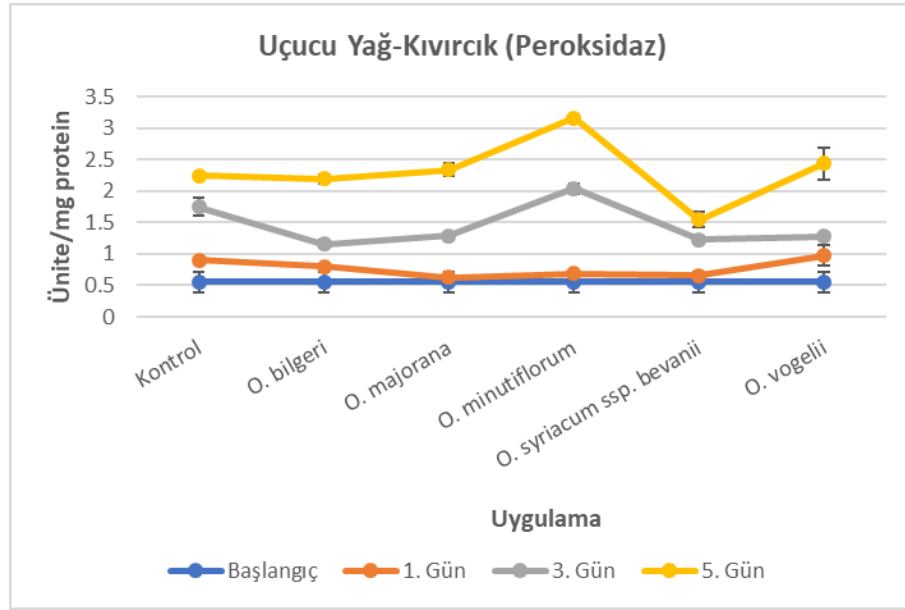
minutiflorum neden olmuştur. Bu maksimum artışlar her üç uygulama için de istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p \leq 0,05$).



Şekil 4.6. Ekstraktla (500 µl) muamele edilmiş kıvırcık örneklerinin beş günlük depolama süresince POD aktivitelerindeki değişim



Şekil 4.7. Hidrosolle (500 µl) muamele edilmiş kıvırcık örneklerinin beş günlük depolama süresince POD aktivitelerindeki değişim



Şekil 4.8. Uçucu yağlarla (5 µl) muamele edilmiş kıvırcık örneklerinin beş günlük depolama süresince POD aktivitelerindeki değişim

Her üç uygulamada bitki türleri dikkate alındığında, 5 günlük depolama periyodunun sonunda bazı bitki türleri ile muamele edilmiş kıvırcık örneklerinin POD aktivitesi ortalamalarındaki farklılıklar, kontrol örnekleri ile kıyaslandığında istatistiksel açıdan önemli ($p \leq 0,05$) bulunmuştur (Çizelge 4.5, 4.6, 4.7). Kıvırcık örneklerinin 5 günlük depolama periyodunun ardından görüntüleri Şekil 4.9, 4.10 ve 4.11’de verilmiştir. Buna göre, kıvırcık örneklerindeki en olumsuz görüntüye uçucu yağ uygulaması neden olmuştur.

Çizelge 4.5. Ekstraktla (500 µl) muamele edilmiş kıvırcık örneklerinin beş günlük depolama süresince POD aktivitelerindeki (Ünite/mg protein) değişim

Ekstrakt	GÜN			
	Başlangıç	Birinci	Üçüncü	Beşinci
Kontrol ^A	0,09±0,03 ^a	0,13±0,04 ^a	0,17±0,03 ^a	0,54±0,12 ^b
<i>O. bilgeri</i> ^A	0,09±0,03 ^a	0,37±0,06 ^b	0,34±0,10 ^b	0,39±0,03 ^b
<i>O. majorana</i> ^{AB}	0,09±0,03 ^a	0,14±0,01 ^a	0,75±0,26 ^{ab}	0,46±0,03 ^b
<i>O. minutiflorum</i> ^{AB}	0,09±0,03 ^a	1,90±0,70 ^b	0,41±0,03 ^a	0,72±0,08 ^a
<i>O. onites</i> ^B	0,09±0,03 ^a	0,76±0,06 ^b	0,51±0,01 ^c	0,74±0,03 ^b
<i>O. syriacum subsp. bevanii</i> ^{AB}	0,09±0,03 ^a	0,33±0,07 ^b	0,24±0,15 ^{ab}	0,43±0,12 ^b
<i>O. vogelii</i> ^{AB}	0,09±0,03 ^a	0,53±0,11 ^b	0,51±0,02 ^b	0,47±0,04 ^b
<i>O. vulgare subsp. hirtum</i> ^{AB}	0,09±0,03 ^a	0,48±0,13 ^b	0,46±0,12 ^b	0,44±0,20 ^b

^{A, B}: Aynı kolondaki farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiksel açıdan farklıdır ($p < 0,05$)

^{a, b}: Aynı satırdaki farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiksel açıdan farklıdır ($p < 0,05$)

Çizelge 4.6. Hidrosolle (500 µl) muamele edilmiş kıvrıcık örneklerinin beş günlük depolama süresince POD aktivitelerindeki (Ünite/mg protein) değişim

Hidrosol	GÜN			
	Başlangıç	Birinci	Üçüncü	Beşinci
Kontrol ^A	0,46±0,20 ^a	0,67±0,19 ^a	0,51±0,05 ^a	0,41±0,02 ^a
<i>O. bilgeri</i> ^A	0,46±0,20 ^a	0,31±0,02 ^a	0,54±0,12 ^a	0,54±0,03 ^a
<i>O. majorana</i> ^A	0,46±0,20 ^a	0,43±0,23 ^a	0,79±0,21 ^a	0,75±0,17 ^a
<i>O. minutiflorum</i> ^B	0,46±0,20 ^a	0,97±0,24 ^{ab}	1,20±0,44 ^b	1,42±0,11 ^b
<i>O. syriacum</i> subsp. <i>bevani</i> ^A	0,46±0,20 ^a	0,40±0,03 ^a	0,61±0,20 ^{ab}	0,85±0,23 ^b
<i>O. vogelii</i> ^A	0,46±0,20 ^a	0,60±0,24 ^{ab}	0,89±0,11 ^b	0,29±0,00 ^a

^{A, B}: Aynı kolondaki farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiksel açıdan farklıdır (p<0,05)

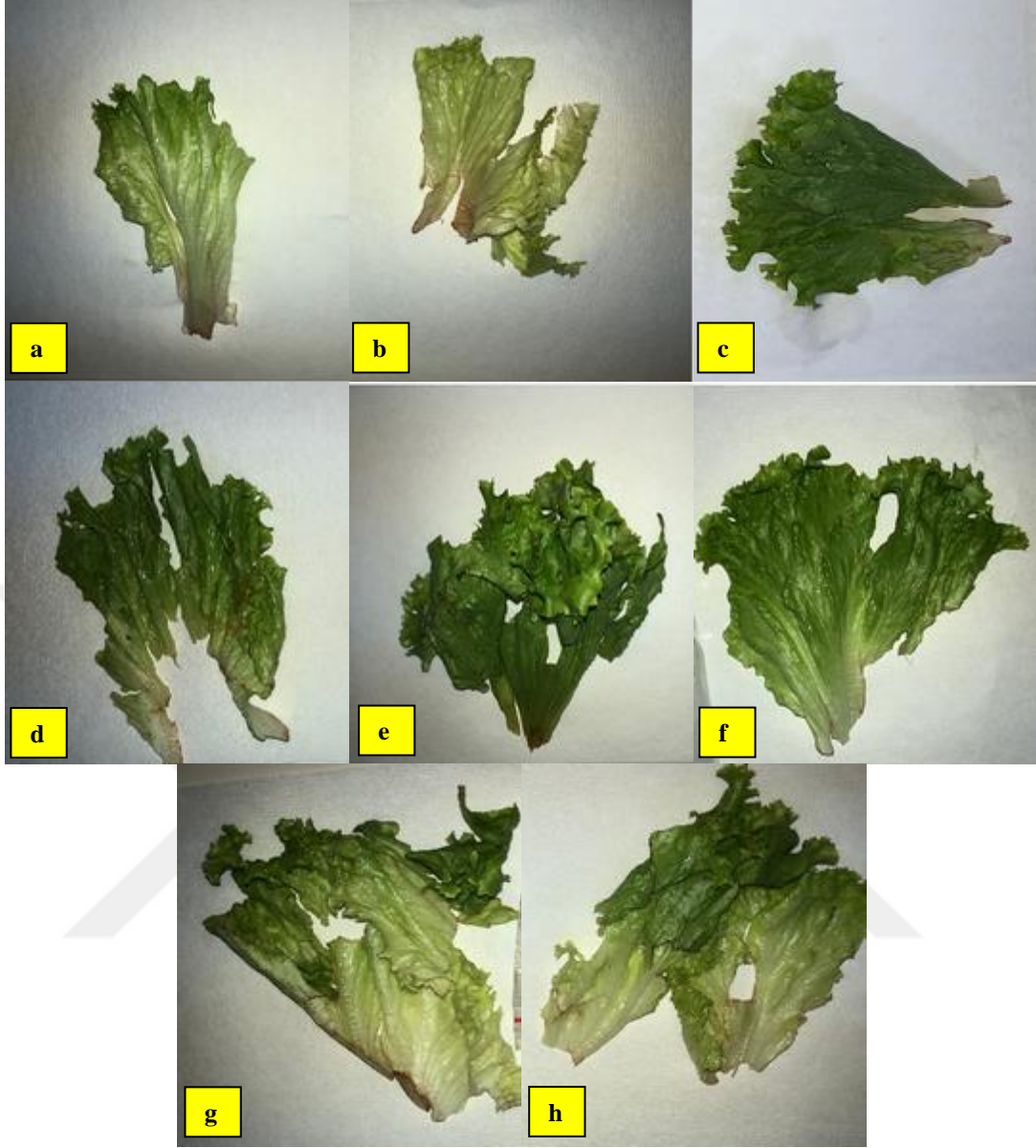
^{a, b}: Aynı satırdaki farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiksel açıdan farklıdır (p<0,05)

Çizelge 4.7. Uçucu yağ (5 µl) ile muamele edilmiş kıvrıcık örneklerinin beş günlük depolama süresince POD aktivitelerindeki (Ünite/mg protein) değişim

Uçucu Yağ	GÜN			
	Başlangıç	Birinci	Üçüncü	Beşinci
Kontrol ^A	0,55±0,16 ^a	0,35±0,03 ^a	0,85±0,15 ^b	0,49±0,02 ^a
<i>O. bilgeri</i> ^A	0,55±0,16 ^a	0,25±0,02 ^b	0,36±0,05 ^b	1,04±0,07 ^c
<i>O. majorana</i> ^A	0,55±0,16 ^a	0,07±0,01 ^b	0,67±0,00 ^a	1,05±0,09 ^c
<i>O. minutiflorum</i> ^B	0,55±0,16 ^a	0,13±0,05 ^b	1,36±0,08 ^c	1,12±0,07 ^d
<i>O. syriacum</i> subsp. <i>bevani</i> ^C	0,55±0,16 ^a	0,10±0,01 ^b	0,57±0,06 ^a	0,32±0,12 ^c
<i>O. vogelii</i> ^A	0,55±0,16 ^a	0,42±0,16 ^a	0,30±0,04 ^a	1,16±0,26 ^b

^{A-C}: Aynı kolondaki farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiksel açıdan farklıdır (p<0,05)

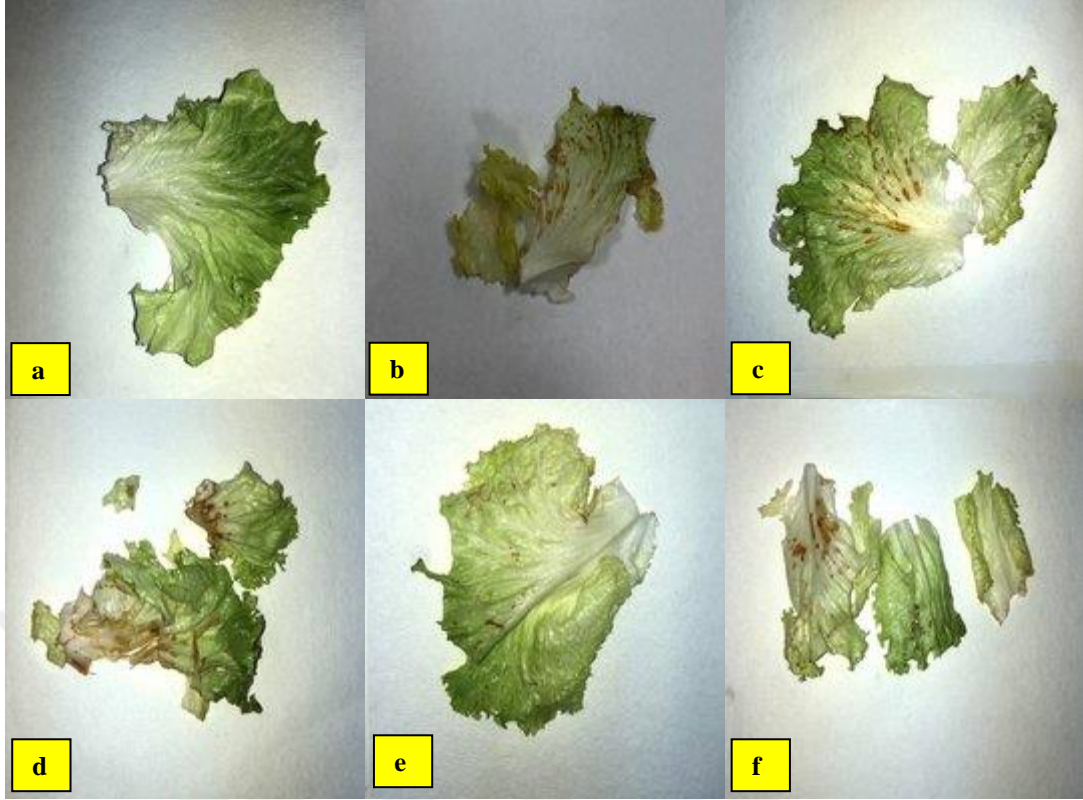
^{a-d}: Aynı satırdaki farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiksel açıdan farklıdır (p<0,05)



Şekil 4.9. Ekstraktla (500 µl) muamele edilmiş kıvırcık örneklerinin 5 günlük depolama periyodu sonrası görüntüsü (a: Kontrol örneği; b: *O. bilgeri*; c: *O. majorana*; d: *O. minutiflorum*; e: *O. onites*; f: *O. syriacum* subsp. *bevanii*; g: *O. vogelii*; h: *O. vulgare* subsp. *hirtum* sulu ekstraktı uygulanmış örnekler)



Şekil 4.10. Hidrosolle (500 µl) ile muamele edilmiş kıvırcık örneklerinin 5 günlük depolama periyodu sonrası görüntüsü (a: Kontrol örneği; b: *O. bilgeri*; c: *O. majorana*; d: *O. minutiflorum*; e: *O. syriacum* subsp. *bevanii*; f: *O. vogelii* hidrosolü uygulanmış örnekler)

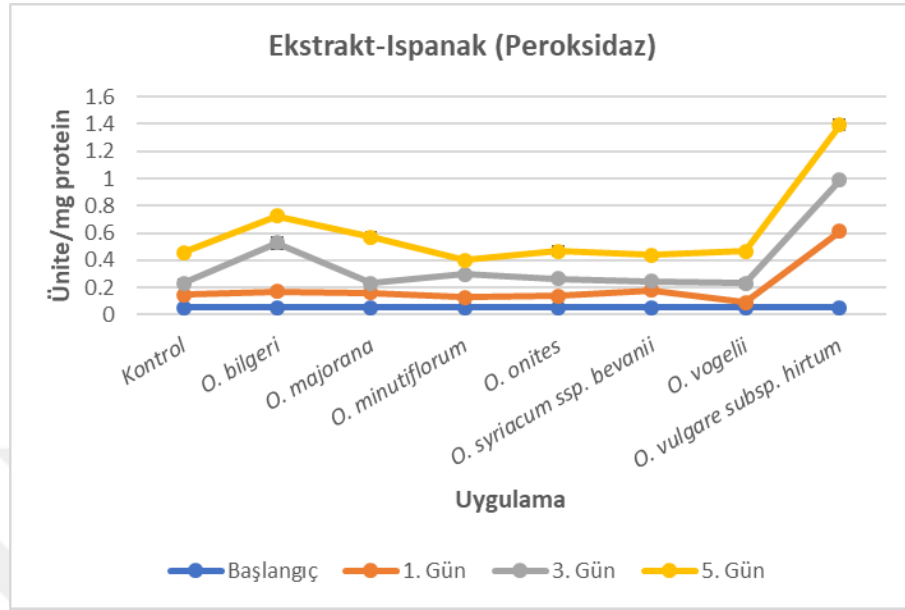


Şekil 4.11. Uçucu yağ (5 µl) ile muamele edilmiş kıvırcık örneklerinin 5 günlük depolama periyodu sonrası görüntüsü (a: Kontrol örneği; b: *O. bilgeri*; c: *O. majorana*; d: *O. minutiflorum*; e: *O. syriacum* subsp. *bevanii*; f: *O. vogelii* uçucu yağı uygulanmış örnekler)

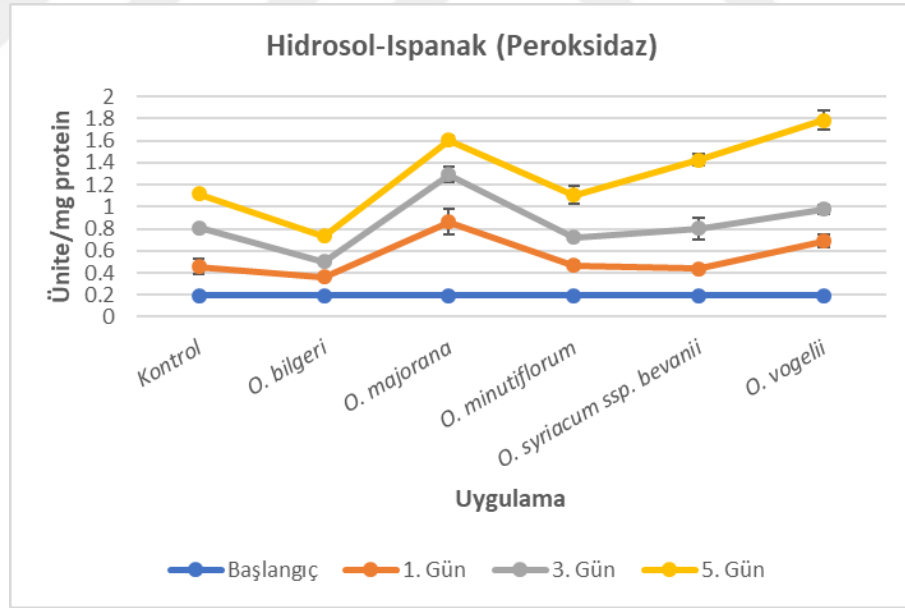
4.2.1.2. Ispanak örneklerindeki peroksidaz aktivitesindeki değişimler

Kontrol grubu ıspanak örneklerinde ve farklı *Origanum* türlerinden elde edilen sulu ekstraktların, hidrosollerin ve uçucu yağların uygulandığı ıspanak örneklerinde 5 günlük depolama süresi boyunca POD aktivitelerindeki değişim Şekil 4.12, 4.13 ve 4.14'te gösterilmiştir. Örneklerin başlangıç günü POD aktiviteleri göz önünde bulundurulduğunda, POD aktivitesindeki minimum değerler ekstraktla muamele edilmiş örneklerde %16,97'lik azalma ile 1. gün sonunda *O. vogelii* uygulanmış örnekte $0,04 \pm 0,001$ Ünite/mg protein, hidrosol uygulamasında % 26,97'lük azalma ile 3. gün sonunda *O. bilgeri* uygulanmış örnekte $0,14 \pm 0,006$ Ünite/mg protein ve %17,22'lik azalma ile uçucu yağ için 1. gün sonunda *O. minutiflorum* uygulanmış örnekte $0,08 \pm 0,006$ Ünite/mg protein olarak belirlenmiştir. Çizelge 4.8, 4.9 ve 4.10'da görüldüğü gibi, enzim aktivitesindeki bu azalmalar başlangıçla kıyaslandığı zaman her üç uygulama için de istatistiki açıdan herhangi bir fark bulunmadığı sonucuna varılmıştır ($p > 0,05$). Ispanak örneklerinde maksimum POD aktivitesi değerlerine,

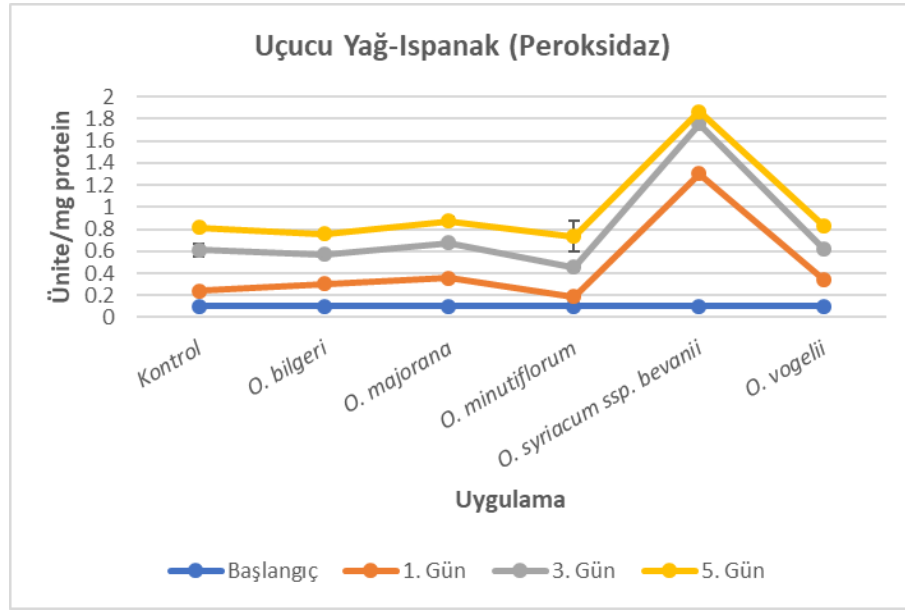
ekstrakt, hidrosol ve uçucu yağ uygulamaları için sırasıyla *O. vulgare* subsp. *hirtum*, *O. vogelii* ve *O. syriacum* subsp. *bevanii* bitki örnekleri neden olmuştur.



Şekil 4.12. Ekstraktla (500 µl) muamele edilmiş ıspanak örneklerinin beş günlük depolama süresince POD aktivitelerindeki değişim



Şekil 4.13. Hidrosolle (500 µl) muamele edilmiş ıspanak örneklerinin beş günlük depolama süresince POD aktivitelerindeki değişim



Şekil 4.14. Uçucu yağlarla (5 µl) muamele edilmiş ıspanak örneklerinin beş günlük depolama süresince POD aktivitelerindeki değişim

Farklı bitki uygulamaları dikkate alındığında, Çizelge 4.8, 4.9 ve 4.10'da görüldüğü gibi, 5 günlük depolama periyodunun sonunda bazı bitki türleri ile muamele edilmiş ıspanak örneklerinin POD aktivitesi ortalamalarındaki farklılıklar kontrolle kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bulunurken ($p \leq 0,05$), bazılarındaki değişim istatistiksel açıdan önemli değildir ($p > 0,05$). Depolama sonrası ıspanak örneklerinin görüntüleri Şekil 4.15, 4.16, ve 4.17'de verilmiştir. Tüm uygulamalar kendi kontrol gruplarıyla kıyaslandığında, uygulamalar genel olarak gıdanın tekstüründe belirgin bir yumuşamaya neden olmuştur.

Çizelge 4.8. Ekstraktla (500 µl) muamele edilmiş ıspanak örneklerinin beş günlük depolama süresince POD aktivitelerindeki (Ünite/mg protein) değişim

Ekstrakt	GÜN			
	Başlangıç	Birinci	Üçüncü	Beşinci
Kontrol ^A	0,05±0,01 ^a	0,10±0,02 ^b	0,09±0,02 ^b	0,22±0,02 ^c
<i>O. bilgeri</i> ^B	0,05±0,01 ^a	0,12±0,00 ^b	0,36±0,04 ^c	0,20±0,01 ^d
<i>O. majorana</i> ^C	0,05±0,01 ^a	0,11±0,01 ^b	0,07±0,01 ^{ab}	0,34±0,04 ^c
<i>O. minutiflorum</i> ^A	0,05±0,01 ^a	0,08±0,02 ^b	0,17±0,00 ^c	0,10±0,00 ^d
<i>O. onites</i> ^A	0,05±0,01 ^a	0,09±0,01 ^b	0,12±0,02 ^c	0,20±0,03 ^d
<i>O. syriacum subsp. bevanii</i> ^A	0,05±0,01 ^a	0,13±0,00 ^b	0,07±0,02 ^c	0,19±0,01 ^d
<i>O. vogelii</i> ^A	0,05±0,01 ^a	0,04±0,00 ^a	0,14±0,03 ^{ab}	0,23±0,01 ^b
<i>O. vulgare subsp. hirtum</i> ^D	0,05±0,01 ^a	0,56±0,01 ^b	0,38±0,00 ^c	0,40±0,03 ^c

^{A-D}: Aynı kolondaki farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiksel açıdan farklıdır ($p < 0,05$)

^{a-d}: Aynı satırdaki farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiksel açıdan farklıdır ($p < 0,05$)

Çizelge 4.9. Hidrosolle (500 µl) muamele edilmiş ıspanak örneklerinin beş günlük depolama süresince POD aktivitelerindeki (Ünite/mg protein) değişim

Hidrosol	GÜN			
	Başlangıç	Birinci	Üçüncü	Beşinci
Kontrol ^{AB}	0,19±0,02 ^a	0,26±0,07 ^{ab}	0,35±0,01 ^c	0,31±0,02 ^{bc}
<i>O. bilgeri</i> ^A	0,19±0,02 ^a	0,17±0,01 ^{ab}	0,14±0,01 ^b	0,23±0,02 ^c
<i>O. majorana</i> ^{AB}	0,19±0,02 ^a	0,67±0,12 ^{ab}	0,43±0,07 ^{ab}	0,32±0,03 ^b
<i>O. minutiflorum</i> ^B	0,19±0,02 ^a	0,27±0,03 ^a	0,26±0,02 ^a	0,38±0,08 ^b
<i>O. syriacum</i> subsp. <i>bevanii</i> ^{AB}	0,19±0,02 ^a	0,24±0,02 ^a	0,37±0,10 ^b	0,62±0,05 ^c
<i>O. vogelii</i> ^B	0,19±0,02 ^a	0,50±0,06 ^b	0,29±0,04 ^a	0,81±0,08 ^c

^{A, B}: Aynı kolondaki farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiksel açıdan farklıdır (p<0,05)

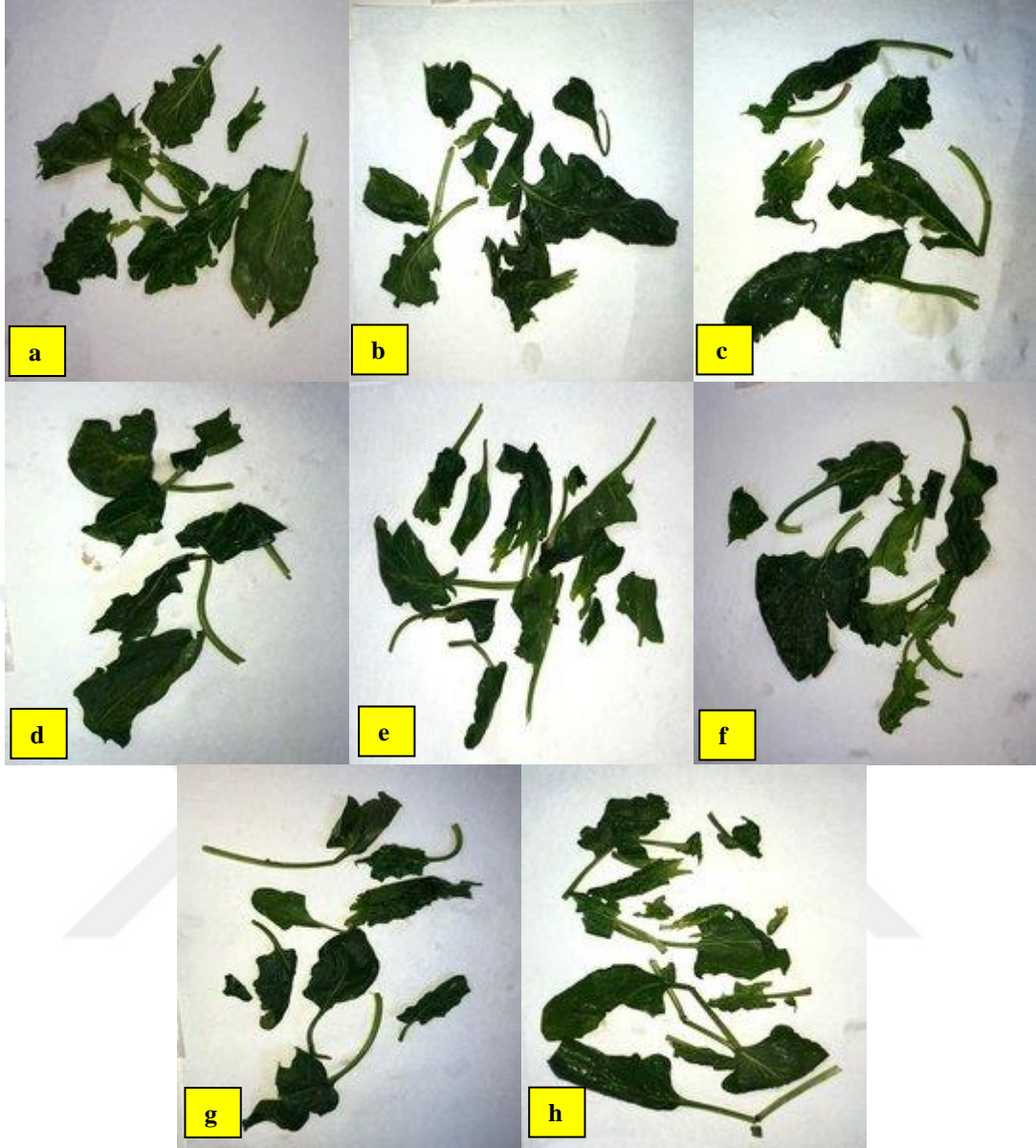
^{a-c}: Aynı satırdaki farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiksel açıdan farklıdır (p<0,05)

Çizelge 4.10. Uçucu yağ (5 µl) ile muamele edilmiş ıspanak örneklerinin beş günlük depolama süresince POD aktivitelerindeki (Ünite/mg protein) değişim

Uçucu Yağ	GÜN			
	Başlangıç	Birinci	Üçüncü	Beşinci
Kontrol ^A	0,10±0,01 ^a	0,14±0,00 ^a	0,37±0,06 ^b	0,21±0,01 ^c
<i>O. bilgeri</i> ^A	0,10±0,01 ^a	0,20±0,01 ^b	0,26±0,02 ^c	0,18±0,01 ^b
<i>O. majorana</i> ^A	0,10±0,01 ^a	0,25±0,03 ^b	0,32±0,02 ^c	0,19±0,03 ^d
<i>O. minutiflorum</i> ^A	0,10±0,01 ^a	0,08±0,01 ^a	0,27±0,03 ^b	0,28±0,14 ^{ab}
<i>O. syriacum</i> subsp. <i>bevanii</i> ^B	0,10±0,01 ^a	1,20±0,03 ^b	0,46±0,03 ^c	0,11±0,01 ^a
<i>O. vogelii</i> ^A	0,10±0,01 ^a	0,24±0,02 ^b	0,28±0,02 ^c	0,21±0,01 ^b

^{A, B}: Aynı kolondaki farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiksel açıdan farklıdır (p<0,05)

^{a-c}: Aynı satırdaki farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiksel açıdan farklıdır (p<0,05)



Şekil 4.15. Ekstraktla (500 µl) muamele edilmiş ıspanak örneklerinin 5 günlük depolama periyodu sonrası görüntüsü (a: Kontrol örneği; b: *O. bilgeri*; c: *O. majorana*; d: *O. minutiflorum*; e: *O. onites*; f: *O. syriacum* subsp. *bevanii*; g: *O. vogelii*; h: *O. vulgare* subsp. *hirtum* sulu ekstraktı uygulanmış örnekler)



Şekil 4.16. Hidrosolle (500 µl) ile muamele edilmiş ıspanak örneklerinin 5 günlük depolama periyodu sonrası görüntüsü (a: Kontrol örneği; b: *O. bilgeri*; c: *O. majorana*; d: *O. minutiflorum*; e: *O. syriacum* subsp. *bevanii*; f: *O. vogelii* hidrosolü uygulanmış örnekler)



Şekil 4.17. Uçucu yağ (5 µl) ile muamele edilmiş ıspanak örneklerinin 5 günlük depolama periyodu sonrası görüntüsü (a: Kontrol örneği; b: *O. bilgeri*; c: *O. majorana*; d: *O. minutiflorum*; e: *O. syriacum* subsp. *bevanii*; f: *O. vogelii* uçucu yağı uygulanmış örnekler)

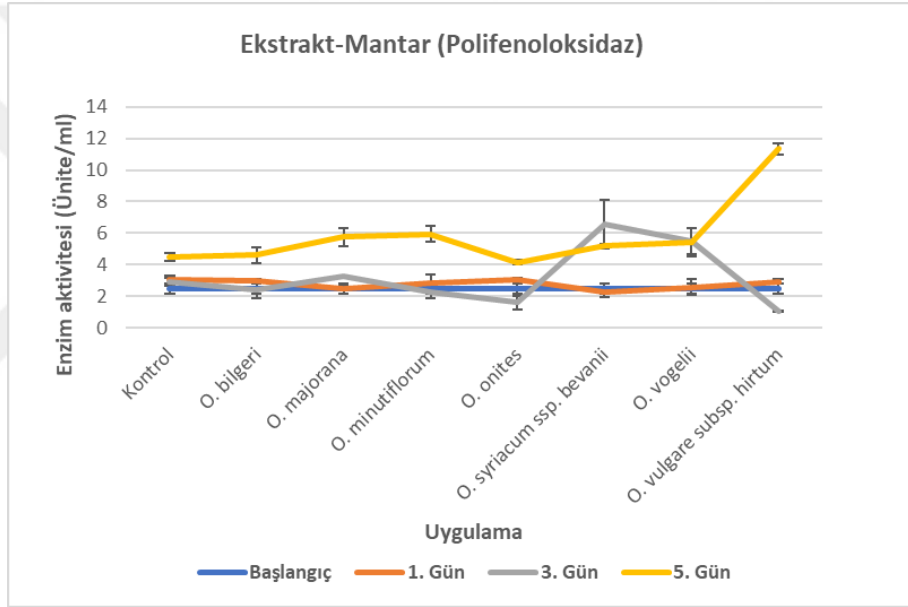
Hem kıvrıkcık hem de ıspanak örneklerinde 5 günlük depolama süresince elde edilen POD aktivitelere bakıldığında, enzim inhibisyonunun bitkinin türü ve formuna göre değişiklik gösterdiği söylenebilir. Kıvrıkcık örneklerinde *O. majorana* uçucu yağı ile POD ativitesinde meydana gelen %86,77'lik azalma, Alvarez ve arkadaşlarının (2015) çay ağacı esansiyel yağıyla (15 µl/ml) muamele edilmiş kesilmiş sebze karışımını (bal kabağı, pırasa, kereviz) kullandıkları çalışmalarındaki, 5 °C'de depolamanın 10. gününde hiçbir ön işlem görmemiş kontrole kıyasla elde edilen %63,83'lük azalma ile benzerlik göstermektedir.

4.2.2. Polifenoloksidaz (PPO) aktivitesine ait sonuçlar

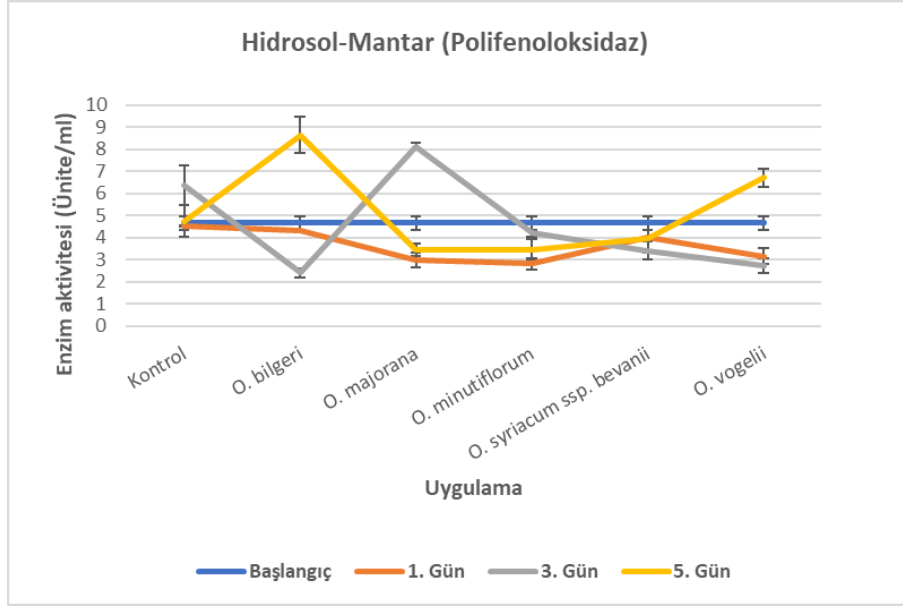
4.2.2.1. Mantar örneklerindeki polifenoloksidaz aktivitesindeki değişimler

5 günlük depolama süresi boyunca hiçbir ön işlem görmeden depolanmış kontrol grubu mantar örneklerinde ve farklı *Origanum* türlerinden elde edilen sulu ekstraktların, hidrosollerin ve uçucu yağların uygulandığı mantar örneklerinde, PPO aktivitesindeki

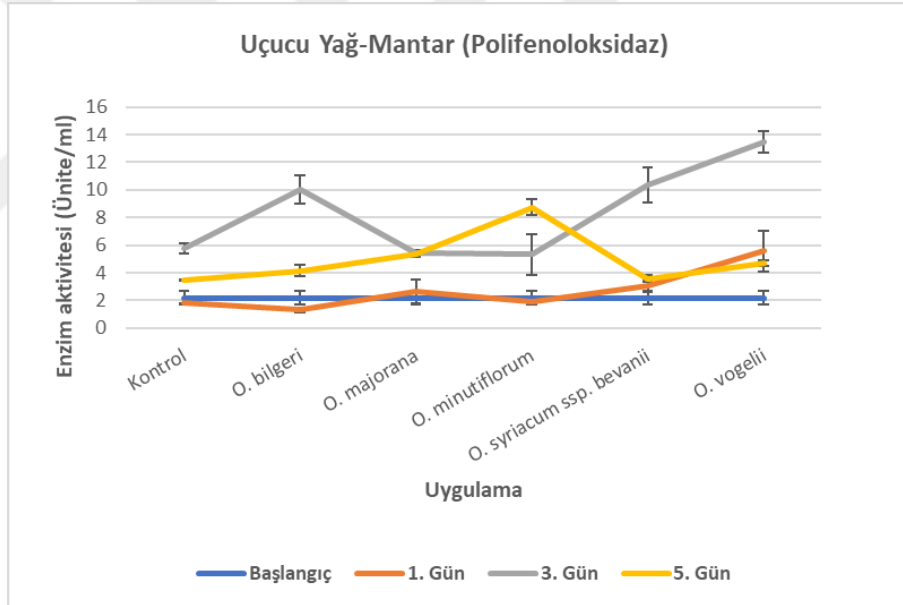
değişim Şekil 4.18, 4.19 ve 4.20’de verilmiştir. Örneklerin başlangıç günü PPO aktiviteleri dikkate alındığında, PPO aktivitesindeki minimum değerler ekstraktla muamele edilmiş örneklerde %58,59’luk azalma ile 3. gün sonunda *O. vulgare* subsp. *hirtum* uygulanmış örnekte $1,04 \pm 0,053$ Ünite/ml, hidrosol uygulamasında % 48,42’lik azalma ile 3. gün sonunda *O. bilgeri* uygulanmış örnekte $2,40 \pm 0,194$ Ünite/ml ve % 40,49’luk azalma ile uçucu yağ için 1. gün sonunda *O. bilgeri* uygulanmış örnekte $1,30 \pm 0,180$ Ünite/ml olarak belirlenmiştir. Çizelge 4.11, 4.12 ve 4.13’te görüldüğü gibi, ekstrakt ve hidrosol uygulamasında enzim aktivitelerindeki bu azalmalar başlangıçla kıyaslandığında istatistiksel açıdan önemli bulunurken ($p \leq 0,05$), uçucu yağ uygulamasında ulaşılan minimum aktivite istatistiksel açıdan anlamlı değildir ($p > 0,05$).



Şekil 4.18. Ekstraktla (500 µl) muamele edilmiş mantar örneklerinin beş günlük depolama süresince PPO aktivitelerindeki değişim



Şekil 4.19. Hidrosolle (500 µl) muamele edilmiş mantar örneklerinin beş günlük depolama süresince PPO aktivitelerindeki değişim



Şekil 4.20. Uçucu yağlarla (5 µl) muamele edilmiş mantar örneklerinin beş günlük depolama süresince PPO aktivitelerindeki değişim

Farklı bitki uygulamaları dikkate alındığında, Çizelge 4.11, 4.12 ve 4.13'te görüldüğü gibi, 5 günlük depolama periyodunun sonunda bazı bitki türleri ile muamele edilmiş mantar örneklerinin PPO aktivitesi ortalamalarındaki farklılıklar kontrolle kıyaslandığında, istatistiksel açıdan anlamlı bulunurken ($p \leq 0,05$), bazılarındaki değişim istatistiksel açıdan önemli değildir ($p > 0,05$). Depolama periyodu sonrasında mantar örneklerine ait görüntüler, Şekil 4.21, 4.22 ve 4.23'te sunulmuştur. Buna göre, mantar

örneklerinde en fazla enzimatik kararmının uçucu yağ uygulaması sonrasında meydana geldiği söylenebilir.

Çizelge 4.11. Ekstraktla (500 µl) muamele edilmiş mantar örneklerinin beş günlük depolama süresince PPO aktivitelerindeki (Ünite/ml) değişim

Ekstrakt	GÜN			
	Başlangıç	Birinci	Üçüncü	Beşinci
Kontrol ^{AC}	2,51±0,32 ^a	3,06±0,28 ^a	2,93±0,26 ^a	4,48±0,27 ^b
<i>O. bilgeri</i> ^{ABC}	2,51±0,32 ^a	2,99±0,08 ^a	2,38±0,52 ^a	4,60±0,50 ^b
<i>O. majorana</i> ^A	2,51±0,32 ^a	2,18±0,59 ^a	3,29±0,01 ^b	5,76±0,56 ^c
<i>O. minutiflorum</i> ^{ABC}	2,51±0,32 ^a	2,85±0,52 ^a	2,24±0,34 ^a	5,94±0,51 ^b
<i>O. onites</i> ^C	2,51±0,32 ^a	3,09±0,04 ^b	1,60±0,44 ^c	4,15±0,14 ^d
<i>O. syriacum</i> subsp. <i>bevanii</i> ^{ABC}	2,51±0,32 ^a	2,25±0,33 ^a	6,56±1,53 ^b	5,21±0,12 ^c
<i>O. vogelii</i> ^{ABC}	2,51±0,32 ^a	2,59±0,52 ^a	5,50±0,82 ^b	5,44±0,89 ^c
<i>O. vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> ^B	2,51±0,32 ^a	2,94±0,12 ^a	1,04±0,05 ^b	11,34±0,36 ^c

^{A-C}: Aynı kolondaki farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiksel açıdan farklıdır (p<0,05)

^{a-d}: Aynı satırdaki farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiksel açıdan farklıdır (p<0,05)

Çizelge 4.12. Hidrosolle (500 µl) muamele edilmiş mantar örneklerinin beş günlük depolama süresince PPO aktivitelerindeki (Ünite/ml) değişim

Hidrosol	GÜN			
	Başlangıç	Birinci	Üçüncü	Beşinci
Kontrol ^A	4,66±0,30 ^a	4,52±0,01 ^a	6,36±0,91 ^b	4,75±0,70 ^a
<i>O. bilgeri</i> ^A	4,66±0,30 ^a	4,30±0,04 ^a	2,40±0,19 ^b	8,64±0,84 ^c
<i>O. majorana</i> ^A	4,66±0,30 ^a	3,00±0,32 ^b	8,12±0,15 ^c	3,46±0,28 ^b
<i>O. minutiflorum</i> ^C	4,66±0,30 ^a	2,82±0,26 ^b	4,20±0,14 ^a	3,47±0,44 ^c
<i>O. syriacum</i> subsp. <i>bevanii</i> ^{BC}	4,66±0,30 ^a	4,01±0,60 ^{ab}	3,42±0,43 ^b	3,97±0,64 ^{ab}
<i>O. vogelii</i> ^B	4,66±0,30 ^a	3,16±0,37 ^b	2,73±0,33 ^b	6,70±0,39 ^c

^{A-C}: Aynı kolondaki farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiksel açıdan farklıdır (p<0,05)

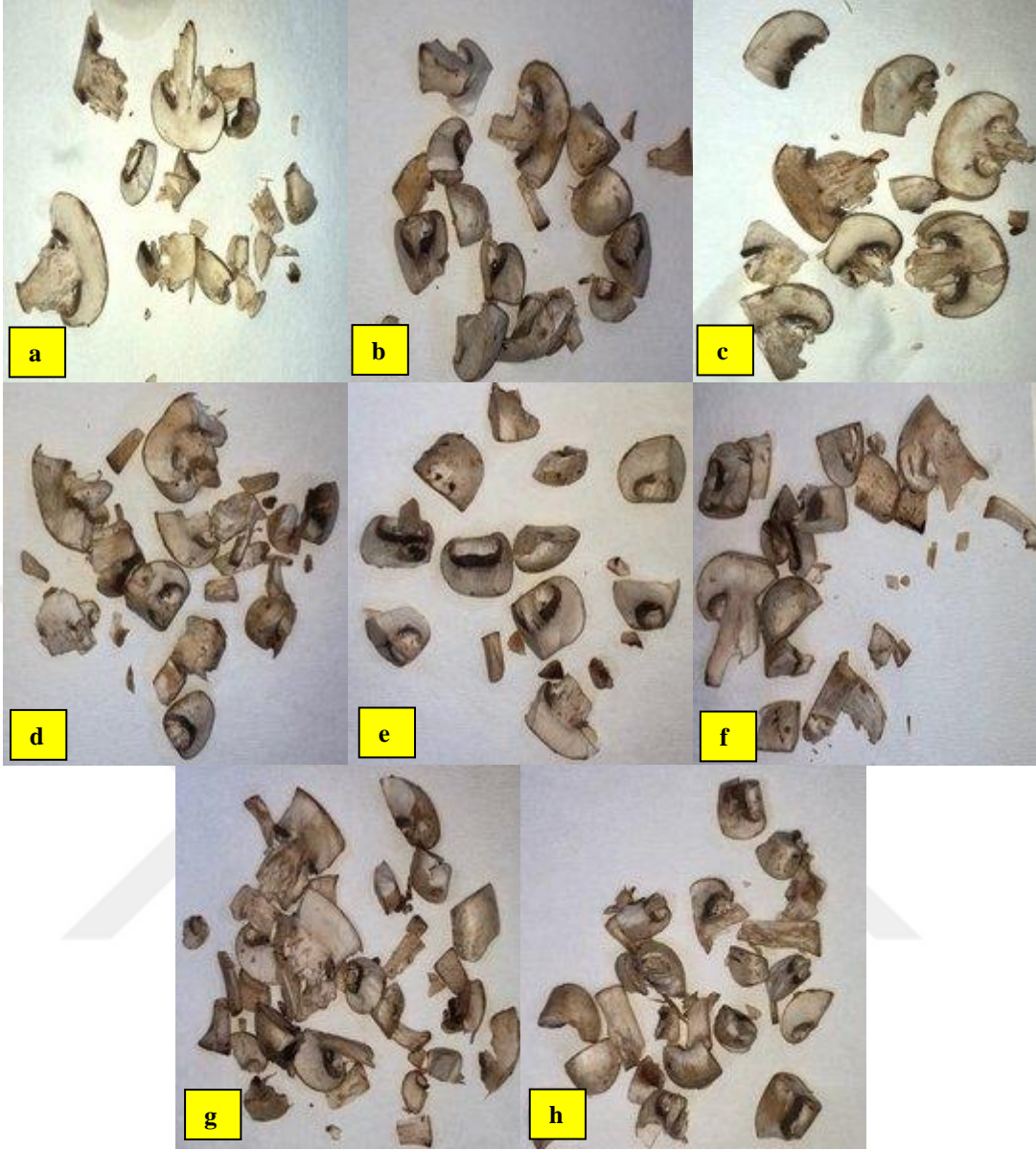
^{a-c}: Aynı satırdaki farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiksel açıdan farklıdır (p<0,05)

Çizelge 4.13. Uçucu yağ (5 µl) ile muamele edilmiş mantar örneklerinin beş günlük depolama süresince PPO aktivitelerindeki (Ünite/ml) değişim

Uçucu Yağ	GÜN			
	Başlangıç	Birinci	Üçüncü	Beşinci
Kontrol ^A	2,19±0,52 ^a	1,83±0,01 ^a	5,75±0,37 ^b	3,50±0,05 ^c
<i>O. bilgeri</i> ^B	2,19±0,52 ^a	1,30±0,18 ^a	10,03±0,99 ^b	4,14±0,40 ^c
<i>O. majorana</i> ^{AB}	2,19±0,52 ^a	2,66±0,83 ^a	5,40±0,24 ^b	5,35±0,09 ^b
<i>O. minutiflorum</i> ^B	2,19±0,52 ^a	1,94±0,16 ^a	5,33±1,47 ^b	8,75±0,60 ^c
<i>O. syriacum</i> subsp. <i>bevanii</i> ^B	2,19±0,52 ^a	3,06±0,44 ^a	10,37±1,27 ^b	3,58±0,24 ^a
<i>O. vogelii</i> ^C	2,19±0,52 ^a	5,59±1,48 ^b	13,46±0,77 ^c	4,68±0,20 ^b

^{A-C}: Aynı kolondaki farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiksel açıdan farklıdır (p<0,05)

^{a-c}: Aynı satırdaki farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiksel açıdan farklıdır (p<0,05)



Şekil 4.21. Ekstraktla (500 µl) muamele edilmiş mantar örneklerinin 5 günlük depolama periyodu sonrası görüntüsü (a: Kontrol örneği; b: *O. bilgeri*; c: *O. majorana*; d: *O. minutiflorum*; e: *O. onites*; f: *O. syriacum* subsp. *bevanii*; g: *O. vogelii*; h: *O. vulgare* subsp. *hirtum* sulu ekstraktı uygulanmış örnekler)



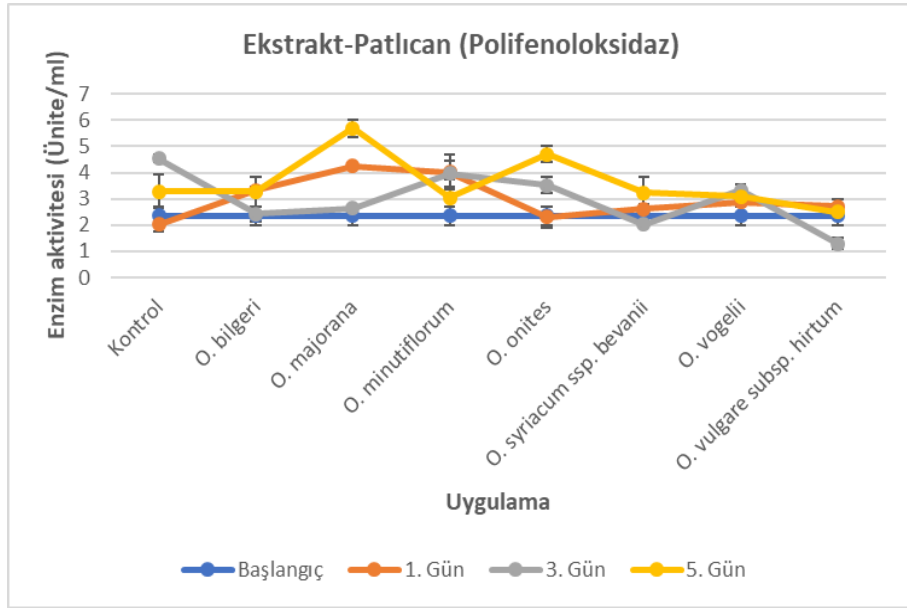
Şekil 4.22. Hidrosolle (500 µl) ile muamele edilmiş mantar örneklerinin 5 günlük depolama periyodu sonrası görüntüsü (a: Kontrol örneği; b: *O. bilgeri*; c: *O. majorana*; d: *O. minutiflorum*; e: *O. syriacum* subsp. *bevanii*; f: *O. vogelii* hidrosolü uygulanmış örnekler)



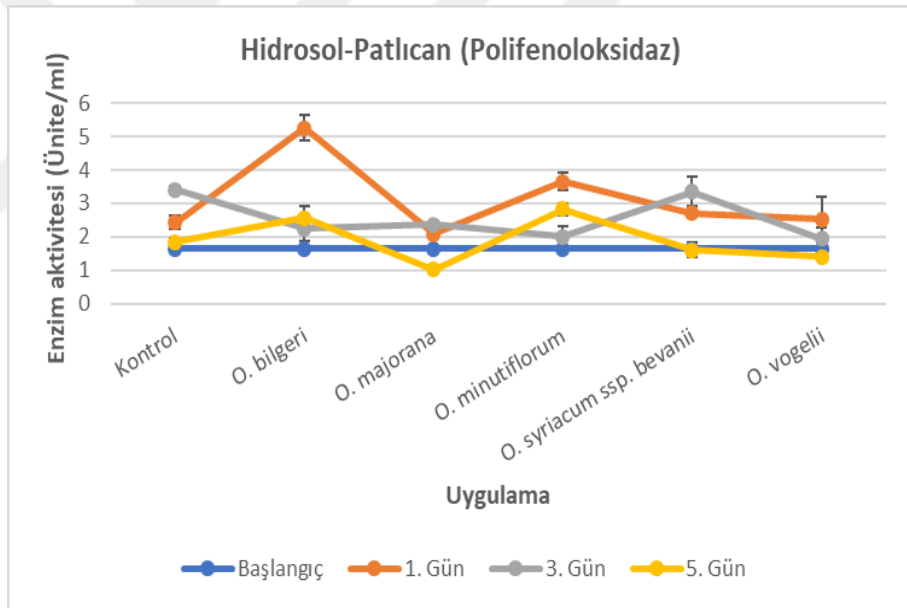
Şekil 4.23. Uçucu yağ (5 µl) ile muamele edilmiş mantar örneklerinin 5 günlük depolama periyodu sonrası görüntüsü (a: Kontrol örneği; b: *O. bilgeri*; c: *O. majorana*; d: *O. minutiflorum*; e: *O. syriacum* subsp. *bevanii*; f: *O. vogelii* uçucu yağı uygulanmış örnekler)

4.2.2.2. Patlıcan örneklerindeki polifenoloksidaz (PPO) aktivitesindeki değişimler

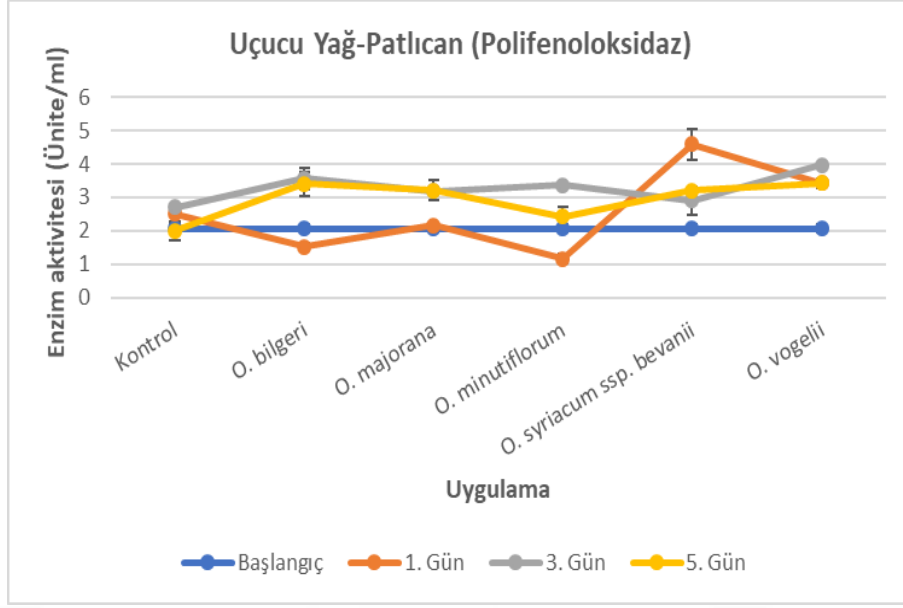
Hiçbir ön işlem görmeden depolanmış kontrol grubu patlıcan örneklerinde ve farklı *Origanum* türlerinden elde edilen ekstraktların, hidrosollerin ve uçucu yağların uygulandığı patlıcan örneklerinde 5 günlük depolama süresi boyunca PPO aktivitelerindeki değişim, Şekil 4.24, 4.25 ve 4.26'da gösterilmiştir. Örneklerin başlangıç günü PPO aktiviteleri göz önünde bulundurulduğunda, PPO aktivitesindeki minimum değerler ekstraktla muamele edilmiş örneklerde %44,74'lük azalma ile 3. gün sonunda *O. vulgare* subsp. *hirtum* uygulanmış örnekte $1,30 \pm 0,227$ Ünite/ml, hidrosol uygulamasında %37,79'lük azalma ile 5. gün sonunda *O. majorana* uygulanmış örnekte $1,02 \pm 0,121$ Ünite/ml ve % 43,69'lük azalma ile uçucu yağ için 1. gün sonunda *O. minutiflorum* uygulanmış örnekte $1,16 \pm 0,154$ Ünite/ml olarak belirlenmiştir. Çizelge 4.14, 4.15 ve 4.16'da görüldüğü gibi, enzim aktivitesindeki bu azalmalar başlangıçla kıyaslandığında istatistiki açıdan anlamlı bulunmuştur ($p \leq 0,05$).



Şekil 4.24. Ekstraktla (500 µl) muamele edilmiş patlıcan örneklerinin beş günlük depolama süresince PPO aktivitelerindeki değişim



Şekil 4.25. Hidrosolle (500 µl) muamele edilmiş patlıcan örneklerinin beş günlük depolama süresince PPO aktivitelerindeki değişim



Şekil 4.26. Uçucu yağlarla (5 µl) muamele edilmiş patlıcan örneklerinin beş günlük depolama süresince PPO aktivitelerindeki değişim

Farklı bitki uygulamaları dikkate alındığında, Çizelge 4.14, 4.15 ve 4.16'da görüldüğü gibi, 5 günlük depolama periyodunun sonunda bazı bitki türleri ile muamele edilmiş patlıcan örneklerinin PPO aktivitesi ortalamalarındaki farklılıklar kontrolle kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bulunurken ($p \leq 0,05$), bazılarındaki değişim istatistiksel açıdan önemli değildir ($p > 0,05$). Patlıcan örneklerinin 5 günlük depolama sonundaki görüntüleri, Şekil 4.27, 4.28 ve 4.29'da verilmiştir. Her üç uygulamada da patlıcan örneklerindeki enzimatik kararmanın önüne geçilememiştir.

Çizelge 4.14. Ekstraktla (500 µl) muamele edilmiş patlıcan örneklerinin beş günlük depolama süresince PPO aktivitelerindeki (Ünite/ml) değişim

Ekstrakt	GÜN			
	Başlangıç	Birinci	Üçüncü	Beşinci
Kontrol ^{AD}	2,35±0,35 ^a	2,03±0,28 ^a	4,54±0,12 ^c	3,28±0,65 ^b
<i>O. bilgeri</i> ^{ABD}	2,35±0,35 ^a	3,33±0,15 ^b	2,43±0,28 ^a	3,28±0,57 ^b
<i>O. majorana</i> ^A	2,35±0,35 ^a	4,25±0,04 ^b	2,63±0,01 ^a	5,69±0,33 ^c
<i>O. minutiflorum</i> ^{AB}	2,35±0,35 ^a	4,02±0,65 ^b	3,96±0,49 ^b	3,05±0,69 ^{ab}
<i>O. onites</i> ^{AB}	2,35±0,35 ^a	2,31±0,41 ^a	3,51±0,31 ^b	4,70±0,32 ^c
<i>O. syriacum subsp. bevanii</i> ^D	2,35±0,35 ^a	2,62±0,20 ^{ab}	2,02±0,07 ^a	3,22±0,62 ^b
<i>O. vogelii</i> ^{ABD}	2,35±0,35 ^a	2,87±0,52 ^{ab}	3,33±0,23 ^b	3,08±0,02 ^b
<i>O. vulgare subsp. hirtum</i> ^{CD}	2,35±0,35 ^a	2,72±0,27 ^a	1,30±0,23 ^b	2,49±0,02 ^a

^{A-D}: Aynı kolondaki farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiksel açıdan farklıdır ($p < 0,05$)

^{a-c}: Aynı satırdaki farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiksel açıdan farklıdır ($p < 0,05$)

Çizelge 4.15. Hidrosolle (500 µl) muamele edilmiş patlıcan örneklerinin beş günlük depolama süresince PPO aktivitelerindeki (Ünite/ml) değişim

Hidrosol	GÜN			
	Başlangıç	Birinci	Üçüncü	Beşinci
Kontrol ^B	1,64±0,01 ^a	2,43±0,20 ^b	3,42±0,11 ^c	1,84±0,10 ^a
<i>O. bilgeri</i> ^C	1,64±0,01 ^a	5,26±0,37 ^c	2,24±0,37 ^b	2,56±0,36 ^b
<i>O. majorana</i> ^A	1,64±0,01 ^a	2,09±0,37 ^c	2,36±0,06 ^c	1,02±0,12 ^b
<i>O. minutiflorum</i> ^B	1,64±0,01 ^a	3,65±0,27 ^c	1,99±0,32 ^a	2,82±0,18 ^b
<i>O. syriacum</i> subsp. <i>bevanii</i> ^B	1,64±0,01 ^a	2,70±0,08 ^b	3,35±0,45 ^c	1,60±0,23 ^a
<i>O. vogelii</i> ^A	1,64±0,01 ^a	2,52±0,69 ^b	1,95±0,34 ^{ab}	1,39±0,09 ^a

^{A-C}: Aynı kolondaki farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiksel açıdan farklıdır (p<0,05)

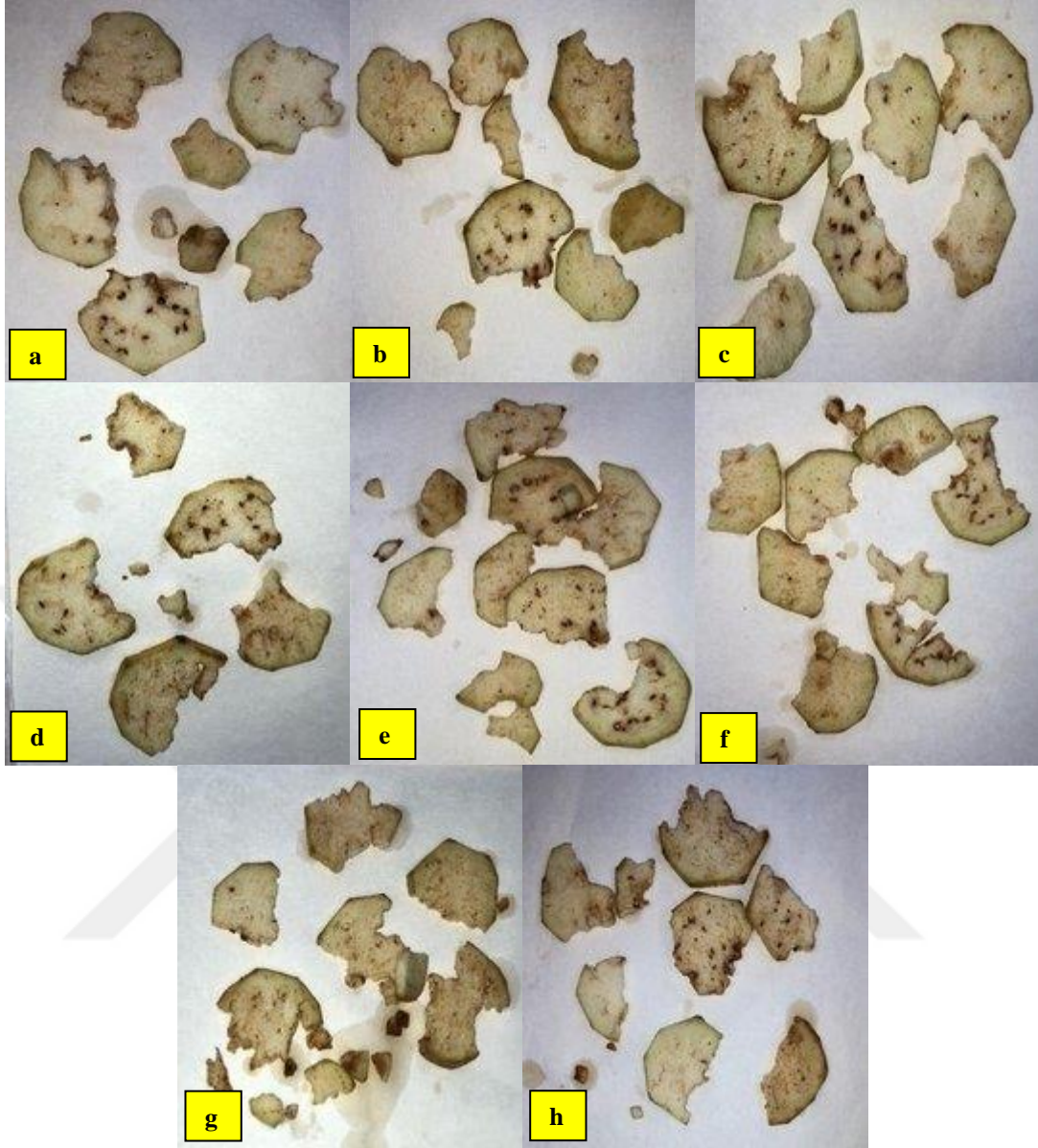
^{a-c}: Aynı satırdaki farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiksel açıdan farklıdır (p<0,05)

Çizelge 4.16. Uçucu yağ (5 µl) ile muamele edilmiş patlıcan örneklerinin beş günlük depolama süresince PPO aktivitelerindeki (Ünite/ml) değişim

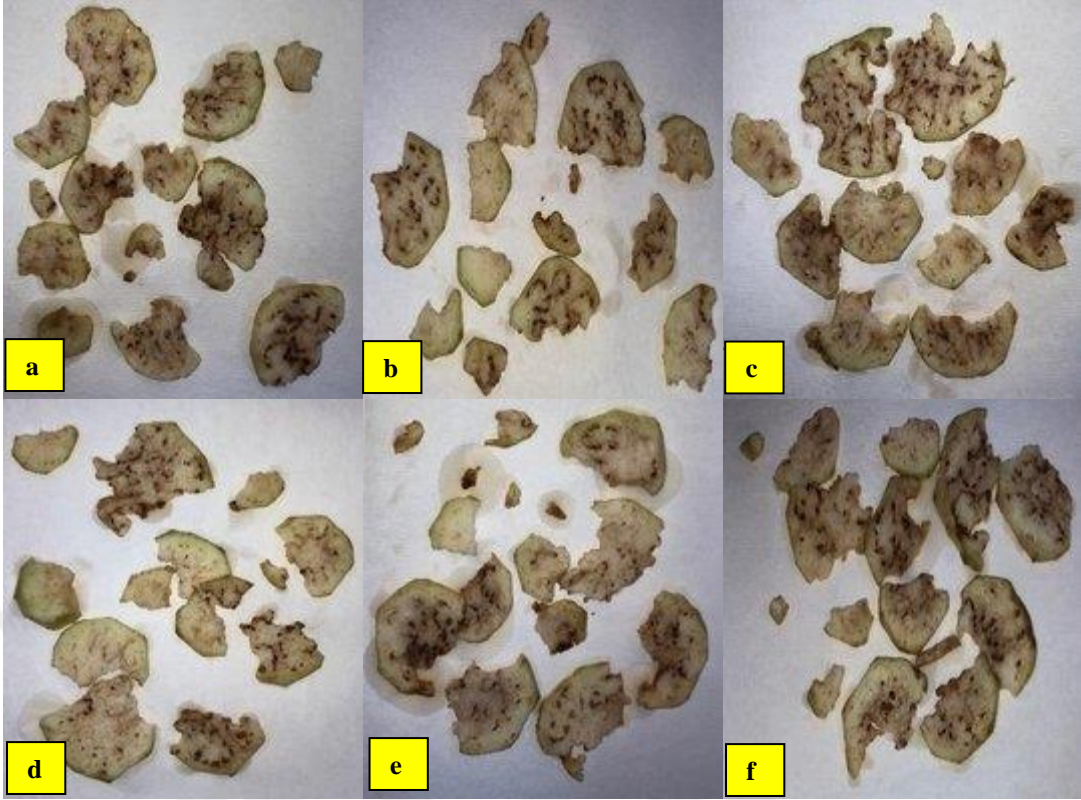
Uçucu Yağ	GÜN			
	Başlangıç	Birinci	Üçüncü	Beşinci
Kontrol ^A	2,07±0,13 ^a	2,50±0,24 ^b	2,70±0,00 ^b	1,99±0,29 ^a
<i>O. bilgeri</i> ^B	2,07±0,13 ^a	1,53±0,12 ^b	3,57±0,32 ^c	3,40±0,36 ^c
<i>O. majorana</i> ^B	2,07±0,13 ^a	2,17±0,01 ^a	3,18±0,12 ^b	3,21±0,31 ^b
<i>O. minutiflorum</i> ^A	2,07±0,13 ^a	1,16±0,15 ^b	3,38±0,01 ^d	2,42±0,29 ^c
<i>O. syriacum</i> subsp. <i>bevanii</i> ^C	2,07±0,13 ^a	4,59±0,47 ^c	2,91±0,43 ^b	3,20±0,03 ^b
<i>O. vogelii</i> ^C	2,07±0,13 ^a	3,43±0,09 ^b	3,97±0,05 ^c	3,43±0,15 ^b

^{A-C}: Aynı kolondaki farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiksel açıdan farklıdır (p<0,05)

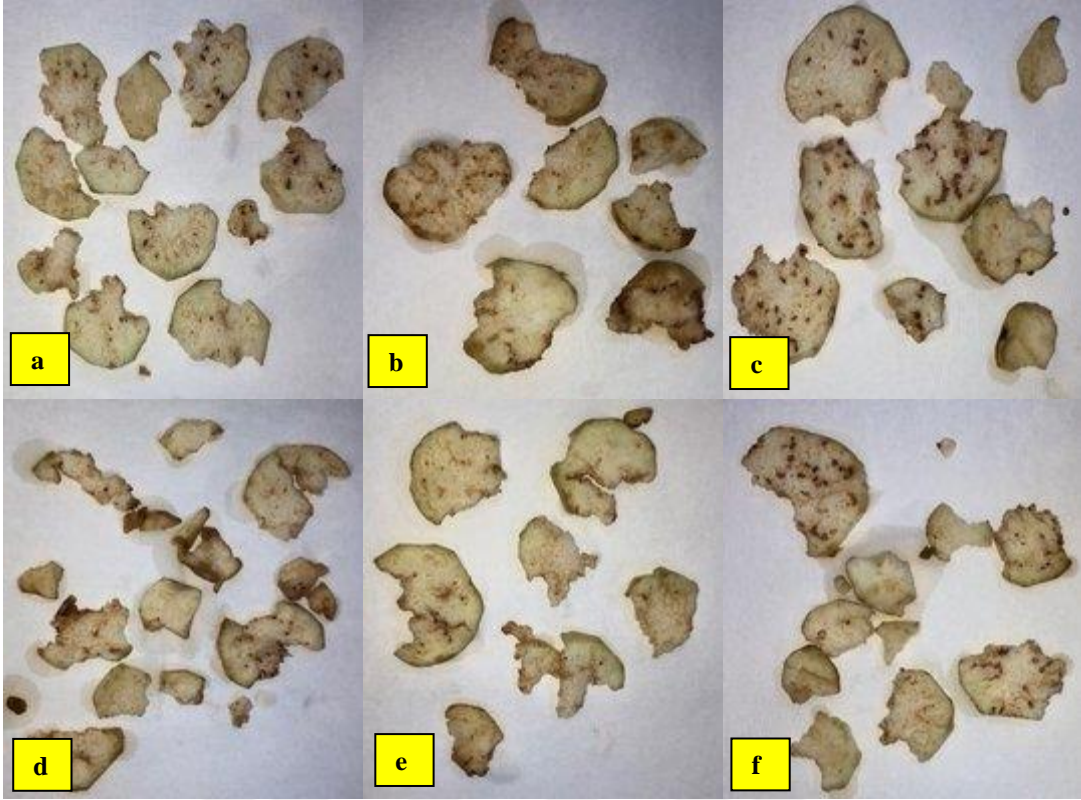
^{a-c}: Aynı satırdaki farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiksel açıdan farklıdır (p<0,05)



Şekil 4.27. Ekstraktla (500 µl) muamele edilmiş patlıcan örneklerinin 5 günlük depolama periyodu sonrası görüntüsü (a: Kontrol örneği; b: *O. bilgeri*; c: *O. majorana*; d: *O. minutiflorum*; e: *O. onites*; f: *O. syriacum* subsp. *bevanii*; g: *O. vogelii*; h: *O. vulgare* subsp. *hirtum* sulu ekstraktı uygulanmış örnekler)



Şekil 4.28. Hidrosolle (500 µl) ile muamele edilmiş patlıcan örneklerinin 5 günlük depolama periyodu sonrası görüntüsü (a: Kontrol örneği; b: *O. bilgeri*; c: *O. majorana*; d: *O. minutiflorum*; e: *O. syriacum* subsp. *bevanii*; f: *O. vogelii* hidrosolü uygulanmış örnekler)



Şekil 4.29. Uçucu yağ (5 µl) ile muamele edilmiş patlıcan örneklerinin 5 günlük depolama periyodu sonrası görüntüsü (a: Kontrol örneği; b: *O. bilgeri*; c: *O. majorana*; d: *O. minutiflorum*; e: *O. syriacum* subsp. *bevanii*; f: *O. vogelii* uçucu yağı uygulanmış örnekler)

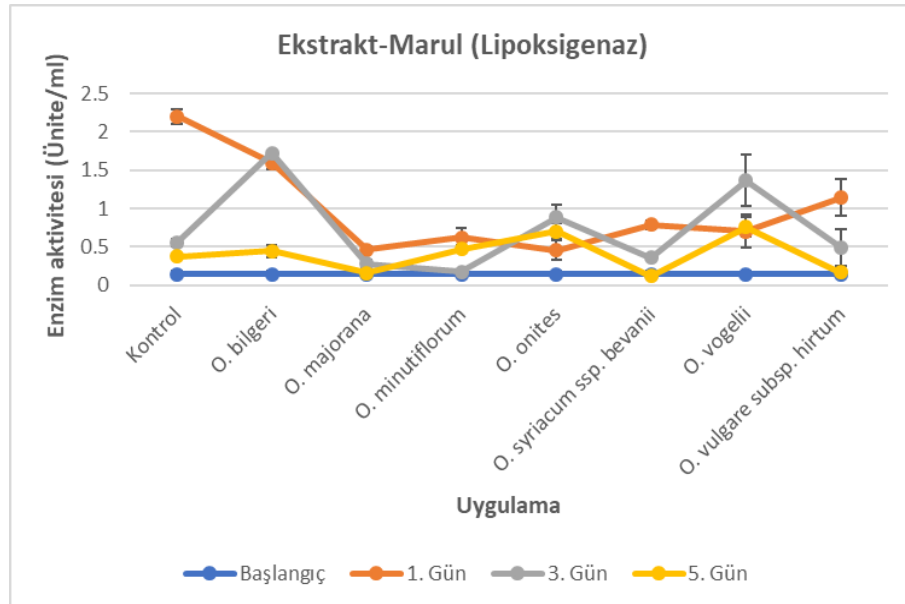
Kaur ve Kapoor (2000) elma, patates ve mantar örneklerinde polifenoloksidazdan ileri gelen enzimatik kararmayı önlemede, muz yaprağı ekstresinin en etkili ajan olduğunu bildirmişlerdir. Bunun nedeninin, bitki ekstresinin PPO substratları ile farklı kompleksler oluşturarak kararma etmeni bileşiklerin oksidasyonunu önlemesinden ileri gelebileceğini öne sürmüşlerdir. Tez kapsamında elde edilen verilere bakıldığında, söz konusu çalışma ile uyumlu olarak *O. vulgare* subsp. *hirtum* ekstraktının da mantar ve patlıcan örneklerinde maksimum PPO inhibisyonuna neden olduğu görülmektedir.

Literatürde mevcut PPO inhibisyonunda bitki ekstrakt formunun etkili olduğu bilgisi (Kim ve ark. 2005; Lee, 2007; Lee ve ark., 2007) ile elde ettiğimiz verilerin uyumlu olduğu sonucuna varılmıştır.

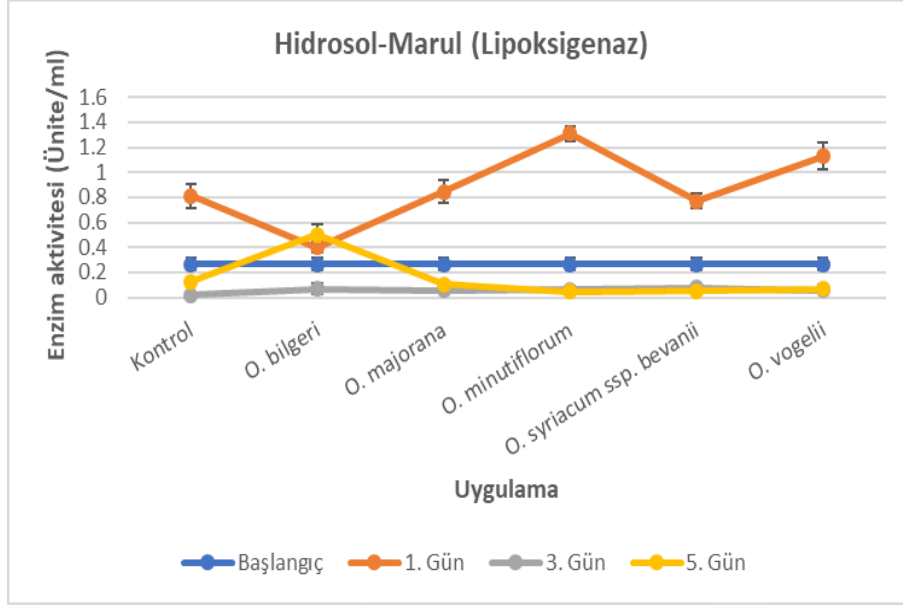
4.2.3. Lipoksigenaz (LOX) aktivitesine ait sonuçlar

4.2.3.1. Marul örneklerindeki lipoksigenaz aktivitesindeki değişimler

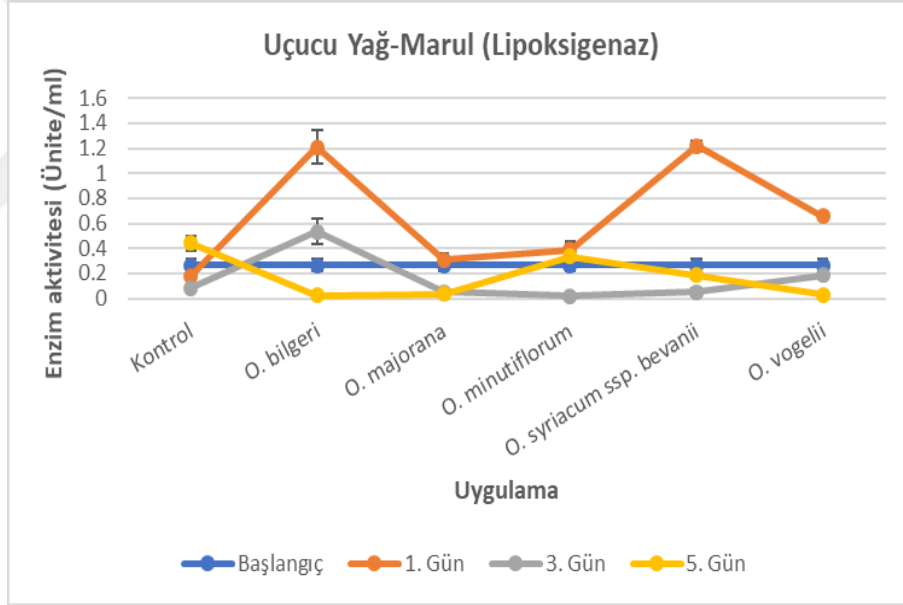
Hiçbir ön işlem görmeden depolanmış kontrol grubu marul örneklerinde ve farklı *Origanum* türlerinden elde edilen sulu ekstraktların, hidrosollerin ve uçucu yağların uygulandığı marul örneklerinde 5 günlük depolama süresi boyunca LOX aktivitelerindeki değişim, Şekil 4.30, 4.31 ve 4.32’de gösterilmiştir. Örneklerin başlangıç günü LOX aktiviteleri göz önünde bulundurulduğunda, LOX aktivitesindeki minimum değerler ekstraktla muamele edilmiş örneklerde %17,04’lük azalma ile 5. gün sonunda *O. syriacum* subsp. *bevanii* uygulanmış örnekte $0,12 \pm 0,009$ Ünite/ml, hidrosol uygulamasında %93,13’lük azalma ile 3. gün sonunda hiçbir ön işlem uygulanmamış kontrol grubunda $0,02 \pm 0,006$ Ünite/ml ve %93,02’lik azalma ile uçucu yağ için 3. gün sonunda *O. minutiflorum* uygulanmış örnekte $0,02 \pm 0,010$ Ünite/ml olarak belirlenmiştir. Çizelge 4.17, 4.18 ve 4.19’da görüldüğü gibi, enzim aktivitesindeki bu azalmalar başlangıçla kıyaslandığında, ekstrakt uygulamasında istatistiksel açıdan önemli değilken ($p > 0,05$), diğer uygulamalarda elde edilen minimum enzim aktiviteleri istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p \leq 0,05$).



Şekil 4.30. Ekstraktla (500 µl) muamele edilmiş marul örneklerinin beş günlük depolama süresince LOX aktivitelerindeki değişim



Şekil 4.31. Hidrosolle (500 µl) muamele edilmiş marul örneklerinin beş günlük depolama süresince LOX aktivitelerindeki değişim



Şekil 4.32. Uçucu yağlarla (5 µl) muamele edilmiş marul örneklerinin beş günlük depolama süresince LOX aktivitelerindeki değişim

Farklı bitki uygulamaları dikkate alındığında, Çizelge 4.17, 4.18 ve 4.19'da görüldüğü gibi, 5 günlük depolama periyodunun sonunda bazı bitki türleri ile muamele edilmiş marul örneklerinin LOX aktivitesi ortalamalarındaki farklılıklar kontrolle kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bulunurken ($p \leq 0,05$), bazılarındaki değişim istatistiksel açıdan önemli değildir ($p > 0,05$). Marul örneklerinin Şekil 4.33, 4.34 ve 4.35'te depolamanın 5. günü sonundaki görüntüleri verilmiştir. Buna göre, hidrosol

uygulamasında örneklerin genel olarak herhangi bir deformasyona uğramadığı görülürken, en olumsuz görüntüye neden olan uygulamanın uçucu yağ uygulaması olduğu sonucuna varılmıştır.

Çizelge 4.17. Ekstraktla (500 µl) muamele edilmiş marul örneklerinin beş günlük depolama süresince LOX aktivitelerindeki (Ünite/ml) değişim

Ekstrakt	GÜN			
	Başlangıç	Birinci	Üçüncü	Beşinci
Kontrol ^E	0,14±0,04 ^a	2,20±0,10 ^d	0,56±0,05 ^c	0,38±0,02 ^b
<i>O. bilgeri</i> ^F	0,14±0,04 ^a	1,60±0,09 ^c	1,72±0,00 ^d	0,44±0,09 ^b
<i>O. majorana</i> ^A	0,14±0,04 ^a	0,47±0,03 ^c	0,28±0,05 ^b	0,16±0,02 ^a
<i>O. minutiflorum</i> ^B	0,14±0,04 ^a	0,63±0,12 ^c	0,17±0,01 ^a	0,47±0,05 ^b
<i>O. onites</i> ^C	0,14±0,04 ^a	0,46±0,13 ^b	0,88±0,17 ^c	0,70±0,10 ^c
<i>O. syriacum</i> subsp. <i>bevanii</i> ^B	0,14±0,04 ^a	0,79±0,06 ^c	0,36±0,02 ^b	0,12±0,01 ^a
<i>O. vogelii</i> ^D	0,14±0,04 ^a	0,71±0,21 ^b	1,36±0,33 ^c	0,76±0,13 ^b
<i>O. vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> ^C	0,14±0,04 ^a	1,15±0,24 ^c	0,49±0,24 ^b	0,17±0,03 ^a

^{A-F}: Aynı kolondaki farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiksel açıdan farklıdır (p<0,05)

^{a-d} Aynı satırdaki farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiksel açıdan farklıdır (p<0,05)

Çizelge 4.18. Hidrosolle (500 µl) muamele edilmiş marul örneklerinin beş günlük depolama süresince LOX aktivitelerindeki (Ünite/ml) değişim

Hidrosol	GÜN			
	Başlangıç	Birinci	Üçüncü	Beşinci
Kontrol ^A	0,27±0,05 ^a	0,81±0,09 ^b	0,02±0,01 ^c	0,13±0,01 ^d
<i>O. bilgeri</i> ^A	0,27±0,05 ^a	0,40±0,04 ^b	0,07±0,04 ^c	0,50±0,08 ^d
<i>O. majorana</i> ^A	0,27±0,05 ^a	0,85±0,09 ^b	0,06±0,00 ^c	0,11±0,03 ^c
<i>O. minutiflorum</i> ^B	0,27±0,05 ^a	1,31±0,06 ^b	0,06±0,03 ^c	0,04±0,01 ^c
<i>O. syriacum</i> subsp. <i>bevanii</i> ^A	0,27±0,05 ^a	0,77±0,06 ^b	0,08±0,02 ^c	0,05±0,00 ^c
<i>O. vogelii</i> ^B	0,27±0,05 ^a	1,13±0,11 ^b	0,06±0,01 ^c	0,07±0,04 ^c

^{A-B}: Aynı kolondaki farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiksel açıdan farklıdır (p<0,05)

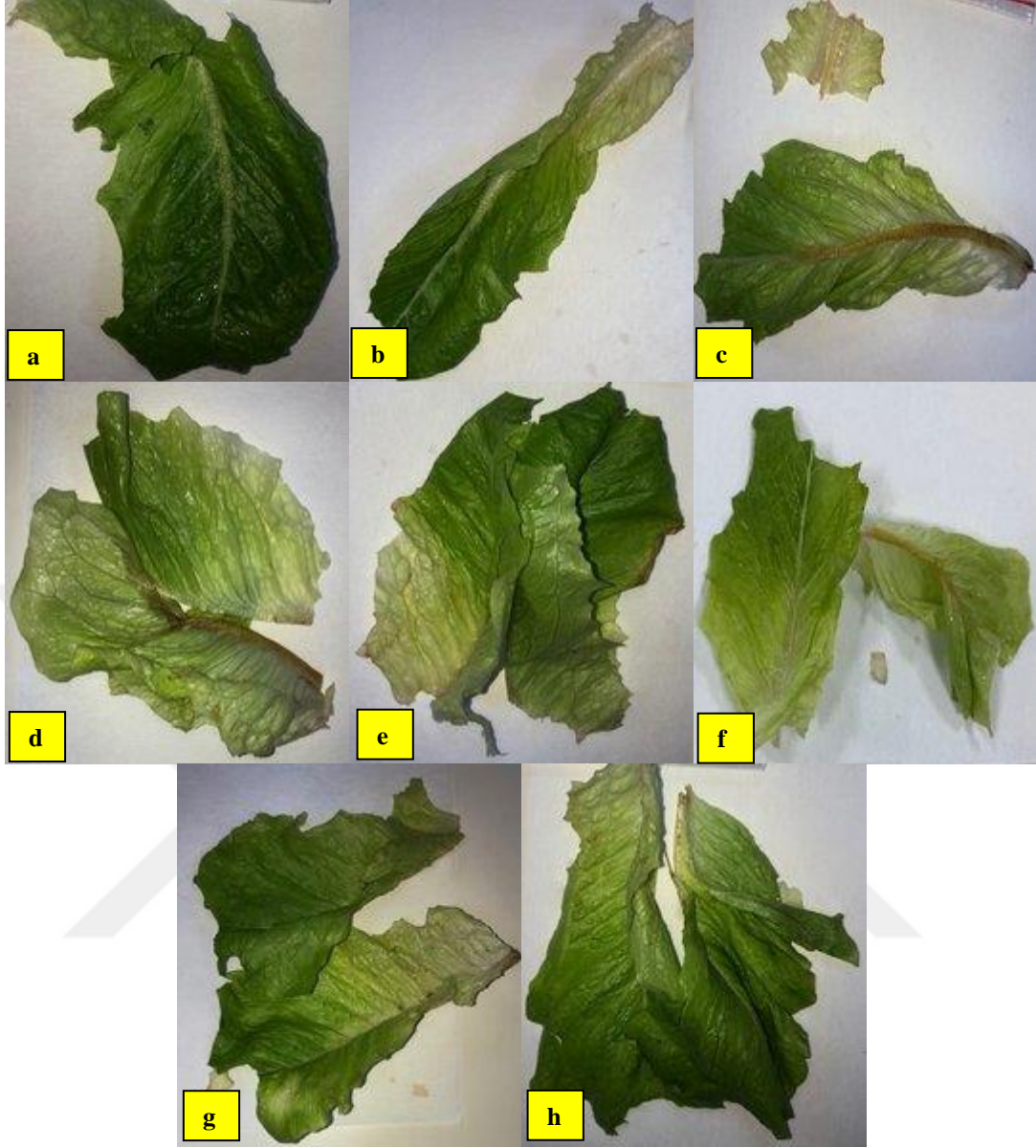
^{a-d} Aynı satırdaki farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiksel açıdan farklıdır (p<0,05)

Çizelge 4.19. Uçucu yağ (5 µl) ile muamele edilmiş marul örneklerinin beş günlük depolama süresince LOX aktivitelerindeki (Ünite/ml) değişim

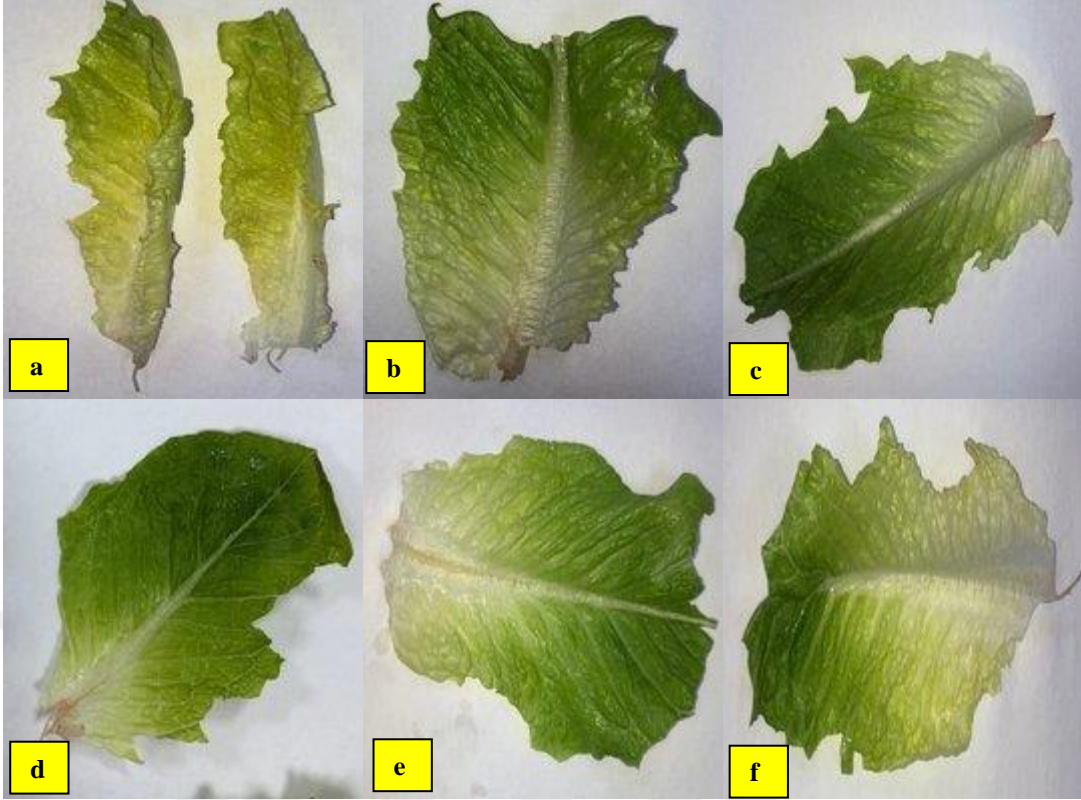
Uçucu Yağ	GÜN			
	Başlangıç	Birinci	Üçüncü	Beşinci
Kontrol ^A	0,27±0,05 ^a	0,18±0,04 ^b	0,08±0,01 ^c	0,44±0,06 ^d
<i>O. bilgeri</i> ^B	0,27±0,05 ^a	1,21±0,13 ^b	0,53±0,10 ^c	0,03±0,00 ^d
<i>O. majorana</i> ^C	0,27±0,05 ^a	0,31±0,05 ^a	0,05±0,03 ^b	0,04±0,01 ^b
<i>O. minutiflorum</i> ^A	0,27±0,05 ^a	0,39±0,07 ^a	0,02±0,01 ^b	0,34±0,11 ^a
<i>O. syriacum</i> subsp. <i>bevanii</i> ^D	0,27±0,05 ^a	1,22±0,05 ^b	0,05±0,03 ^c	0,18±0,03 ^d
<i>O. vogelii</i> ^A	0,27±0,05 ^a	0,66±0,02 ^b	0,19±0,03 ^c	0,03±0,01 ^d

^{A-D}: Aynı kolondaki farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiksel açıdan farklıdır (p<0,05)

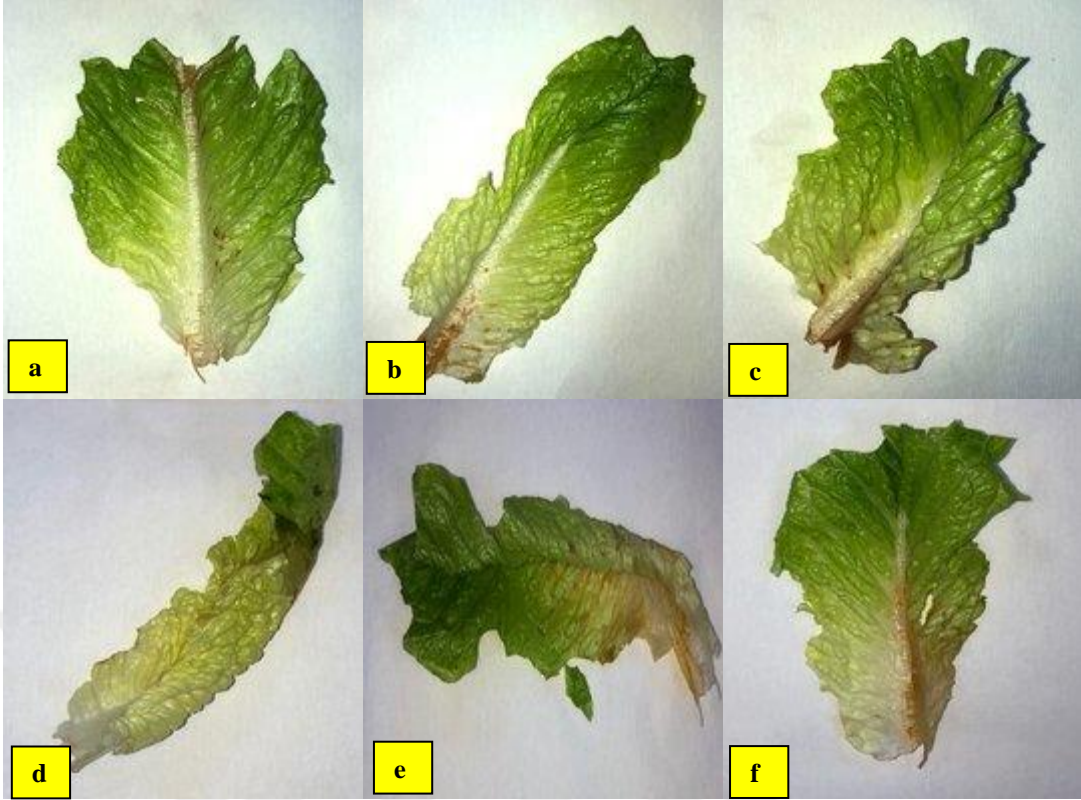
^{a-d} Aynı satırdaki farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiksel açıdan farklıdır (p<0,05)



Şekil 4.33. Ekstraktla (500 µl) muamele edilmiş marul örneklerinin 5 günlük depolama periyodu sonrası görüntüsü (a: Kontrol örneği; b: *O. bilgeri*; c: *O. majorana*; d: *O. minutiflorum*; e: *O. onites*; f: *O. syriacum* subsp. *bevanii*; g: *O. vogelii*; h: *O. vulgare* subsp. *hirtum* sulu ekstraktı uygulanmış örnekler)



Şekil 4.34. Hidrosolle (500 µl) ile muamele edilmiş marul örneklerinin 5 günlük depolama periyodu sonrası görüntüsü (a: Kontrol örneği; b: *O. bilgeri*; c: *O. majorana*; d: *O. minutiflorum*; e: *O. syriacum* subsp. *bevanii*; f: *O. vogelii* hidrosolü uygulanmış örnekler)



Şekil 4.35. Uçucu yağ (5 µl) ile muamele edilmiş marul örneklerinin 5 günlük depolama periyodu sonrası görüntüsü (a: Kontrol örneği; b: *O. bilgeri*; c: *O. majorana*; d: *O. minutiflorum*; e: *O. syriacum* subsp. *bevanii*; f: *O. vogelii* uçucu yağı uygulanmış örnekler)

Baraniak ve Krzepilko (2004) brokoliden izole ettikleri LOX enzim aktivitesinin, bazı fenolik bileşenlerle inhibisyonunda uygun pH değerinin yani enzimin optimum aktivite gösterdiği değerin 6,5 olduğunu belirledikten sonra çalışmalarını sürdürmüşlerdir. Enzimlerin protein yapıda olup pH farklılıklarından kolayca etkilebileceği düşünüldüğünde, yaptığımız çalışmada maruldan elde edilen LOX enziminin optimum çalışma pH değeri belirlenip analizler tekrar gerçekleştirilebilir. Bu durum, çalışma süresince enzimin çalışma aralığının sabit ve optimum seviyede tutulmasını kolaylaştıracaktır.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

Tez çalışması kapsamında elde edilen başlıca sonuçlar aşağıda maddeler halinde sunulmuştur:

1. Moleküler analiz sonuçlarına göre çalışmada kullanılan bitki örnekleri, 3 farklı ana grup altında toplanmış. *O. syriacum* L. subsp. *bevanii* ve *O. majorana* birbirine en uzak iki tür olarak bulunurken, *O. onites* ve *O. vulgare* subsp. *hirtum* birbirine en yakın iki tür olarak bulunmuştur.

2. Kıvırcık örneklerinin kontrole göre POD aktiviteleri üzerindeki istatistiki açıdan en etkili uygulama (maksimum %86,77'lik azalma) 1. gün sonunda *O. majorana* uçucu yağı uygulamasıdır. Ispanak örneklerinde ise, en etkili uygulama depolamanın 3. gününde POD aktivitesinde maksimum % 26,97'lük azalma sağlayan *O. bilgeri* hidrosolü olmuştur.

3. Mantar ve patlıcan örneklerinde PPO aktivitesinde sırasıyla maksimum %58,59'luk azalma ile 3. gün sonunda *O. vulgare* subsp. *hirtum* ve %44,74'lük azalma ile 3. gün sonunda *O. vulgare* subsp. *hirtum* sulu ekstraktlarıyla muamele edilmiş örneklerde saptanmıştır.

4. Marul örneklerinde ise LOX aktivitesinin azalmasında en etkili uygulama, %93,02'lik azalma ile uçucu yağ için 3. gün sonunda *O. minutiflorum* olmuştur.

5.2 Öneriler

Tez çalışması kapsamında ele edilen sonuçlara ilişkin öneriler maddeler halinde sunulmuştur:

1. Moleküler analiz sonuçları dikkate alındığında, farklı *Origanum* türlerinde genetik çeşitliliğini saptamada, aynı seksiyondan daha fazla bitki örneklerinin ve farklı markör sistemlerinin bir arada kullanımının çalışma sonuçlarının değerlendirilebilmesi açısından daha etkin olacağı düşünülmektedir. Buna ilaveten, çalışmada kullanılan bitki popülasyonunun genişletilmesi (Örneğin, aynı türün farklı lokalitelerden temini ya da farklı *Origanum* türlerinin de popülasyona dahil edilmesi gibi) Türkiye'de yetişen *Origanum* türleri arasındaki akrabalık ilişkilerinin değerlendirilmesi açısından geniş bir spektrum sunması daha yararlı olacaktır.

2. Bu çalışmadan elde edilen bulgular doğrultusunda, çalışma kapsamında kullanılan sebzelerde raf ömrünü kısaltan POD, PPO ve LOX enzim aktivitelerini

azaltmada, *Origanum* ekstrakt, hidrosol ve uçucu yağ bileşenlerinin etkinliğinin tam olarak anlaşılması için daha kapsamlı bir çalışmanın gerekli olduğu sonucuna varılmıştır. Çalışmada kullanılan bitkilerden elde edilen bileşenlerin, gıdaların kalitesine etki eden bu önemli enzim gruplarının hiçbirinde tamamen inaktivasyonu sağlayamadığı belirlenmiştir. Enzimin aktivitesindeki azalma ve artışların, gıdanın işleme koşullarından, depolama şartlarından ve hatta ham madde çeşidinden bile kaynaklanabilecek olmasından dolayı, çalışmalar aynı koşullarda yetişen tek bir gıda grubunun ihtiva ettiği enzim grubu üzerinden detaylandırılabilir.

3. Enzim analizlerinde, izole edilen enzimin optimum aktivite gösterdiği pH değeri, sıcaklık, substrat çeşidi ve konsantrasyonu da belirlenip çalışmaların bu bilgiler doğrultusunda sürdürülmesi sonuçların değerlendirilmesinde daha anlamlı olacaktır. Enzimin maksimum seviyede aktivite gösterdiği aralıkta çalışılması, bitkilerin enzim üzerindeki etkilerinin anlaşılmasında daha genel geçer sonuçlar sunacağı öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

- Alghamdi, S. S., Al-Faifi, S. A., Migdadi, H. M., Khan, M. A., EL-Harty, E. H. and Ammar, M. H., 2012, Molecular Diversity Assessment Using Sequence Related Amplified Polymorphism (SRAP) Markers in *Vicia faba* L., *International Journal of Molecular Sciences*, 13, 16457-16471.
- Altunkaya, A. and Gökmen, V., 2011., Purification and Characterization of Polyphenoloxidase, Peroxidase and Lipoxygenase from Freshly Cut Lettuce (*Lactuca sativa*), *Food Technology Biotechnology*, 49 (2), 249–256.
- Alvarez, M. V., Mdreira, M. R. and Pdnce, A., 2015, Peroxidase activity and sensory quality of ready to cook mixed vegetables for soup: combined effect of biopreservatives and refrigerated storage, *Food Science and Technology*, 35 (1), 86-94.
- Amar, M. H. and Wahab, M. A. E., 2013, Comparative genetic study among *Origanum* L. plants grown in Egypt, *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES)*, 3 (12), 208-222.
- Ayanoğlu, F., Ergül, A. and Arslan, M., 2006, Assessment of genetic diversity in Turkish oregano (*Origanum onites* L.) germplasm by AFLP analysis, *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 81 (1), 45-50.
- Azizi, A., Wagner, C., Honermeier, B. and Friedt, W., 2009, Intraspecific diversity and relationship between subspecies of *Origanum vulgare* revealed by comparative AFLP and SAMPL marker analysis, *Plant Systematics and Evolution*, 281, 151-160.
- Baraniak, B. and Krzepilko, A., 2004, Inhibition of Broccoli Lipoxygenase by Some Phenolic Compounds – A Short Report, *Polish Journal of Food And Nutrition Sciences*, 13/54 (4), 339-342.
- Barbagallo, R. N., Riggi, E., Avola, G. and Patanè, C., 2012, Biopreservation of 'Birgah' Eggplant from Polyphenol Oxidase Activity Assayed In Vitro with Onion (*Allium cepa* L.) by-products, *Chemical Engineering Transactions*, 27, 43-48.
- Başer, K. H. C. and Kırımer, N., 2006, Essential oils of Lamiaceae plants of Turkey, *Acta Horticulturae*, 723, 163-172.
- Baysal, T. and Demirdöven, A., 2007, Lipoxygenase in fruits and vegetables: A Review, *Enzyme and Microbial Technology*, 3, 42-48.
- Cai, X., Feng, Z., Zhang, X., Xu, W., Hou, B. and Ding, X., 2011, Genetic diversity and population structure of an endangered Orchid (*Dendrobium loddigesii* Rolfe) from China revealed by SRAP markers, *Scientia Horticulturae*, 129 (4), 877-881.
- Chaisakdanugull, C., Theerakulkait, C. and Wrolstad, R. E., 2007, Pineapple Juice and Its Fractions in Enzymatic Browning Inhibition of Banana [Musa (AAA Group) Gros Michel], *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (10), 4252-4257.

- Chishti, S., Kaloo, Z. A. and Sultan, P., 2013, Medicinal importance of genus *Origanum*: A review, *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 5 (10), 170-177.
- De Mastro, G., Tarraf, W., Verdini, L., Brunetti, G. and Ruta, C., 2017, Essential oil diversity of *Origanum vulgare* L. populations from Southern Italy, *Food Chemistry*, 235, 1-6.
- Deans, S. G. and Svoboda, K. P., 1990, The antimicrobial properties of marjoram (*Origanum majorana* L.) volatile oil, *Flavour and Fragrance Journal*, 5, 187-190.
- Earl, D. A. and Von Holt, B. M., 2012, Structure Harvester: A website and program for visualizing Structure output and implementing the Evanno method, *Conservation Genetics Resources*, 4, 359-361.
- Elezi, F., Plaku, F., Ibraliu, A., Stefkov, G., Karapandzova, M., Kulevanova, S. and Aliu, S., 2013, Genetic variation of oregano (*Origanum vulgare* L.) for etheric oil in Albania, *Agricultural Sciences*, 4, 449-454.
- Fariás, G., Brutti, O., Grauc, R., Di Leo Lira, P., Retta, D., Van Barend, C., Vento, S. and Bandoni, A. L., 2010, Morphological, yielding and quality descriptors of four clones of *Origanum* spp. (Lamiaceae) from the Argentine Littoral region Germplasm bank, *Industrial Crops and Products*, 32, 472-480.
- Galeazzi, M. A. M. and Sgarbieri, V. C. J., 1981, Substrate specificity and inhibition of polyphenoloxidase from a dwarf variety of banana (*Musa Cavendishii*, L.), *Journal of Food Science*, 46, 1404-1406.
- Gonçalves, E. M., Pinheiro, J., Abreu, M., Brandão, T. R. S. and Silva, C. L. M., 2010, Carrot (*Daucus carota* L.) peroxidase inactivation, phenolic content and physical changes kinetics due to blanching, *Journal of Food Engineering*, 97 (4), 574-581.
- Gounaris, Y., Skoula, M., Fournaraki, C., Drakakaki, G. and Makris, A., 2002, Comparison of essential oils and genetic relationship of *Origanum × intercedens* to its parental taxa in the island of Crete, *Biochemical Systematics and Ecology*, 30, 249-258.
- Guo, Q., Guo, L. L., Zhang, L., Zhang, L. X., Ma, H. L., Guo, D. L. and Hou, X. G., 2017, Construction of a genetic linkage map in tree peony (*Paeonia* Sect. *Moutan*) using simple sequence repeat (SSR) markers, *Scientia Horticulturae*, 219, 294-301.
- Gündüz, A. and Özörgücü, B., 1999, An investigation on the morphology, anatomy and ecology of *Origanum onites* L., *Turkish Journal of Botany*, 23, 19-32.
- Ietswaart, J. H., 1980, A Taxonomic Revision of the Genus *Origanum* (Labiatae) 4, PhD Thesis, *Leiden University Press*, The Hague, 153.

- İnce, A. G., Karaca, M. Y. and Elmasulu, S., 2014, New microsatellite and CAPS-microsatellite markers for clarifying taxonomic and phylogenetic relationships within *Origanum* L., *Molecular Breeding*, 34, 643-654.
- Jayakumar, K. S., Sajan, J. S., Aswati Nair, R., Padmesh Pillai, P., Deepu, S., Padmaja, R., Agarwal, A. and Pandurangan, A. G., 2014, Corosolic acid content and SSR markers in *Lagerstroemia speciosa* (L.) Pers.: A comparative analysis among populations across the Southern Western Ghats of India, *Phytochemistry*, 106, 94-103.
- Karaca, M., Ince, A. G., Aydın, A. and Ay, S., 2013, Cross-genera transferable e-microsatellite markers for 12 genera of the Lamiaceae family, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93, 1869-1879.
- Karadut, Ö. ve Kafkas, S., 2013, Antepfıstığı SSR Lokuslarından Yeni ISSR Primerlerinin Geliştirilmesi, *Çukurova Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 29 (2), 139-148.
- Katsiotis, A., Nikoloudakis, N., Linos, A., Drossou, A. and Constantinidis, T., 2009, Phylogenetic relationships in *Origanum* spp. based on rDNA sequences and intra-genetic variation of Greek *O. vulgare* subsp. *hirtum* revealed by RAPD, *Scientia Horticulturae*, 121, 103-108.
- Kaur, C. and Kapoor, H. C., 2000, Inhibition of Enzymatic Browning in Apples, Potatoes and Mushrooms, *Journal of Scientific and Industrial Research*, 59, 389-394.
- Khadivi-Khub, A., Yarahmadi, M., Jannatizadeh, A. and Ebrahimi, A., 2015, Genetic relationships and diversity of common apricot (*Prunus armeniaca* L.) based on simple sequence repeat (SSR) markers, *Biochemical Systematics and Ecology*, 61, 366-371.
- Kim, M. J., Kim, C. Y. and Park, I., 2005, Prevention of enzymatic browning of pear by onion extract, *Food Chemistry*, 89, 181-184.
- Kitiki, A., Kesercioğlu, T., Tan, A., Nakıboğlu, M., Otan, H., Sarı, O. and Oğuz, B., 1997, Biosystematic research on some *Origanum* L. species in Aegean and west Mediterranean regions in Turkey, *International Journal of Food and Agricultural Economics*, 7, 26-40.
- Klocke, E., Langbehn, J., Grewe, C. and Pank, F., 2002, DNA Fingerprinting by RAPD on *Origanum majorana* L, *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 9 (2-3), 171-176.
- Lee, M. K., 2007, Inhibitory effect of banana polyphenol oxidase during ripening of banana by onion extract and Maillard reaction products, *Food Chemistry*, 102, 146-149.

- Lee, M. K., Lee, M. and Park, I., 2007, Inhibitory effect of onion extract on polyphenol oxidase and enzymatic browning of taro (*Colocasia antiquorum* var. *esculenta*), *Food Chemistry*, 105, 528-532.
- Li, G. and Quiros, C. F., 2001, Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in *Brassica*, *Theoretical and Applied Genetics*, 103, 455-461.
- Liu, B. H., 1998, *Statistical genomics: Linkage, mapping, and QTL analysis*, CRC Press LLC, Boca Raton New York.
- Loveless, M. D. and Hamrick, J. L., 1984, Ecological determinants of genetic structure in plant populations, *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 15, 65-95.
- Mao-bai, L., Wang H. and Cao, L., 2015, Evaluation of Population Structure, Genetic Diversity and Origin of Northeast Asia Weedy Rice Based on Simple Sequence Repeat Markers, *Rice Science*, 22 (4), 180-188.
- Matsuoka, Y., Vigouroux, Y., Goodman, M. M., Sanchez G. J., Buckler, E. and Doebley, J., 2002, A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States*, 99 (9), 6080–6084.
- Meng, F., Mu Peng, L. L., Wang, Z. K., Wang, C. and Zhao, Y., 2015, Genetic diversity and population structure analysis in wild strawberry (*Fragaria nubicola* L.) from Motuo in Tibet Plateau based on simple sequence repeats (SSRs), *Biochemical Systematics and Ecology*, 63, 113-118.
- Mousavizadeh, S. J. and Sedaghatoor, S., 2011, Peroxidase activity in response to applying natural antioxidant of essential oils in some leafy vegetables, *Australian Journal of Crop Science (AJCS)*, 5 (4), 494-499.
- Nei, M. and Li, W. H., 1979, Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States*, 76 (10), 5269-5273.
- Novak, J., Gimplinger, D. and Franz, C., 2002, Inheritance of calyx shape in the genus *Origanum* (Lamiaceae), *Plant Breeding*, 121, 462-463.
- Novak, J. , Lukas, B. , Bolzer, K. , Grausgruber-Gröger, S. and Degenhardt, J., 2008, Identification and characterization of simple sequence repeat markers from a glandular *Origanum vulgare* expressed sequence tag, *Molecular Ecology Resources*, 8, 599-601.
- Nybom, H. and Weising, K., 2007, DNA profiling of plants, *Medicinal Plant Biotechnology*, 9, 73-95.
- Perrier, X. and Jacquemoud-Collet, J. P., 2006, *Darwin software*, <http://darwin.cirad.fr/darwin> [Ziyaret Tarihi: 4 Temmuz 2017].

- Ponce, A. G., Vallea, C. E. and Rourac, S.I., 2004, Natural essential oils as reducing agents of peroxidase activity in leafy vegetables, *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 37, 199-204.
- Powell, W., Machray, G. C. and Provan, J., 1996, Polymorphism revealed by simple sequence repeats, *Trends in Plant Science*, 1, 215-222.
- Pritchard, J. K., Stephens, M. and Donnelly, P., 2000, Inference of population structure using multilocus genotype data, *Genetics*, 155, 945-959.
- Robarts, D. W. H. and Wolfe, A. D., 2012, Sequence-Related Amplified Polymorphism (SRAP) Markers: A Potential Resource for Studies in Plant Molecular Biology, *Applications in Plant Sciences*, 2 (7), 1400017.
- Saal, B. and Wricke, G., 1999, Development of simple sequence repeat markers in rye (*Secale cereale* L.), *Genome*, 42, 964-972.
- Sağdıç, O. and Özcan, M., 2003, Antibacterial activity of Turkish spice hydrosols, *Food Control*, 14, 141-143.
- Samanta, A., Das S., Bhattacharyya P. and Bandyopadhyay B., 2010, Inhibition of Polyphenol Oxidase In Banana, Apple and Mushroom By Using Different Antibrowning Agents Under Different Conditions, *International Journal of Chemical Sciences*, 8 (5), S550-S558.
- Schoenbein, C. F., 1856, On ozone and oronic actions in mushrooms, *The Philosophical Magazine 1856*, 11, 137-141.
- Sciancalepore, V. and Longone, V., 1984, Polyphenol oxidase activity and browning in green olives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32, 320-321.
- Stojanovic, R., Belscak-Cvitanovic, A., Manojlovic, V., Komes, D., Nedovic, V. and Bugarski, B., 2012, Encapsulation of thyme (*Thymus serpyllum* L.) aqueous extract in calcium alginate beads, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92 (3), 685-96.
- Sultanbawa, Y., 2011, Plant antimicrobials in food applications: Minireview, In: A. Méndez-Vilas (Ed.), Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances, *Formatex*, 1084-1093.
- Taşcıoğlu, T., Sadıkoğlu, N., Doğanlar, S. and Frarya, A., 2018, Molecular genetic diversity in the *Origanum* genus: EST-SSR and SRAP marker analyses of the 22 species in eight sections that naturally occur in Turkey, *Industrial Crops and Products*, 123, 746-761.
- Theerakulkait, C. and Barrett, D. M., 1995, Lipoxygenase in Sweet Corn Germ: Isolation and Physicochemical Properties, *Journal of Food Science*, 60 (5), 1029-1033.

- Uncu, A. O., Gultekin, V., Allmer, J., Frary, A. and Doganlar, S., 2015, Genomic Simple Sequence Repeat Markers Reveal Patterns of Genetic Relatedness and Diversity in Sesame, *The Plant Genome*, 8 (2), 1-12.
- Weber, J. L. and May, P. E., 1989, Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction, *The American Journal of Human Genetics*, 44, 388-396.
- Whitaker, J. R. and Lee, C. Y., 1995, Recent advances in chemistry of enzymatic browning: An overview, In *Enzymatic Browning and its prevention*, C. Y. Lee and J. R. Whitaker (Eds.), *ACS Symposium Series 600*, Washington, DC, 2-7.
- Whitaker, J. R., 1995, Polyphenol Oxidase, *Food Enzymes*, Springer, Boston, MA.



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Esra TANHAŞ
Uyruğu : T.C
Doğum Yeri ve Tarihi : Altındağ/ANKARA-20.08.1992
Telefon : -
Faks : -
e-mail : esrakarakas92@gmail.com, ekarakas@erbakan.edu.tr

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Mehmetçik Lisesi, Etimesgut, ANKARA	2010
Üniversite	: Ege Üniversitesi, Bornova, İZMİR	2015
Yüksek Lisans	: Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram, KONYA	2019
Doktora	:	

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2016-	Necmettin Erbakan Üniversitesi, Fen Fakültesi	Araştırma Görevlisi

UZMANLIK ALANI

Gıda Mühendisliği

YABANCI DİLLER

İngilizce

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

YAYINLAR

Uluslararası hakemli konferans/sempozyumların bildiri kitaplarında yer alan yayınlar:

Tanhaş, E., Uncu, A. T., Martin ,E., Dirmenci, T. and Arabacı, T., 2018, Application of SSR and SRAP markers for genetic diversity of some *Origanum* species from Turkey, *7th International Molecular Biology and Biotechnology Congress*, Konya/Turkey. (Sözlü Sunum) (**Yüksek Lisans tezinden yapılmıştır.**)

Tanhaş, E., Erci, F., Martin, E., Arabacı, T. and Dirmenci, T, 2018, Green Synthesis of Silver Nanoparticles (AgNPs) by Using Leaf Extract of *Origanum bilgeri* and Effect of pH Changes on The Synthesis, *7th International Molecular Biology and Biotechnology Congress*, Konya/Turkey. (Poster Sunumu)

Martin, E., Hamzaoglu, E., Koç, M., Karakaş, E. and Kelkitoğlu, A., 2017, Cytogenetical studies on section *Dentati* of *Dianthus* (Caryophyllaceae) from Turkey, *3rd International Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB2017)*, Belarusian State University, Minsk/Belarus. (Poster Sunumu)

Martin, E., Dirmenci, T., Karakaş, E., and Arabacı, T., 2017, Chromosome studies of *Origanum* (Lamiaceae) section *Majorana* from Turkey, *International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies (ICAFOF 2017)*, Cappadocia / Turkey, 1279. (Sözlü Sunum)

Martin, E., Dirmenci, T., Karakaş, E. and Arabacı, T., 2017, Karyological studies of *Origanum* (Lamiaceae) section *Prolaticorolla* from Turkey, *International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies (ICAFOF 2017)*, Cappadocia / Turkey, 498. (Sözlü Sunum)

Martin, E., Hamzaoglu, M., Koç, E., Karakaş, E. and Yavaş, F. N., 2017, Karyological studies on section *Leiopetali* of aromatic *Dianthus* (Caryophyllaceae) from Turkey, *1st International Congress on Medicinal and Aromatic Plants*, 459. (Poster Sunumu)

Karakaş, E., Martin, E. and Dirmenci, T., 2017, An overview of Antimicrobial Effect of Essential Oils Obtained From Some *Origanum* (Lamiaceae) Taxa: In-Vitro Studies and Food Applications, *International Symposium on Advances in Lamiaceae Science*, Antalya/Turkey, Natural Volatiles and Essential Oils, (4) 2:81. (Poster Sunumu)

Ulusal dergilerde yayımlanan makaleler:

Turantaş, F., Sömek, Ö. ve Karakaş, E., 2016, Gıda sanayiinde ultrason uygulamalarının antimikrobiyal etkileri I-II, *Dünya Gıda Dergisi*, 12:1, 94-98.