

**HAŞHAŞ (*Papaver somniferum*) ÇEŞİTLERİNİN TOHUM YAĞLARININ YAĞ ASİDİ KOMPOZİSYONU, TOPLAM FENOLİK MADDE MİKTARI, ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ**

**İlkin Yücel Şengün<sup>\*1</sup>, Ersin Yücel<sup>2</sup>, Berna Öztürk<sup>1</sup>, Gülden Kılıç<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir, Türkiye

<sup>2</sup>Eskişehir Teknik Üniversitesi Biyoloji Bölümü, Eskişehir, Türkiye

Geliş / Received: 01.05.2020; Kabul / Accepted: 14.09.2020; Online baskı / Published online: 25.09.2020

Yücel-Şengün, İ., Yücel, E., Öztürk, B., Kılıç, G. (2020). Haşhaş (*Papaver somniferum*) çeşitlerinin tohum yağlarının yağ asidi kompozisyonu, toplam fenolik madde miktarı, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri. *GIDA* (2020) 45(5) 954-962 doi: 10.15237/gida.GD20061.

Yücel-Şengün, İ., Yücel, E., Öztürk, B., Kılıç, G. (2020). Fatty acid composition, total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of varieties of poppy (*Papaver somniferum*) seed oils. *GIDA* (2020) 45(5) 954-962 doi: 10.15237/gida.GD20061.

**ÖZ**

Bu çalışmada, mavi ve beyaz haşhaş (*Papaver somniferum*) tohumlarından elde edilen sabit yağların yağ asidi kompozisyonları, biyoaktif ve antimikrobiyal özellikleri incelenmiştir. Örneklerin bileşiminde ağırlıklı olarak linoleik (%69.2-73.2), oleik (%13.5-17.4) ve palmitik asit (%8.8-8.9) olduğu tespit edilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı mavi ve beyaz haşhaş tohumu yağında (MHTY ve BHTY) sırasıyla 659.5±2.12 ve 275.5±2.12 mg GAE/kg olarak belirlenmiştir. MHTY'nin antioksidan aktivite değeri DPPH ve ABTS+ yöntemlerine göre sırasıyla %40.35±0.14 ve 41.09±0.58, BHTY'da ise %40.86±1.25 ve 41.95±1.46 olarak tespit edilmiştir. Çalışma kapsamında ilk kez yağ örneklerinin gıda mikrobiyolojisi açısından önemli bakteriler üzerinde antimikrobiyal etkileri belirlenmiştir. MHTY'na karşı en hassas mikroorganizmaların *E. coli* ve *L. monocytogenes* olduğu belirlenmiştir. BHTY, *B. subtilis* ve *S. aureus* dışındaki mikroorganizmalara karşı benzer düzeyde etki göstermiştir. Sonuçlar, haşhaş tohumu yağlarının doğal antioksidan ve antimikrobiyal ürünler olarak kullanılabilme potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir.

**Anahtar kelimeler:** Haşhaş tohumu, yağ, toplam fenolik madde, antimikrobiyal, antioksidan

**FATTY ACID COMPOSITION, TOTAL PHENOLIC CONTENT, ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF VARIETIES OF POPPY (*Papaver somniferum*) SEED OILS**

**ABSTRACT**

In the study, fatty acid compositions, bioactive and antimicrobial properties of fixed oil obtained from blue and white poppy (*Papaver somniferum*) seeds were examined. The major components found in the composition of samples were linoleic (69.2-73.2%), oleic (13.5-17.4%) and palmitic acid (8.8-8.9%). The total phenolic content was determined as 659.5±2.12 and 275.5±2.12 mg GAE/kg in

\*Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding author

✉: ilkin.sengun@ege.edu.tr,

☎:(+90) 232 3113028

☎:(+90) 232 3427592

İlkin Yücel Şengün; ORCID no: 0000-0002-9445-5166

Ersin Yücel; ORCID no: 0000-0001-8274-7578

Berna Öztürk; ORCID no: 0000-0003-1104-1863

Gülden Kılıç; ORCID no: 0000-0001-6125-6219

blue and white poppy seed oil (BPSO and WPSO), respectively. According to DPPH and ABTS+ methods, the antioxidant activities were  $40.35 \pm 0.14$  and  $41.09 \pm 0.58\%$  for BPSO and  $40.86 \pm 1.25$  and  $41.95 \pm 1.46\%$  for WPSO, respectively. In the context of this study, antimicrobial effects of oil samples were determined for the first time on bacteria, important in food microbiology. The most sensitive microorganisms to BPSO were *E. coli* and *L. monocytogenes*. WPSO was shown similar level of antimicrobial effect on microorganisms except *B. subtilis* and *S. aureus*. Results showed that poppy seed oils have the potential to be used as natural antioxidant and antimicrobial products.

**Keywords:** Poppy seed, oil, total phenolic content, antimicrobial, antioxidant

### GİRİŞ

Son yıllarda tüketicilerin doğal ve bitkisel ürünleri tüketmeye yönelik eğilimleri artış göstermektedir. Bitkiler; alkaloidler, flavonoidler, fenolikler, kumarinler, saponinler, terpenoidler, tiyosülfinatlar ve organik asitler gibi çeşitli antimikrobiyal/antioksidan etkili bileşikler içermekte ve bu bileşikler bitkinin çiçek, tomurcuk, yaprak, meyve, kabuk, tohum gibi farklı bölümlerinden elde edilebilmektedir (Tajkarimi vd., 2010).

Papaveraceae familyasına ait olan ve ülkemizde geleneksel olarak tarımı yapılan haşhaş bitkisi (*Papaver somniferum*), kapsül ve tohumlarında bulunan alkaloid, yağ ve proteinler sayesinde tıp, gıda, kozmetik ve boya endüstrilerinde yaygın şekilde kullanılmaktadır (Gültepe, 2013). Haşhaş tohumu yağının, içeriğinde bulunan linoleik, oleik ve palmitik asit gibi çoklu doymamış yağ asitleri, mineraller ve çeşitli fenolik bileşikler sayesinde, kandaki kolesterol seviyesinin düşürülmesi, kardiovasküler hastalıkların önlenmesi gibi sağlık üzerine birçok yararlı etkileri bulunmaktadır (Peter, 2001; Ghafoor vd., 2019).

Yapılan çalışmaların birçoğunda, farklı coğrafi bölgelerde yetiştirilen haşhaş bitkisinin yağ asidi kompozisyonu, antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Bununla birlikte, literatürde, haşhaş bitkisi tohumlarından elde edilen sabit yağların Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) ve Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBK) değerlerinin belirlendiği herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada, Afyonkarahisar'da yetişen Haşhaş genotipleri (Ofis 1 Mavi ve Ofis 2 Beyaz) tohumlarından elde edilen sabit yağların, farklı yöntemler kullanılarak antioksidan ve antimikrobiyal aktivite değerlerinin belirlenmesi, ayrıca elde edilen yağların yağ asidi kompozisyonu

ve toplam fenolik madde miktarlarının tespit edilmesi amaçlanmıştır. Bu konuda sınırlı çalışma bulunması nedeniyle, elde edilen verilerin literatüre önemli katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

### MATERYAL VE YÖNTEM

#### Bitki örneklerinin toplanması ve sabit yağ eldesi

Afyonkarahisar (Türkiye) ilinde yetişen haşhaş bitkileri (*Papaver somniferum*) Prof. Dr. Ersin YÜCEL tarafından toplanmış ve tanımlanmıştır. Tanımlanan haşhaş kapsülleri kırılarak mavi (Ofis 1) ve beyaz (Ofis 2) haşhaş tohumları elde edilmiştir. Temizlendikten sonra damıtılmış su ile yıkanan tohumlar oda sıcaklığında filtre kâğıdı üzerinde 24 saat bekletilmiş, daha sonra  $35^{\circ}\text{C}$ 'de 30 dakika bekletilerek kurutulmuştur. Tohumlardan soğuk sıkım yöntemi ile (Kıralan vd., 2014) sabit yağ elde edilmiştir. Elde edilen haşhaş yağı 48 saat dinlendirilmiş ve steril filtre ile süzülerek deneylerde kullanılmak üzere cam şişelerde depolanmıştır.

#### Yağ asidi kompozisyonu

Mavi ve beyaz haşhaş tohumu sabit yağlarının (MHTY ve BHTY) yağ asidi kompozisyonu, Anadolu Üniversitesi, Bitki İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Merkezi (AÜBİBAM)'inde, GC-MC Agilent 7890B GC 5977B Kütle Seçici Dedektör Sistemi kullanılarak belirlenmiştir (USP, 1995). Yağ asitlerinin bağıl yüzdeleri, kapiler kolonu Agilent HP-Innowax, (60 m x 0.25 mm iç çap x 0.25 µm film kalınlığı) olan Alev İyonlaşma Detektörü (FID) ile donatılmış Agilent 7890B GC sistemi ile belirlenmiş ve yağ örnekleri, Boron Triflorür (BF<sub>3</sub>) kullanılarak transmetilasyon yöntemine göre türevlendirilmiş, bileşiminde bulunan yağ asitleri metil esterleri formuna dönüştürülerek hekzan ile hazırlanan (%10, h/h) örnek 40:1 split oranı ile 1 µL olarak sisteme

enjekte edilmiştir. Fırın sıcaklığı ilk olarak 60°C'de 10 dakika tutulmuş, daha sonra sırasıyla 4°C/dakika hızı ile 220°C'ye, 1°C/dakika hızı ile 240°C'ye yükseltilmiştir. Son olarak enjeksiyon ve detektör sıcaklığı 250°C'de tutulmuştur. Taşıyıcı gaz olarak helyum kullanılmıştır (0.7 mL/dakika).

Bileşenler, GC analizi ile aynı koşullara sahip bir HP innowax kolon ile donatılmış GC-MC Agilent 7890B GC 5977B Kütle Seçici Dedektör Sistemi ile tanımlanmıştır. GC-MS tespiti için 35-450 m/z tarama aralığında 70 eV iyonizasyon enerjisine ve 230°C iyon kaynağı sıcaklığına sahip bir elektron iyonizasyon sistemi kullanılmıştır. Ayrılan bileşenler, Ulusal Standartlar ve Teknoloji Enstitüsü (NIST) standartlarına göre tanımlanmıştır.

### Toplam fenolik madde

Örneklerde bulunan toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu yöntemine göre belirlenmiştir (Singleton ve Rossi, 1965). 2 g yağ örneği 1 mL hekzan içerisinde çözündürülmüş, ardından 1 mL metanol:saf su (60:40, h/h) ile karıştırılarak 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Daha sonra, 500 µL Folin-Ciocalteu çözeltisi ile 6 mL ultra saf su karıştırılmış ve karışıma santrifüj işleminden elde edilen metanol ekstraktı (100 µL) ilave edilip oda sıcaklığında 8 dakika bekletilmiş ve karışıma 1.5 mL doymuş Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (75 g/L) çözeltisi eklenmiş ve 60 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda spektrofotometrede (Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis) 765 nm dalga boyunda okuma yapılmış ve sonuçlar gallik asit eşdeğeri (mg GAE/kg) olarak ifade edilmiştir.

### Antioksidan aktivite

Sabit yağ örneklerinin toplam antioksidan aktivite değerleri DPPH ve ABTS+ olmak üzere 2 farklı yöntem kullanılarak belirlenmiştir.

#### DPPH analizi:

DPPH analizi, Naik vd. (2011)'nin belirlediği yöntem modifiye edilerek yapılmıştır. Yağ örneklerinin 1 mL metanol ekstraktı 4 mL DPPH çözeltisi ile karıştırılmış ve elde edilen karışım karanlıkta 30 dakika bekletilmiştir. Okumalar çift ışık yollu spektrofotometrede (Agilent

Technologies Cary 60 UV-Vis) 515 nm dalga boyunda yapılmıştır. Sonuçlar aşağıda verilen formülle hesaplanarak yüzde absorbans olarak ifade edilmiştir.

%Abs = (Ak-Aö)/Akx100, Ak: kontrol absorbans değeri; Aö: örnek absorbans değeri

#### ABTS analizi:

Örneklerin antioksidan aktiviteleri ABTS+ yöntemi ile de belirlenmiştir (Re vd., 1999). ABTS+ stok çözeltisinin hazırlanması amacıyla, 7 mM ABTS+ çözeltisi 2.45 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> ile karıştırılmış ve karanlıkta 16 saat bekletilmiştir. 0.3 mL yağ örneği etanol ekstraktı ile 3 mL ABTS+ çözeltisi karıştırılmıştır. 6 dakikalık süre sonunda spektrofotometrede (Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis) 734 nm dalga boyunda okuma yapılmıştır. Sonuçlar aşağıda verilen formülle hesaplanarak yüzde absorbans olarak ifade edilmiştir.

%Abs = (Ak-Aö)/Akx100, Ak: ABTS+ çözeltisinin absorbans değeri; Aö: örnek absorbans değeri

### Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi

#### Bakteri kültürleri

Örneklerin antimikrobiyal aktivite değerlerinin belirlenmesi amacıyla yedi mikroorganizma (*Listeria monocytogenes* Scott A, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Bacillus subtilis* ATCC 6037, *Staphylococcus aureus* 6538P, *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43895, *Salmonella* Typhimurium NRRL-B-4420 ve *Escherichia coli* ATCC 1103) test kültürü olarak kullanılmıştır. Test kültürleri Ege Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarından temin edilmiştir. Stok kültürlerin aktivasyonu amacıyla kültürler Tryptic Soy Broth (TSB, pH 7.3±0.2, Oxoid) besiyerine transfer edilmiş ve 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Kültürlerin yoğunluğu, Mc Farland 0.5 olacak şekilde ayarlandıktan (DEN-1 Mc Farland Densitometer, Grant-bio) sonra analizlerde kullanılmıştır.

#### Disk difüzyon yöntemi

Disk difüzyon yöntemi için test kültürleri Mueller Hilton Agar (MHA, pH 7.3±0.2, Oxoid) besiyerine yayma plak yöntemine göre ekilmiştir. Yüzeyi test mikroorganizmaları ile inokule edilmiş

besiyerlerinin üzerine sabit yağ emdirilmiş (40 mg/mL) 6 mm çapındaki diskler belirli aralıklarla yerleştirilmiştir. Pozitif kontrol olarak ampisilin (AMP, 10 µg/disk, Oxoid) ve gentamisin (GEN, 10 µg/disk, Oxoid) diskleri, negatif kontrol olarak steril su emdirilmiş diskler kullanılmıştır. Ekim yapılan petripler 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda oluşan inhibisyon zonlarının çapları ölçülmüştür (Deng vd., 2014).

#### Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK)

MİK testi için 96 kuyucuklu "U" tipi steril mikroyuvarlar kullanılmıştır. DMSO (%5) içerisinde çözüldürülmüş yağ örnekleri kuyucuklardaki son konsantrasyonları %10-0.020 arasında olacak şekilde kuyucuklara aktarılmış ve her bir kuyucuğa 100 µL test kültürü ayrı ayrı ilave edilmiştir. Hazırlanan pleytler 37°C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda her bir kuyucuğa 20 µL %1'lik 2,3,5 trifenil tetrazolyum klorit (TTC, Merck) eklenmiş ve pleytler 37°C'de 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda kuyucuklarda oluşan renk değişimlerine göre örneklerin MİK değeri

belirlenmiştir (Deng vd., 2014). MİK testi için ekim yapılan pleytlerde gelişme olan her bir kuyucuktan MHA besiyerine ekim yapılmıştır. 37°C'de 24 saat inkübasyon süresi sonunda koloni gelişimine bağlı olarak örneklerin MBK değerleri belirlenmiştir (Tomas-Menor vd., 2013).

#### İstatistiksel değerlendirme

Denemeler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, SPSS 20 paket programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Ortalamalar arasındaki farklar Duncan's Multiple Range ve Paired Samples T testleri ile  $P < 0.05$  önem seviyesinde tespit edilmiştir.

#### SONUÇ VE TARTIŞMA

##### Örneklerin yağ asidi kompozisyonu

Çalışmada, MHTY ve BHTY'lerinde, toplam yağ asidi kompozisyonunun sırasıyla %98.9 ve 98.8'ini temsil eden 5 yağ asidi tanımlanmış olup, ağırlıklı olarak bulunan yağ asitlerinin linoleik, oleik ve palmitik asit olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 1). MHTY ve BHTY'lerinde sırasıyla %69.2 ve 73.2 linoleik asit, %17.4 ve 13.5 oleik asit, %8.9 ve 8.8 palmitik asit, %2.3 stearik asit ve %1.1 ve 1.0 elaidik asit belirlenmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Haşhaş tohumu yağlarının yağ asidi kompozisyonu  
Table 1. Fatty acid composition of poppy seed oils

Yağ asidi kompozisyonu <i>Fatty acid composition</i>	Bağıl yüzde (%) <i>Relative content (%)</i>	
	MHTY BPSO	BHTY BPSO
Palmitik asit (C16:0) <i>Palmitic acid (C16:0)</i>	8.9	8.8
Stearik asit (C18:0) <i>Stearic acid (C18:0)</i>	2.3	2.3
Oleik asit (C18:1); ω-9 <i>Oleic acid (C18:1); ω-9</i>	17.4	13.5
Elaidik asit (C18:1); ω-9 <i>Elaidic acid (C18:1); ω-9</i>	1.1	1.0
Linoleik asit (C18:2); ω-6 <i>Linoleic acid (C18:2); ω-6</i>	69.2	73.2
Toplam yağ asidi <i>Total fatty acid</i>	98.9	98.8

Yapılan bir çalışmada, Afyonkarahisar ve Uşak ilinde (Türkiye) yetişen haşhaş bitkilerinin mavi, sarı ve beyaz tohumlarından elde edilen sabit yağlarda bulunan linoleik, oleik, palmitik, stearik ve gamma-linoleik asit miktarlarının sırasıyla %73.10-75.20, %13.20-14.70, %8.70-9.51, %2.20-2.60 ve %0.50-0.60 arasında değişim gösterdiği tespit edilmiştir (Dündar Emir vd., 2015). Benzer bir çalışmada, 6 farklı haşhaş tohumu yağında bulunan yağ asidi kompozisyonu belirlenmiş ve ağırlıklı olarak linoleik (%65.52-74.97), oleik (%13.26-21.43) ve palmitik (%8.65-10.06) asit bulunduğu tespit edilmiştir (Abudak ve Kara, 2017). Bu sonuçlar, bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlarla paralellik göstermektedir. Diğer çalışmalarda, Afyonkarahisar (Türkiye) ve İrlanda'da yetişen haşhaş bitkilerinin tohumlarından elde edilen dietiler ve hekzan/izopropanol ekstraktlarında ile ağırlıklı olarak linoleik (%52.60-71.50), oleik asit (%13.11-24.13) ve palmitik asit (%12.20-18.70) gibi yağ asitlerinin bulunduğu tespit edilmiştir (Özcan ve Atalay, 2006; Ryan vd., 2007). Tüm bu sonuçlar, haşhaş tohumu yağlarının insan sağlığı için yararlı esansiyel yağ asitlerinden linoleik, oleik ve palmitik asiti yüksek oranda içerdiğini göstermektedir.

#### **Örneklerin toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivite değerleri**

MHTY'da bulunan toplam fenolik madde miktarı  $659.5 \pm 2.12$  mg GAE/kg iken beyaz BHTY'da bu değer  $275.5 \pm 2.12$  mg GAE/kg olarak tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ). Yağ örneklerinin antioksidan aktivite değerleri DPPH ve ABTS+ yöntemlerine göre incelenmiş ve MHTY'nda antioksidan aktivite değeri her iki yöntemle göre sırasıyla  $40.35 \pm 0.14$  ve  $41.09 \pm 0.58$ , BHTY'nda ise bu değer sırasıyla  $40.86 \pm 1.25$  ve  $41.95 \pm 1.46$  olarak tespit edilmiştir ( $P > 0.05$ ). Bununla birlikte, yağ örneklerinin fenolik madde miktarları arasında anlamlı farklılık olduğu ( $P < 0.05$ ), ancak antioksidan aktivite açısından aralarında fark bulunmadığı ( $P > 0.05$ ) belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada, Afyonkarahisar ve Uşak ilinde (Türkiye) yetişen haşhaş bitkilerinin mavi, sarı ve beyaz tohumlarından sabit yağların toplam fenolik madde miktarı 1.01-7.59 mg GAE/100 g yağ, antioksidan aktivite değeri ise 20.26-43.90 mmol

Trolox/g yağ olarak belirlenmiştir (Dündar Emir vd., 2015). Diğer bir çalışmada, Türkiye'de yetişen haşhaş bitkisinin beyaz ve mavi tohumlarında bulunan toplam fenolik madde miktarı 31.27-32.35 mg GAE/g, antioksidan aktivite değeri (DPPH) ise %7.58-11.23 aralığında değişim göstermiştir (Ghafoor vd., 2019). Başka bir çalışmada, Pakistan ve Hindistan'da yetişen haşhaş bitkisi tohumlarından kloroform/metanol ve aseton ekstraksiyonu ile elde edilen yağ örneklerinde bulunan toplam fenolik madde miktarı sırasıyla  $48.5 \pm 3.0$  mg GAE/100 g ve  $0.56 \pm 0.06$  mg GAE/kg, antioksidan aktivite değeri ise sırasıyla  $44.7 \pm 1.5$  ve  $33.16 \pm 2.12$  mg askorbik asit eşdeğeri/g olarak tespit edilmiştir (Ishtiaque vd., 2013; Kamath vd., 2015). Diğer bir çalışmada ise haşhaş tohumu yağlarının toplam fenolik madde miktarı, antioksidan aktivite ve E vitamini içeriğinin sırasıyla 2.617-2.916 mg GAE/mL yağ, %56.50-87.30 ve 29.4-54.0 mg/kg yağ aralığında değişim gösterdiği tespit edilmiştir (Abudak ve Kara, 2017). Fenolik asitler, türevleri ve flavanoidler yağ bakımından zengin olan tohumlarda baskın fenolik bileşiklerdir. Fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesi genellikle moleküldeki hidroksil gruplarının sayısına bağlıdır ve tohum yağlarında bulunan fenolik bileşikler yağların antioksidan aktivitesini arttırmaktadır (Liyana-Pathirana ve Shahidi, 2006; Bozan ve Temelli, 2008). Bununla birlikte, antioksidan aktivitenin sadece toplam fenolik madde miktarına bağlı olmadığı, aynı zamanda yağ içeriğinde bulunan fenolik bileşiklerin tipine de bağlı olduğu belirtilmektedir (Tovar vd., 2001; Bozan ve Temelli, 2008). Benzer şekilde, mevcut çalışmamızda da yağların toplam fenolik madde miktarı ile antioksidan aktivite değerleri arasında korelasyon olmadığı ve yağ içerisinde antioksidan etkili farklı bileşiklerin olabileceği ortaya konulmuştur. Ayrıca, çalışmalardan elde edilen sonuçlar, haşhaş tohumu yağında bulunan toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivite değerinin, kullanılan ekstraksiyon yöntemi, çözücü tipi ve bitkinin yetiştiği coğrafi bölge gibi etkenlere bağlı olarak farklılık gösterebileceğini ortaya koymuştur.

## Haşhaş (*Papaver somniferum*) çeşitlerinin tohum yağlarının özellikleri

### Haşhaş tohumu yağlarının antimikrobiyal aktivite değerleri

Haşhaş tohumu sabit yağlarının antimikrobiyal aktivitesi yedi farklı mikroorganizma üzerinde incelenmiştir. Disk difüzyon yöntemine göre, MHTY'na karşı en hassas mikroorganizmaların *E. coli* ( $11.0 \pm 5.7$  mm) ve *S. Typhimurium* ( $8.0 \pm 2.8$

mm), en dirençli mikroorganizmaların ise *B. subtilis* ve *S. aureus* (6 mm) olduğu tespit edilmiştir. BHTY, *B. subtilis* ve *S. aureus* dışındaki mikroorganizmalara karşı benzer düzeyde ( $7.0 \pm 1.41$  mm) antimikrobiyal etki göstermiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2. Haşhaş tohumu yağlarının inhibisyon zon çapları

Table 2. Diameter of inhibition zones of poppy seed oils

Test mikroorganizmalar <i>Test microorganisms</i>	İnhibisyon zon çapı <i>Diameter of inhibition zone</i>		PC AMP	NC GEN	NC SS SW
	MHTY BPSO	BHTY WPSO			
	<i>L. monocytogenes</i>	$7.0 \pm 0.0$	$7.0 \pm 1.4$	$28.0 \pm 2.0$	$28.5 \pm 1.5$
<i>E. faecalis</i>	$7.0 \pm 1.4$	$7.0 \pm 1.4$	$21.0 \pm 1.0$	$14.5 \pm 0.5$	$6.0 \pm 0.0$
<i>B. subtilis</i>	$6.0 \pm 0.0$	$6.0 \pm 0.0$	$29.0 \pm 1.0$	$29.5 \pm 0.5$	$6.0 \pm 0.0$
<i>S. aureus</i>	$6.0 \pm 0.0$	$6.0 \pm 0.0$	$35.5 \pm 0.5$	$22.5 \pm 0.5$	$6.0 \pm 0.0$
<i>E. coli</i> O157:H7	$7.0 \pm 1.4$	$7.0 \pm 1.4$	$11.5 \pm 0.5$	$18 \pm 0.0$	$6.0 \pm 0.0$
<i>S. Typhimurium</i>	$8.0 \pm 2.8$	$7.0 \pm 1.4$	$18.0 \pm 2.0$	$20 \pm 0.0$	$6.0 \pm 0.0$
<i>E. coli</i>	$11.0 \pm 5.7$	$7.0 \pm 1.4$	$20.5 \pm 0.5$	$21.5 \pm 1.5$	$6.0 \pm 0.0$

PC: Pozitif kontrol, NC: Negatif kontrol, AMP: Ampisilin; GEN: Gentamisin; SS: steril su  
PC: Positive control, NC: Negative control, AMP: Ampicillin; GEN: Gentamycin; SW: sterile water

Literatürde, haşhaş bitkisinin farklı ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesinin disk difüzyon yöntemi ile incelendiği birkaç çalışma bulunmaktadır. Chaudhry ve Tariq (2008) tarafından yapılan bir çalışmada, Pakistan'da yetişen haşhaş bitkisinin tohumlarından elde edilen su ekstraktının *Alcaligenes* spp. ( $8.5 \pm 1.1$  mm), *Citrobacter* spp. ( $8.8 \pm 2.3$  mm) *E. coli* ( $9.5 \pm 0.5$  mm), *Micrococcus roseus* ( $8.1 \pm 3.4$  mm) üzerine antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bu çalışmada test materyalinin *E. coli* üzerine inhibitif etkisi, bizim elde ettiğimiz sonuca göre daha düşük bulunmuştur. Diğer bir çalışmada, haşhaş çiçeği uçucu yağının *M. luteus* (12 mm), *Proteus vulgaris* (10 mm) ve *Klebsiella pneumoniae* (8 mm) üzerine antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Dilek vd., 2018). Genel olarak bizim yürütmüş olduğumuz çalışma kapsamında test bakterisi olarak gıda mikrobiyolojisinde önem arz eden

bakteriler test edilmiş, dolayısıyla bu verilerin diğer araştırma sonuçları ile karşılaştırması mümkün olamamıştır.

Sıvı dilüsyon yöntemine göre MHTY *L. monocytogenes* ve *E. coli* üzerine, BHTY ise *L. monocytogenes* ve *E. faecalis* üzerine %10'luk (h/h) konsantrasyonda inhibitif etki göstermiştir (Çizelge 3). Bununla birlikte, her iki yağ örneğinin de tüm test kültürlerine karşı %10'luk konsantrasyonda bakterisidal etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 3).

Literatürde Türkiye'de yetişen haşhaş bitkisi tohumlarından elde edilen sabit yağların MİK ve MBK değerlerinin belirlendiği herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bununla birlikte, İran'da yetiştirilen haşhaş bitkisinin farklı bir türü olan *Papaver macrostomum*'un etanol ekstraktının

*Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli* ve *S. aureus* üzerine 500 µl/mL oranında inhibitif etki, 1000 µl/mL oranında ise bakterisidal etki gösterdiği bildirilmiştir (Khanafari vd., 2013). Yapılan bu çalışmalar, haşhaş bitkisinin antimikrobiyal aktivitesinin bitki türü, ekstraksiyon yöntemi ve kullanılan test kültürlerine bağlı olarak farklılıklar gösterebileceğini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte, bitkilerin farklı bölgelerinden elde edilen ekstrakt, esansiyel veya sabit yağlarının antimikrobiyal aktivitesinin, yağ içeriğinde bulunan yağ asitleri gibi maddelerden kaynaklandığı ve bitkilerde bulunan linoleik, linolenik, oleik, stearik ve palmitik asit gibi yağ asitlerinin *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum* ve *C.*

*sporogenes* gibi mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmektedir (Ababouch vd., 1992; 1994; Coskun, 2006). Ayrıca fenolik bileşiklerde bulunan hidroksil gruplarının bakteriler üzerinde inhibe edici etkisinin olduğu ve haşhaş bitkisi tohum yağlarının vanilik, *p*-kumarik, ferulik, *p*-hidroksibenzoik asit gibi fenolik bileşikler yüksek oranda içerdiği belirtilmektedir (Şengün ve Öztürk, 2018; Ghafoor vd., 2019). Dolayısıyla, yürüttüğümüz bu çalışmada haşhaş bitkisi tohum yağlarının antimikrobiyal aktivitesinin içeriğinde bulunan yağ asitleri ve fenolik bileşiklerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 3. Haşhaş tohumu yağlarının MİK ve MBK değerleri

Table 3. MIC and MBC values of poppy seed oils

Test mikroorganizmalar <i>Test microorganisms</i>	MİK değeri (h/h) <i>MIC value (v/v)</i>		MBK değeri (h/h) <i>MBC value (v/v)</i>	
	MHTY <i>BPSO</i>	BHTY <i>WPSO</i>	MHTY <i>BPSO</i>	BHTY <i>WPSO</i>
<i>L. monocytogenes</i>	%10	%10	>10	>10
<i>E. faecalis</i>	>10	%10	>10	>10
<i>B. subtilis</i>	>10	>10	>10	>10
<i>S. aureus</i>	>10	>10	>10	>10
<i>E. coli</i> O157:H7	>10	>10	>10	>10
<i>S. Typhimurium</i>	>10	>10	>10	>10
<i>E. coli</i>	%10	>10	>10	>10

## SONUÇ

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, MHTY ve BHTY'larının, linoleik asidi yüksek miktarda içerdiğini göstermiştir. MHTY ve BHTY'larından elde edilen yağların fenolik madde miktarları arasında anlamlı farklılık olduğu ( $P < 0.05$ ), ancak antioksidan etki açısından bu farklılığın bulunmadığı ( $P > 0.05$ ) belirlenmiştir. Çalışma kapsamında ilk kez yağ örneklerinin gıda mikrobiyolojisi açısından önemli bakteriler üzerinde antimikrobiyal etkilere sahip olduğu hem disk difüzyon ve hem de sıvı dilüsyon yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir. Yağ örneklerine karşı en duyarlı mikroorganizmaların *L. monocytogenes*, *E. faecalis* ve *E. coli*, en dirençli mikroorganizmaların ise *B. subtilis* ve *S. aureus*

olduğu tespit edilmiştir. Çalışma kapsamında elde edilen sonuçlar, haşhaş tohumu sabit yağlarının biyoaktif bileşenler açısından zengin kaynaklar olduğunu ve dolayısıyla antimikrobiyal ve antioksidan aktivite açısından önemli potansiyele sahip olduğunu ortaya koymuştur.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Bu makale ile ilgili olarak başka kişiler ve/veya kurumlar arasında bir çıkar çatışması yoktur.

## YAZAR KATKILARI

Bu makalenin hazırlanmasında Yazarların katkı payı şöyledir: İYŞ: %25; EY: %25; BÖ: %25; GK: %25 Makalenin hazırlanmasında başka kişi ve/veya kurumların katkısı yoktur.

## KAYNAKLAR

- Ababouch, L., Chaibi, A., Busta, F.F. (1992). Inhibition of bacterial spore growth by fatty acids and their sodium salts. *J. Food Prot.* 55: 980-984, doi:10.4315/0362-028X-55.12.980.
- Ababouch, L., Bouqartacha, F., Busta, F.F. (1994). Inhibition of *Bacillus cereus* spores and vegetative cells by fatty acids and glyceryl monododecanoate. *Food Microbiol.* 55: 327-336, doi: 10.1006/fmic.1994.1037.
- Abudak, M., Kara, H.H. (2017). Fatty acid composition and some bioactive properties of edible oil extracted from different varieties of poppy (*Papaver somniferum* L.) seeds. *Riv. Ital. Sostanze Grasse*, 94: 19-25.
- Bozan, B., Temelli, F. (2008). Chemical composition and oxidative stability of flax, safflower and poppy seed and seed oils. *Bioresource Technol.* 99: 6354-6359, doi: 10.1016/j.biortech.2007.12.009.
- Chaudhry, N.M.A. Tariq, P. (2008). In vitro antibacterial activities of kalonji, cumin and poppy seed. *Pak J Bot*, 40(1): 461.
- Coşkun, F. (2006). Gıdalarda bulunan doğal koruyucular. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 2, 27-33.
- Deng, Y., Yang, G., Yue, J., Qian, B., Liu, Z., Wang, D., Zhong, Y., Zhao, Y. (2014). Influences of ripening stages and extracting solvents on the polyphenolic compounds, antimicrobial and antioxidant activities of blueberry leaf extracts. *Food Control*, 38: 184-191 doi: 10.1016/j.foodcont.2013.10.023.
- Dilek, M., Gültepe, A., Öztaşan, N. (2018). Haşhaş (*Papaver somniferum* L.) çiçeğinin uçucu yağ içeriğinin belirlenmesi ve antimikrobiyal özelliklerinin araştırılması. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 18(3): 786-795, doi: 10.5578/fmbd.67616.
- Dündar Emir, D., Aydeniz, B., Yılmaz, E. (2015). Effects of roasting and enzyme pretreatment on yield and quality of cold-pressed poppy seed oils. *Türk J Agric For*, 39: 260-271, doi:10.3906/tar-1409-34.
- Ghafoor, K., Özcan, M.M., Fahad, A.J., Babiker, E.E., Fadimu, G.J. (2019). Changes in quality, bioactive compounds, fatty acids, tocopherols, and phenolic composition in oven-and microwave-roasted poppy seeds and oil. *LWT-Food Sci Tech*, 99: 490-496, doi: 10.1016/j.foodchem.2019.05.140.
- Gültepe, A. (2013). *Papaver somniferum* L. çiçeklerinin esansiyel yağ içeriği, antimikrobiyal ve antifungal özelliklerinin belirlenmesi. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilimdalı Yüksek Lisans Tezi, Afyonkarahisar, Türkiye, 73 s.
- Ishtiaque, S., Khan, N., Siddiqui, M.A., Siddiqi, R., Naz, S. (2013). Antioxidant potential of the extracts, fractions and oils derived from oilseeds. *Antioxidants*, 2(4): 246-256, doi: 10.3390/antiox2040246.
- Kamath, S.D., Arunkumar, D., Avinash, N.G., Samshuddin, S. (2015). Determination of total phenolic content and total antioxidant activity in locally consumed food stuffs in Moodbidri, Karnataka, India. *Adv Appl Sci Res*, 6(6): 99-102.
- Khanafari, A., Yaghoub, N.Z.G., Fariba S. (2013). Combined application of microbial cellulose and *papaver macrostomum* extract on bed sore microorganisms. *Jundishapur J Microbiol*, 6(3): 220-225.
- Kıralan, M., Özkan, G., Bayrak, A., Ramadan, M.F. (2014). Physicochemical properties and stability of black cumin (*Nigella sativa*) seed oil as affected by different extraction methods. *Ind Crop Prod*, 57: 52-58, doi: 10.1016/j.indcrop.2014.03.026.
- Liyana-Pathirina, C.M., Shahidi, F. (2006). Importance of insoluble-bound phenolics to antioxidant properties of wheat. *J Agric Food Chem*, 54:1256-1264, doi: 10.1021/jf052556h.
- Naik, D.G., Dandge, C.N., Rupanar, S.V. (2011). Chemical examination and evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of essential oil from *Gymnema sylvestre* R. Br. leaves. *J Essent Oil Res*, 23(3): 12-19, doi: 10.1080/10412905.2011.9700451.



- Özcan, M.M., Atalay, Ç. (2006). Determination of seed and oil properties of some poppy (*Papaver somniferum* L.) varieties. *Grasas y Aceites*, 57(2), 169-174, doi: 10.3989/gya.2006.v57.i2.33.
- Peter, K.V. (2001). *Handbook of herbs and spices*. CRC Press, Abington the USA, 332 p.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*, 26: 1231-1237, doi: 10.1016/s0891-5849(98)00315-3.
- Ryan, E., Galvin, K., O'Connor, T.P., Maguire, A.R. (2007). Phytosterol, squalene, tocopherol content and fatty acid profile of selected seeds, grains, and legumes. *Plants Food Hum Nutr*, 62: 85-91, doi: 10.1007/s11130-007-0046-8.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Viticult*, 16: 144-158.
- Şengün İ.Y., Öztürk B. (2018). Bitkisel kaynaklı bazı doğal antimikrobiyaller. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi C- Yaşam Bilimleri ve Biyoteknoloji*, 7: 256-276, doi: 10.18036/aubtdc.407806.
- USP, (1995). The U.S. Pharmacopeia National Formulary. USP 23 NF 18, 1755 s.
- Tajkarimi, M.M., Ibrahim, S.A., Cliver, D.O. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, 21(9): 1199-1218, doi: 10.1016/j.foodcont.2010.02.003.
- Tomas-Menor, L., Morales-Soto, A., Barrajon-Catalan, E., Roldan-Segura, C., Segura-Carretero, A., Micol, V. (2013). Correlation between the antibacterial activity and the composition of extracts derived from various Spanish *Cistus* species. *Food Chem Toxicol*, 55: 313-322, doi: 10.1016/j.fct.2013.01.006.
- Tovar, M.J., Motilva, M.J., Romero, M.P. (2001). Changes in the phenolic composition of virgin olive from young trees (*Olea europaea* L. cv. *Arbequina*) grown under linear irrigation strategies. *J Agric Food Chem*, 49 (11): 5502-5508, doi: 10.1021/jf0102416.