

Turunçgil Kabuk ve Yaprak Ekstraktlarının Gıda Kaynaklı Patojen Bakteriler Üzerine Antimikrobiyal Aktivitesi

Gökhan Akarca , Fatma Baytal 

Afyon Kocatepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Afyonkarahisar

Geliş Tarihi (Received): 04.05.2021, Kabul Tarihi (Accepted): 25.10.2021

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): gakarca@aku.edu.tr (G. Akarca)

☎ 0272 228 1423 📠 0272 228 1422

ÖZ

Bu çalışmada, Ege bölgesinden toplanan turunçgil meyvelerinin (mandalina, limon, greyfurt, portakal) kabuk ve yapraklarından (taze ve kurutulmuş) elde edilen etanol ekstraktlarının, gıda kaynaklı üç Gram pozitif (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*) ve dört Gram negatif (*Salmonella* Typhi, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*) patojen bakteri türü üzerindeki antimikrobiyal etkilerinin varlığı ile minimum inhibitör konsantrasyon (MIC) ve minimum bakterisidal konsantrasyon (MBC) değerleri disk difüzyon metodu ile araştırılmıştır. Dört farklı turunçgil türünün taze ve kuru kabuklarından elde edilen etanol ekstraktları içerisinde en yüksek antimikrobiyal etkileri sırasıyla; 21.51 mm zon çapı ile *Listeria monocytogenes* ve 34.65 mm zon çapı ile *Staphylococcus aureus* üzerinde mandalina kabuğu etanol ekstraktları göstermiştir ($p<0.05$). Turunçgil kabuklarından elde edilen etanol ekstraktlarının en düşük MIC ve MBC değerleri sırasıyla 11.72 µg/mL ve 3.90 µg/mL ile *Listeria monocytogenes* üzerinde kurutulmuş mandalina ve limon kabukları etanol ekstraktında olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Turunçgil yapraklarından elde edilen etanol ekstraktlarının en düşük MIC ve MBC değerleri ise sırasıyla 5.86 µg/mL ile *Bacillus cereus* üzerinde kurutulmuş limon ve 3.90 µg/mL ile *Listeria monocytogenes* üzerinde kurutulmuş mandalina kabukları etanol ekstraktında olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$).

Anahtar Kelimeler: Disk difüzyon, MIC, MBC, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*

Antimicrobial Activity of Citrus Peel and Leaf Extracts against Foodborne Pathogenic Bacteria

ABSTRACT

In this study, the presence of antimicrobial effects of ethanol extracts obtained from the peel and leaves (fresh and dried) of citrus fruits (mandarin, lemon, grapefruit, orange) collected from the Aegean region of Turkey on three Gram positive (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*) and four Gram negative (*Salmonella* Typhi, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*) foodborne pathogenic bacteria species and minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) values were investigated by disk diffusion method. Among the ethanol extracts obtained from fresh and dried peels of four different citrus species, the highest antimicrobial effects were obtained for mandarin peel ethanol extracts on *Listeria monocytogenes* with a zone diameter of 21.51 mm and *Staphylococcus aureus* with a zone diameter of 34.65 mm ($p<0.05$). The lowest MIC and MBC values of ethanol extracts of citrus peels were obtained for dried tangerine and lemon peels on *Listeria monocytogenes* with 11.72 µg/mL and 3.90 µg/mL ($p<0.05$), respectively. The lowest MIC and MBC values of ethanol extracts of citrus leaves were determined for dried lemon peels on *Bacillus cereus* with 5.86 µg/mL and dried tangerine peels on *Listeria monocytogenes* with 3.90 µg/mL ($p<0.05$), respectively.

Keywords: Disk diffusion, MIC, MBC, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*

GİRİŞ

Turunçgiller veya Turunçgil *Rutaceae* familyasının *Aurantoideae* alt familyasına dahil olup birçok tür içermektedirler. Ancak bunlardan en önemlileri *Citrus paradisi* (altıntop), *Citrus limon* (limon), *Citrus sinensis* (tatlı portakal), *Citrus reticula* (mandarin), *Citrus aurantium* (acı portakal), *Citrus maxima* ya da *Citrus grandis* (Pomelo)'dir [1]. İnsan sağlığına önemli yararları bulunan turunçgillerin Anavatanı Çin, Hindistan ve Güney Doğu Asya olduğu belirtilmektedir [2]. Dünyada üretimi en fazla olan meyve grubu 140 milyon ton ile turunçgillerdir [3]. Dünya turunçgil üretim alanının en kuzey sınırında yer alan Türkiye de turunçgil yetiştiriciliği en fazla Ege, Akdeniz ve kısmen de Doğu Karadeniz bölgelerinde yapılmaktadır Türkiye'de turunçgil yetiştiriciliğinde üretim miktarı olarak en çok payı, toplam üretim miktarının %70'ine sahip olan Çukurova almaktadır. Turunçgillerin duysal kokusu; kabuk kimyasındaki uçucu yağlardan, karakteristik rengi; flavonid ve karotenoidlerden, tadı ise; organik asit-şeker (çoğunlukla sitrik asit) oranı ile az miktarda bulunan aromatik bileşenlerden kaynaklanmaktadır [4].

Turunçgillerin dış kısmında 2 katmandan oluşan (flavedo ve albedo) kabuk kısmı yer almaktadır. En dışta bulunan, sarıdan portakal kırmızısına kadar değişen ince tabaka flavedo, flavedonun altında bulunan; keçe benzeri yapıda, beyaz renkli, daha iri hücrelerden oluşan ise albedo tabakasıdır. Flavedo kısmında karotenoid pigmentleri ve yağ hücreleri yer almakta, albedoda ise su ve besin maddeleri taşıyan damarlar yer almaktadır [5]. Yapılan çalışmalarda kabukların bileşimindeki vitamin, toplam fenolik madde ve mineral madde içeriğinin meyve ve meyve suyundan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [6]. Günümüzde turunçgil türleri ve çeşitlerinin kültürü yapılanlarının büyük bir çoğunluğu diploid kromozom yapısında olup $2n=18$ kromozom içermektedirler [7]. Bileşiminde bulunan folik ve askorbik asit, lif, potasyum, magnezyum, pektin, vitaminler (tiamin, niyasin, B6 vitamini) flavonoidler ve karotenoidler ile insan sağlığı üzerine olumlu etkileriyle öne çıkan turunçgillerin bileşenlerinin miktarı; turunçgilin olgunluk ve çeşidi, saklama koşulları, işleme yöntemlerine göre değişmektedir [8].

Turunçgillerin meyvelerinden gıda olarak faydalanmakla birlikte kabuk, çiçek veya yapraklarından parfümeri sanayisinde kullanılan uçucu yağ elde edilebilmektedir. Elde edilen yağlar aynı zamanda; gıda, eczacılık, kimya ve kozmetik gibi birçok alanda da kullanılmaktadır. Gıda alanında gazlı içeceklerin hazırlanmasında sitrus meyvesinin kabuk yağından faydalanılmaktadır [5]. Turunçgillerin yenilen kısmının haricinde, çekirdek ve kabuklardan oluşan atık kısımlarından halk arasında bazı hastalıkların tedavisinde de (diyabet, hipertansiyon gibi) kullanılmaktadır [6].

Bu çalışmada, dört farklı taze ve kurutulmuş turunçgil meyvesinden elde edilen kabuk ve yaprakların etanol ekstraktlarının, bazı önemli gıda kaynaklı patojen bakteri üzerindeki antibakteriyel etkilerinin varlığının araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Bu çalışmada kullanılan turunçgil meyveleri ve yaprakları (mandalina (*Citrus reticulata*), limon (*Citrus lemon*), greylift, (*Citrus paradisi*) portakal (*Citrus cinensis*)); Ege bölgesi Aydın ili Söke ilçesinde (37° 42' 11"N 27° 21' 56"E ile 37° 42' 21"N 27° 22' 06" E arası, denizden yükseklik 40 m) bulunan meyve bahçelerinden Ekim- Ocak 2020 ayları arasında hasat edilmiştir. Örneklerin gerekli alt tür ve varyete düzeyinde teşhisi Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyeleri tarafından yapılmıştır.

Örneklerin Analiz için Hazırlanması

Taze olarak kullanılacak kabuk ve yapraklar, hasat işlemlerini takip eden iki gün içerisinde ayrılmış, kuru olarak kullanılacak olanlar ise; ayrıldıktan sonra gölgede oda sıcaklığında 15 gün süre ile kurutulmuştur.

Ekstraksiyon İşlemi

Taze olarak analiz edilecek örnekler el ve keskin bir bıçak yardımı ile olabildiğince küçük parçalara ayrılmış, kurutulan örnekler ise, laboratuvar tipi değirmende (D300, Sundem, Türkiye) toz haline gelinceye kadar öğütülmüştür. Ardından her örnekten 300'er g hassas terazide (Radwag PS 510 R, Polonya) tartılarak üzerine 1:3 (w/v) oranında %85' lik etanolden (Merck, 100983, Almanya) 400 mL ilave edilmiştir. Hazırlanan örnekler shaker (Wiseshake SHO-2D, Witeg, Kore) 120 dev/dk 24 saat çalkalanmıştır. Ekstraktlar sterilize edilmiş filtre kağıdından (Watman No:32) süzülükten sonra, süzütüdeki çözücü rotary evaporatörde (Heidolph, Almanya) 100 rpm hızda, 40- 50°C uzaklaştırılmıştır. Elde edilen ekstraktlar ayrı ayrı steril cam şişelere alınarak alüminyum folyo ile kaplanmış, analizleri tamamlanincaya kadar serin ve karanlık bir ortama muhafaza edilmişlerdir [9].

Araştırmada Kullanılan Mikroorganizmalar

Araştırmada; *Esherichia coli* (ATCC 25922), *Listeria monocytogenes* (ATCC 51774), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145) *Salmonella Typhi* (ATCC 14028) ve *Bacillus cereus* (ATCC 14579) Türlerine ait bakteriler kullanılmıştır.

İnokulumların Hazırlanması

Kanlı agarda (Merck, 110886, Almanya) 4-7°C'de muhafaza edilen bakteri suşlarından steril öze yardımıyla alınarak, her bakteri kültürü için özel seçici besiyerine geçilmiş ve uygun koşullarda, 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda gelişen ayrı ayrı düşmüş kolonilerden steril bir öze yardımıyla ile alınan koloniler, içerisinde 9 mL steril ringer (Merck, 115525, Almanya) solüsyonu bulunan tüpler içerisinde süspansiyon edilmiş ve homojen bir bulanıklık oluşturulmuştur. Ele edilen inokulum süspansiyonunun

yoğunluğu densitometre (Biosan, 1B, Türkiye) ile 0.5 McFarland standardına göre ayarlanmıştır. Yoğunluğu ayarlanan inokulumlardan 0.1 mL (10^6 - 10^7 kob/mL) steril bir pipet (Eppendorf, Research plus, Almanya) yardımıyla alınarak yeni hazırlanmış 22°C'de, katkısız Muller Hinton Agar (Merck 1,05437, Almanya) (MHA) yüzeyine homojen bir şekilde inokule edilmiştir. Inokulum steril drigalski spatülleri (Orlab, Türkiye) aracılığı ile homojen emilim sağlanana kadar petri yüzeyine yayılmıştır [10, 11].

Ekstrakt İçeren Disklerin Hazırlanması

Elde edilen turunçgil ekstraktlarından 10'ar µL steril uçlu otomatik pipet (Research Plus, Eppendorf, Almanya) yardımı ile petri kutuları (Steril, 90 x 15, Fıratmed, Türkiye) içerisine alınarak ve üzerine boş antibiyotik diskleri (Bio-Disk 316010001) yerleştirilmiştir. Disklerin ekstraktları emmesi için petri kutuları kapakları kapalı şekilde 1 saat boyunca buzdolabında (4°C'de) bekletilmiş, ardından diskler 25°C'de inkubatörde (Incucell, MMM, Almanya) 10-12 saat süre ile kurutulmuştur [12].

Disk Difüzyon Metodu ile Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Mueller Hinton Agar (Merck 1,05437) besiyeri yüzeyine yayılan inokulasyonların emilmesi için 10 dk beklendikten sonra, turunçgil ekstraktları emdirilmiş ve kurutulmuş antibiyogram diskler (Bio-Disk 316010001, Türkiye) besiyerinin yüzeyine oluşacak zonların bir birisine değmeyeceği uzaklıkta olacak şekilde penset aracılığıyla (3'lü ve 4'lü) yerleştirilmiş ve disklerin sabitlenmesi için 15 dakika petri kutularının hareketsiz kalması sağlanmıştır [13]. Daha sonra petri kutuları içerisine inokule edilen bakteri türüne uygun koşullarda *Esherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes* ve *Salmonella Typhi* aerobik koşullarda, 35±1°C'de 16-20 saat, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacillus cereus*; aerobik koşullarda, 30±1°C'de 16-20 saat ve *Listeria monocytogenes* ise; %5 CO₂ içeren ortamda, 35±1°C'de 16-20 saat etüvde (Incucell, MMM, Almanya) inkübasyona bırakılmış [14]. Süre sonunda oluşan zonlar, yeterli gün ışığı altında digital bir kumpas (Mitutoyo, 500-181-30, Japonya) yardımıyla ölçülmüştür [11].

Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MIC) Değerinin Belirlenmesi

Birden fazla konsantrasyonlarda test edilen antimikrobiyal bileşen veya maddelerin mikrobiyal gelişiminin gözle görülür biçimde engellendiği, inhibe olduğu en düşük antimikrobiyal konsantrasyon Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MIC) olarak tanımlanmıştır [15]. Çalışmada kullanılan bakteri suşları, Mueller-Hinton broth (Merck 110293) üzerinde inoküle edilerek uygun gelişim süre ve sıcaklıklarında inkübasyona bırakılmıştır. Bakteriye suşların inokülasyonu 24 saatlik genç kültür kültürlerden hazırlanmış ve süspansiyonlar 0.5 McFarland turbidite standardına ayarlanmıştır.

Her biri 2 mL steril Nutrient broth (Merck 1.05443, Almanya) içeren altı tüpten ilkinde, 2 mL turunçgil ekstraktı bir steril uçlu otomatik pipet (Research Plus, Eppendorf) kullanılarak ilave edilmiştir. İlk tüpteki turunçgil ekstraktı ve Nutrient broth karışımından 2 mL alınarak, bir sonraki tüp içerisinde bulunan içerik (2 mL steril Nutrient broth) ile karıştırılmıştır. İşleme bu şekilde son tüpe kadar devam edilmiş, bu şekilde içerisinde aynı miktarlarda, ancak bir önceki tüpün yarı konsantrasyonunda broth ve ekstrakt karışımları elde edilmiştir. Ayrıca, sadece 2 mL Nutrient broth ve yalnızca 2 mL turunçgil ekstraktları içeren pozitif ve negatif kontrol tüpleri de oluşturulmuştur. Ardından Tryptic Soy broth (Merck, 105459, Almanya) içerisinde bulunan genç bakteri suşlarından steril bir otomatik pipet yardımıyla 1'er µL alınmış ve negatif kontrol tüpü hariç tüm tüpler içerisine inokule edilmiş ve tüplerin uygun sıcaklık, zaman ve koşullarda inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda bulanıklık, membranlı ve yüzeyinde çökelti bulunan tüpler bakteri üremesi pozitif olarak tanımlanmıştır. MIC değeri, pozitif büyüme tespit edilen tüp ile bir öncesindeki tüpün konsantrasyonlarının toplamının yarısı alınarak hesaplanmıştır. Ayrıca inkübasyon süresinin sonunda negatif kontrol tüpünde bakteri üremesi olmadığı, ancak pozitif kontrol tüpünde bakteri üremesi olduğu da tespit edilmiştir [11, 16, 17].

Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBC) Değerinin Belirlenmesi

Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBC), MIC değeri belirlendikten sonra, MIC testinin devamı olarak yapılan bir analizdir [18]. MIC değerinin belirlenmesi analizinde, gelişmenin gözlemlendiği ilk tüpten başlayarak, sonraki tüm tüplerden steril bir öze yardımıyla örnekler alınmış ve Muller Hinton Agar besiyerinin yüzeyine çizme şeklinde inokule edilmiştir. Ardından besiyeri her bir bakteri uygun sıcaklıkta, zamanda ve koşullarda inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından, MBC değeri, petri kutularında hiçbir gelişimin tespit edilmediği konsantrasyon olarak belirlenmiştir [11, 19, 20].

İstatistiksel Analizler

Araştırmada tüm analizler üç paralel olacak kez yapılmıştır. Elde edilen sonuçların istatistiksel analizi SPSS V 23.0.0.0 programı ile tek yönlü ANOVA testi kullanılarak yapılmıştır. Önemli bir farka sahip ortalama değerler ($p < 0.05$) Duncan'ın çoklu aralık testleri ile karşılaştırılmıştır [21].

BULGULAR ve TARTIŞMA

Antibakteriyel etki, MIC ve MBC değerleri üzerinde, kurutma işlemi, turunçgil çeşidi (kabuk ve yaprak ayrı ayrı olacak şekilde), bakteri türü, kurutma işlemi x turunçgil çeşidi, kurutma işlemi x bakteri türü, turunçgil çeşidi x bakteri türü ve kurutma işlemi x turunçgil çeşidi x bakteri türü etkileşimlerinin tamamının çok fazla etkili olduğu belirlenmiştir.

Araştırmada kullanılan yedi farklı gıda kaynaklı patojen bakteri üzerinde, dört farklı taze ve kurutulmuş turunçgil

kabuğu etanol ekstraktının antibakteriyel etkisi Tablo 1'de gösterilmiştir.

Çalışmada kullanılan turunçgil kabukları içerisinde en yüksek anti bakteriyel etkiyi mandalina kabuklarından elde edilen etanol ekstraktları göstermiştir ($p<0.05$).

Ayrıca antibakteriyel etki araştırmada kullanılan bakteriler arasında Gram pozitif olanlarda, Gram negatif olanlara kıyasla daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Turunçgil kabuklarına uygulanan kurutma işlemi de patojen bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkinin artmasına neden olmuştur.

Tablo 1. Turunçgil kabuklarının antimikrobiyal aktivitesi

Table 1. Antimicrobial activity of citrus peels

Bakteri	Mandalina		Portakal	
	Taze Kabuk	Kuru Kabuk	Taze Kabuk	Kuru Kabuk
<i>Escherichia coli</i>	10.75±1.41 ^b	7.01±0.17 ^d	16.62±0.51 ^b	13.43±0.33 ^e
<i>Staphylococcus aureus</i>	8.10±0.68 ^b	34.65±5.66 ^a	18.44±0.29 ^a	32.17±0.47 ^a
<i>Salmonella Typhi</i>	8.015±1.18 ^b	9.015±1.87 ^d	12.61±0.78 ^{cd}	14.01±0.30 ^e
<i>Enterobacter aerogenes</i>	9.32±1.07 ^b	8.01±0.59 ^d	12.11±0.33 ^d	12.53±0.17 ^f
<i>Listeria monocytogenes</i>	21.51±2.02 ^a	27.72±3.39 ^b	13.53±0.45 ^c	20.01±0.21 ^c
<i>Bacillus cereus</i>	8.19±1.36 ^b	10.77±1.24 ^d	13.01±0.28 ^{cd}	17.17±0.20 ^d
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10.05±1.44 ^b	20.785±2.48 ^c	12.45±0.44 ^{cd}	22.28±0.24 ^b
Bakteri	Greyfurt		Limon	
	Taze Kabuk	Kuru Kabuk	Taze Kabuk	Kuru Kabuk
<i>Escherichia coli</i>	9.88±0.23 ^c	12.38±0.34 ^d	14.77±0.48 ^b	27.09±0.51 ^a
<i>Staphylococcus aureus</i>	9.22±0.15 ^d	12.62±0.24 ^d	17.64±0.42 ^a	19.18±0.66 ^c
<i>Salmonella Typhi</i>	10.29±0.20 ^{bc}	12.33±0.17 ^d	12.31±0.22 ^c	16.67±0.35 ^d
<i>Enterobacter aerogenes</i>	14.26±0.28 ^a	26.29±0.78 ^a	10.03±0.26 ^d	18.63±0.40 ^c
<i>Listeria monocytogenes</i>	14.31±0.25 ^a	26.73±0.54 ^a	14.51±0.24 ^b	16.22±0.15 ^d
<i>Bacillus cereus</i>	10.52±0.28 ^b	14.44±0.45 ^c	13.47±0.51 ^c	20.56±0.44 ^b
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8.38±0.33 ^e	17.08±0.18 ^b	11.53±0.11 ^c	20.71±0.28 ^b

Dört farklı turunçgil türünün taze kabuklarından elde edilen etanol ekstraktları içerisinde en yüksek antibakteriyel etkiyi *Listeria monocytogenes* üzerinde 21.51 mm zon çapı ile mandalina kabuğu etanol ekstraktı göstermiştir. Bu etkiyi sırasıyla *Staphylococcus aureus* üzerinde 18.44 mm zon çapı ile portakal ve yine *Staphylococcus aureus* üzerinde 17.64 mm zon çapı ile limon kabuğu etanol ekstraktları göstermiştir ($p<0.05$). Benzer şekilde kurutulmuş turunçgil kabuklarında ise en yüksek antibakteriyel etki; 34.65 mm zon çapı ile *Staphylococcus aureus* üzerinde mandalina kabuğu etanol ekstraktı tarafından oluşturulmuştur. Bu etkiyi sırasıyla *Staphylococcus aureus* üzerinde 32.17 mm zon çapı ile portakal ve *Listeria monocytogenes* üzerinde 27.72 mm zon çapı ile yine mandalina kabuğu etanol ekstraktları takip etmişlerdir ($p<0.05$).

Yapılan araştırmalar mandalina, portakal, greyfurt ve limon kabukları içerisinde en fazla bulunan bileşenin limonen (> %90) olduğunu ortaya koymuştur [22-26] Limonen gıda kaynaklı patojen bakteriler üzerinde yüksek antibakteriyel etkiye sahiptir [27]. Çalışmamızda kullandığımız turunçgil kabuklarının başlıca antibakteriyel etkisi limonenden kaynaklanmaktadır.

Yashaswini ve Arvind [28] araştırmalarında portakal kabuk etanol ekstraktının patojen bakteriler üzerinde yüksek antimikrobiyal etki gösterdiğini ifade etmiş, en yüksek etkinin 19.12 mm zon çapı ile *Staphylococcus aureus* üzerinde olduğunu bildirmişlerdir. Aynı şekilde Dorman ve ark. [29] ve Mandalari ve ark. [30] tarafından yapılan araştırmalarda turunçgil kabuklarında antibakteriyel aktivite tespit edilmiştir. Espina ve ark. [25] ise mandalina kabuğunun limon kabuğundan daha fazla antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu ifade

etmişlerdir. Bu bulgular, araştırma sonuçlarımıza benzerlik göstermektedir.

Bakterilerin hücre duvarının yapısı flavonoidler, fenolik bileşikler ve polifenollerin neden olduğu lokalize protonasyon etkilerine karşı çok az tamponlama kapasitesine sahiptir. Bu durum kolaylıkla hiper asitleşmeye neden olabilir, stoplazma membranı ile alakalı H⁺ -ATPaz ilişkisi bozulabilir ve sonuçta bakteri hücresinin enerji metabolizması olumsuz bir şekilde etkilenecek ölümüne neden olabilir [28, 31]. Bu bileşikler ayrıca nükleik asit sentezinin inhibisyonu, sitoplazmik membran fonksiyonunun inhibisyonu ve enerji metabolizmasının bozulması gibi çeşitli mekanizmalar yoluyla da antimikrobiyal aktivite göstermektedirler [32].

Yapılan çalışmalar (istisnaları olmasına karşın) Gram pozitif bakterilerin bitki ekstraktlarına karşı Gram negatiflere kıyasla (hücre duvarında ek bir polisakkarit tabakanın varlığı nedeniyle) daha duyarlı olduğunu ortaya koymuştur [33, 34]. Gram negatif bakterilerde bulunan hücre duvarı bileşenlerinin yanı sıra ek bir lipopolisakkarit tabakasının varlığı, hücre duvarının etrafında bozulmamış bir plazma zarı potansiyel oluşturarak daha fazla tamponlama kapasitesine ve hidrofobikliğe sahip olmaktadır. Bu nedenle basit fenolik bileşiklerin etkisini engelleyebilir ve böylece bu bakterilerin flavonoidler ve polifenollere karşı duyarlılığını azaltabilir [28, 31]. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar bu ifadeler ile uyumludur.

Kurutma işlemi kabuklardaki su miktarının azalmasına, dolayısı ile fenolik bileşikler ve polifenollerin konsantrasyonlarının artması neden olmuştur. Bunun sonucunda da kurutulmuş kabuklardan elde edilen

ekstralar daha yüksek antibakteriyel etkilere neden olmuştur.

Dört farklı turunçgil türünün yaş yapraklarından elde edilen etanol ekstraktları içerisinde en yüksek anti bakteriyel etkiyi *Staphylococcus aureus* üzerinde 18.70 mm zon çapı ile mandalina kabuğu etanol ekstraktı göstermiştir. Bu etkiyi yine *Staphylococcus aureus* üzerinde sırasıyla 18.54 mm zon çapı ile portakal ve 18.11 mm zon çapı ile limon kabuğu etanol ekstraktları

göstermiştir (Tablo 2; $p < 0.05$). Benzer şekilde kurutulmuş turunçgil kabuklarında ise en yüksek antibakteriyel etki; 28.75 mm zon çapı ile *Staphylococcus aureus* üzerinde mandalina kabuğu etanol ekstraktı tarafından oluşturulmuştur. Bu etkiyi yine *Staphylococcus aureus* üzerinde sırasıyla 27.39 mm zon çapı ile portakal ve 26.94 mm zon çapı ile limon kabuğu etanol ekstraktları takip etmişlerdir (Tablo 2; $p < 0.05$).

Tablo 2. Turunçgil yapraklarının antimikrobiyal aktivitesi
Table 2. Antimicrobial activity of citrus leaves

Bakteri	Mandalina		Portakal	
	Taze Yaprak	Kuru Yaprak	Taze Yaprak	Kuru Yaprak
<i>Escherichia coli</i>	12.10±0.32 ^c	15.93±0.24 ^c	10.58±0.22 ^b	20.46±0.40 ^e
<i>Staphylococcus aureus</i>	18.70±0.46 ^a	28.75±0.24 ^a	18.54±0.31 ^a	27.39±0.37 ^a
<i>Salmonella Typhi</i>	10.56±0.28 ^d	13.25±0.23 ^e	9.73±0.14 ^c	20.54±0.40 ^e
<i>Enterobacter aerogenes</i>	10.93±0.24 ^d	12.63±0.11 ^f	9.53±0.11 ^b	24.33±0.29 ^d
<i>Listeria monocytogenes</i>	15.10±0.17 ^b	16.88±0.13 ^b	11.70±0.11 ^b	26.23±0.13 ^b
<i>Bacillus cereus</i>	14.46±0.25 ^b	16.08±0.18 ^c	11.03±0.13 ^b	25.46±0.21 ^c
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12.86±0.33 ^b	14.20±0.22 ^d	9.02±0.15 ^d	17.06±0.37 ^f
Bakteri	Greyfurt		Limon	
	Taze Yaprak	Kuru Yaprak	Taze Yaprak	Kuru Yaprak
<i>Escherichia coli</i>	11.16±1.34 ^c	12.29±0.76 ^d	15.25±0.31 ^c	14.34±0.28 ^c
<i>Staphylococcus aureus</i>	16.99±0.29 ^a	17.27±0.62 ^a	18.11±0.13 ^b	26.94±0.25 ^a
<i>Salmonella Typhi</i>	10.73±0.28 ^c	13.85±0.32 ^c	10.27±0.20 ^e	14.04±0.30 ^c
<i>Enterobacter aerogenes</i>	10.25±1.28 ^c	12.03±0.29 ^d	10.43±0.33 ^e	12.48±0.33 ^d
<i>Listeria monocytogenes</i>	16.65±0.54 ^a	17.83±0.42 ^a	15.33±0.28 ^c	19.39±0.37 ^b
<i>Bacillus cereus</i>	14.34±0.27 ^b	15.37±0.39 ^b	18.71±0.24 ^a	19.80±0.52 ^b
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7.81±0.35 ^d	9.50±0.53 ^e	11.34±0.16 ^d	14.31±0.19 ^c

Turunçgil kabuklarının gösterdiği etki ile kıyaslandığında daha düşük bir antibakteriyel etki göstermelerine karşın yapraklar içerisinde en yüksek anti bakteriyel etkiyi kabuklara benzer şekilde mandalina yapraklarından elde edilen etanol ekstraktları göstermiştir ($p < 0.05$). Aynı şekilde yaprak etanol ekstraktları Gram pozitif bakteriler üzerinde Gram negatiflere kıyasla daha etkili olmuşlardır. Kabuk etanol ekstraktlarında olduğu şekilde kurutma işlemi yine patojen bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkinin artmasına neden olmuştur.

Hojjati ve Barzegar [35] limon yapraklarının elde edilen etanol ekstraktları en yüksek antibakteriyel etkiyi çalışmalarında kullandıkları Gram pozitif bakterilerden *Bacillus cereus* (33.46 mm zon çapı) ve *Staphylococcus aureus* (31.52 mm zon çapı) üzerinde gösterdiklerini ifade etmişlerdir. Benzer şekilde Filip ve ark. [36] portakal yapraklarının %70 etanol ekstraktının araştırmada kullandıkları Gram negatif bakteriler üzerinde etkili olmadığını, buna karşın Gram pozitif bakteriler üzerinde etkili olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuçlar araştırma bulgularımıza paralellik göstermektedir.

Lawal ve ark. [37] mandalina yapraklarının ana bileşeninin pinokarvon, Hojjati ve Barzegar [35], Huang ve ark. [38], Waikedre ve ark. [39], ve Abdel-Gaber ve ark. [40] mandalina portakal ve limon yapraklarının ana bileşeninin linaol ve Paoli ve ark. [41] ise greyfurt yapraklarının ana bileşeninin sabinen olduğunu bildirmişlerdir.

Yapılan araştırmalar pinokarvon, linaol ve sabinen'in yüksek antibakteriyel etkisinin olduğunu ortaya koymaktadır [42-46]. Buna göre çalışmamızda turunçgil yapraklarının tespit edilen antibakteriyel etkisinin başlıca bu üç bileşenden kaynaklandığı düşünülmektedir.

MIC, mikroorganizmanın gelişmesini tamamen durduran en düşük ilaç/ esansiyel yağ/ ekstrakt konsantrasyonu olarak tanımlanmaktadır [47]. Taze ve kurutulmuş turunçgil kabuklarından elde edilen etanol ekstraktlarının yedi farklı gıda kaynaklı patojen bakteri üzerindeki MIC değerleri Tablo 3'te gösterilmiştir. Buna göre en düşük MIC değeri kuru mandalina kabuğu etanol ekstraktında 11.72 µg/mL ile *Listeria monocytogenes*, en yüksek MIC değeri ise taze mandalina kabuğu etanol ekstraktında 750 µg/mL ile *Enterobacter aerogenes* üzerinde olduğu üzerinde tespit edilmiştir ($p < 0.05$).

Chanthaphon ve ark. [48] araştırma sonuçlarımıza benzer şekilde farklı turunçgil türlerinin kabuk ekstraktlarının en düşük MIC değerinin 0.56 mg/mL değer ile *Listeria monocytogenes* üzerinde kumkat kabuğundan elde edilen ekstraktta olduğunu ifade etmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar MIC değerlerini, çalışmalarında kullandıkları Gram pozitif bakterilerde Gram negatif bakterilere kıyasla daha düşük olarak belirlediklerini bildirmişlerdir.

Taze ve kurutulmuş turunçgil yapraklarının yedi farklı patojen bakteri üzerindeki en düşük MIC değeri 5.86 µg/mL ile kurutulmuş limon yaprağı etanol ekstraktında *Bacillus cereus* üzerinde olduğu belirlenmiştir. Bu

değerin ardından en düşük MIC değerleri 8.79 µg/mL ile sırasıyla kurutulmuş mandalina ve limon yaprağı etanol ekstraktları *Salmonella Typhi* ve *Enterobacter aerogenes* üzerinde göstermişlerdir. Buna karşın en yüksek MIC değeri ise 375 µg/mL ile taze greyfurt

yaprağı etanol ekstraktında *Pseudomonas aeruginosa* üzerinde olduğu belirlenmiştir (Tablo 4; p<0.05). Ayrıca araştırmamızda kabuklara ve yapraklara uygulanan kurutma işleminin MIC değeri üzerinde düşürücü bir etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Tablo 3. Turunçgil kabuklarının minimum inhibisyon konsantrasyon (MIC) değerleri (µg/mL)

Table 3. Minimum inhibitory concentration (MIC) values of citrus peels (µg/mL)

Bakteri	Mandalina		Portakal	
	Taze Kabuk	Kuru Kabuk	Taze Kabuk	Taze Kabuk
<i>Escherichia coli</i>	140.63±66.29 ^{bc}	140.63±66.29 ^{ab}	35.16±16.57 ^{ab}	29.30±24.86 ^{ab}
<i>Staphylococcus aureus</i>	70.32±33.14 ^c	140.63±66.29 ^{ab}	17.58±8.29 ^{ab}	35.16±16.57 ^{ab}
<i>Salmonella Typhi</i>	117.19±99.43 ^{bc}	35.16±16.57 ^b	29.30±24.86 ^{ab}	17.58±8.29 ^b
<i>Enterobacter aerogenes</i>	750.00±0.00 ^a	281.25±132.58 ^a	35.16±16.57 ^{ab}	46.88±0.00 ^{ab}
<i>Listeria monocytogenes</i>	281.25±132.58 ^b	11.72±0.00 ^c	17.58±8.29 ^{ab}	17.58±8.29 ^b
<i>Bacillus cereus</i>	140.63±66.29 ^{bc}	35.16±16.57 ^b	117.19±99.43 ^a	70.32±33.14 ^a
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	187.5±0.00 ^{bc}	29.30±24.86 ^b	35.16±16.57 ^{ab}	35.16±16.57 ^{ab}
Bakteri	Greyfurt		Limon	
	Taze Kabuk	Kuru Kabuk	Taze Kabuk	Kuru Kabuk
<i>Escherichia coli</i>	140.63±66.29 ^b	70.32±33.14 ^b	35.16±16.57 ^{ab}	58.60±49.72 ^b
<i>Staphylococcus aureus</i>	35.12±16.52 ^c	35.16±16.57 ^b	17.58±8.29 ^b	23.44±0.00 ^b
<i>Salmonella Typhi</i>	140.63±66.29 ^b	70.32±33.14 ^b	35.16±16.57 ^{ab}	117.19±99.43 ^{ab}
<i>Enterobacter aerogenes</i>	187.50±0.00 ^b	35.16±16.57 ^b	46.88±0.00 ^{ab}	187.50±0.00 ^a
<i>Listeria monocytogenes</i>	35.16±16.57 ^c	17.58±8.29 ^b	23.44±0.00 ^{ab}	17.58±8.29 ^b
<i>Bacillus cereus</i>	187.50±0.00 ^b	70.32±33.14 ^b	70.32±33.14 ^a	93.75±0.00 ^{ab}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	375.00±0.00 ^a	187.50±0.00 ^a	35.16±16.57 ^{ab}	35.16±16.57 ^b

Tablo 4. Turunçgil yapraklarının minimum inhibisyon konsantrasyon (MIC) değerleri (µg/mL)

Table 4. Minimum inhibitory concentration (MIC) values (µg/mL) of citrus leaves

Bakteri	Mandalina		Portakal	
	Taze Yaprak	Kuru Yaprak	Taze Yaprak	Kuru Yaprak
<i>Escherichia coli</i>	70.31±33.15 ^a	23.44±0.00 ^a	93.75±0.00 ^c	17.58±8.29 ^a
<i>Staphylococcus aureus</i>	140.63±66.29 ^a	58.60±49.72 ^a	70.31±33.15 ^c	14.65±12.43 ^a
<i>Salmonella Typhi</i>	35.16±16.57 ^a	8.79±4.15 ^a	140.63±66.29 ^{bc}	21.48±13.81 ^a
<i>Enterobacter aerogenes</i>	140.63±66.29 ^a	17.58±8.29 ^a	117.19±99.44 ^{bc}	35.15±16.57 ^a
<i>Listeria monocytogenes</i>	117.19±99.44 ^a	70.31±33.15 ^a	281.25±132.58 ^{ab}	93.75±0.00 ^a
<i>Bacillus cereus</i>	234.38±198.87 ^a	117.19±99.44 ^a	375.00±0.00 ^a	140.63±66.29 ^a
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	93.75±0.00 ^a	58.59±49.72 ^a	140.63±66.29 ^{bc}	93.75±0.00 ^a
Bakteri	Greyfurt		Limon	
	Taze Yaprak	Kuru Yaprak	Taze Yaprak	Kuru Yaprak
<i>Escherichia coli</i>	70.31±33.15 ^b	35.16±16.58 ^b	58.59±49.72 ^a	11.72±0.00 ^a
<i>Staphylococcus aureus</i>	35.12±16.52 ^b	23.44±0.00 ^b	93.75±0.00 ^a	35.16±16.57 ^a
<i>Salmonella Typhi</i>	93.75±0.00 ^b	70.31±33.14 ^b	35.16±16.57 ^a	17.58±8.29 ^a
<i>Enterobacter aerogenes</i>	140.63±66.29 ^b	35.16±16.57 ^b	23.44±0.00 ^a	8.79±4.14 ^a
<i>Listeria monocytogenes</i>	35.16±16.57 ^b	17.58±8.29 ^b	140.63±66.29 ^a	46.88±0.00 ^a
<i>Bacillus cereus</i>	140.63±66.29 ^b	93.75±0.00 ^b	17.58±8.29 ^a	5.86±0.00 ^a
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	375.00±0.00 ^a	281.25±132.58 ^a	117.19±99.43 ^a	35.16±16.57 ^a

Swarnamoni ve ark. [49] Pomelo (*Citrus maxima*) yapraklarının etanol ekstraktlarının en düşük MIC değerinin 0.312 mg/mL ile araştırmada kullandığı bakterilerden *Pseudomonas aeruginosa* üzerinde olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacıları elde ettikleri veriler araştırma bulgularımıza paralellik göstermektedir.

MBC değeri (mg/L veya µg/mL) incelenen bakterinin %99.9'unu öldüren en düşük ilaç/ esansiyel yağ/ ekstrakt konsantrasyonu olarak tanımlanmaktadır [46]. Taze ve kurutulmuş turunçgil kabuklarından elde edilen etanol ekstraktlarının gıda kaynaklı yedi farklı patojen bakteri üzerindeki MBC değerleri Tablo 5'de gösterilmiştir. Buna göre en düşük MBC değeri 3.90 µg/mL ile *Listeria monocytogenes* üzerinde, kurutulmuş

mandalina ve limon kabukları etanol ekstraktlarında olduğu, buna karşın en yüksek MBC değeri ise taze mandalina kabuğu etanol ekstraktında 187.5 µg/mL ile *Enterobacter aerogenes* üzerinde olduğu üzerinde tespit edilmiştir (Tablo 5; p<0.05).

Chanthaphon ve ark. [48] araştırmalarında sonuçlarımıza paralel şekilde Gram pozitif bakterilerin MBC değerlerinin Gram negatif bakterilerden daha düşük olduğunu belirterek, en düşük MBC değerinin 1.13 mg/mL ile *Listeria monocytogenes* üzerinde olduğunu bunu 2.25 mg/mL ile *Bacillus cereus*'un takip ettiğini bildirmişlerdir.

Taze ve kurutulmuş turunçgil yapraklarının araştırmamızda kullandığımız patojen bakteriler üzerindeki en düşük MBC değeri; 3.90 µg/mL ile kurutulmuş mandalina yaprağı etanol ekstraktında *Listeria monocytogenes* üzerinde olduğu belirlenmiştir.

Bu değerinden en düşük MBC değeri 5.86 µg/mL ile kurutulmuş portakal yaprağı etanol ekstraktında *Staphylococcus aureus* üzerinde tespit olduğu edilmiştir. En yüksek MBC değeri ise; 250 µg/mL ile taze greyfurt yaprağı etanol ekstraktında *Pseudomonas aeruginosa* üzerinde olduğu belirlenmiştir (Tablo 6; p<0.05).

Tablo 5. Turunçgil kabuklarının minimum bakterisidal konsantrasyon (MBC) değerleri (µg/mL)

Table 5. Minimum bactericidal concentration (MBC) values (µg/mL) of citrus peels

Bakteri	Mandalina		Portakal	
	Taze Kabuk	Kuru Kabuk	Taze Kabuk	Taze Kabuk
<i>Escherichia coli</i>	46.88±22.10 ^b	46.88±22.10 ^a	11.72±5.54 ^{ab}	11.72±5.54 ^{bc}
<i>Staphylococcus aureus</i>	31.25±0.00 ^b	62.50±0.00 ^a	7.80±0.00 ^b	7.80±0.00 ^c
<i>Salmonella Typhi</i>	23.44±11.05 ^b	15.63±0.00 ^b	11.72±5.54 ^{ab}	15.63±0.00 ^{bc}
<i>Enterobacter aerogenes</i>	187.5±88.39 ^a	62.50±0.00 ^a	15.63±0.00 ^{ab}	11.72±5.54 ^{bc}
<i>Listeria monocytogenes</i>	93.75±44.19 ^{ab}	3.90±0.00 ^b	7.80±0.00 ^b	7.80±0.00 ^c
<i>Bacillus cereus</i>	31.25±0.00 ^b	11.72±5.54 ^b	15.63±0.00 ^{ab}	23.44±11.05 ^{ab}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	93.75±44.19 ^{ab}	11.72±5.54 ^b	23.44±11.05 ^a	31.25±0.00 ^a
Bakteri	Greyfurt		Limon	
	Taze Kabuk	Kuru Kabuk	Taze Kabuk	Kuru Kabuk
<i>Escherichia coli</i>	46.88±22.10 ^{bc}	31.25±0.00 ^b	15.63±0.00 ^b	11.72±5.54 ^b
<i>Staphylococcus aureus</i>	11.72±5.54 ^c	7.80±0.00 ^b	11.72±5.54 ^b	7.80±0.00 ^b
<i>Salmonella Typhi</i>	62.50±0.00 ^{bc}	46.88±22.10 ^b	15.63±0.00 ^b	19.53±16.58 ^b
<i>Enterobacter aerogenes</i>	46.88±22.10 ^{bc}	23.44±11.05 ^b	23.44±11.05 ^b	23.44±11.05 ^b
<i>Listeria monocytogenes</i>	15.63±0.00 ^c	7.80±0.00 ^b	7.80±0.00 ^b	3.90±0.00 ^a
<i>Bacillus cereus</i>	93.75±44.19 ^{ab}	31.25±0.00 ^b	46.88±22.10 ^a	23.44±11.05 ^b
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	125±0.00 ^a	93.75±44.19 ^a	11.72±5.54	19.53±16.58 ^b

Tablo 6. Turunçgil yapraklarının minimum bakterisidal konsantrasyon (MBC) değerleri (µg/mL)

Table 6. Minimum bactericidal concentration (MBC) values (µg/mL) of citrus leaves

Bakteri	Mandalina		Portakal	
	Taze Yaprak	Kuru Yaprak	Taze Yaprak	Kuru Yaprak
<i>Escherichia coli</i>	46.88±22.10 ^{ab}	11.72±5.52 ^a	62.50±0.00 ^a	11.72±5.54 ^{ab}
<i>Staphylococcus aureus</i>	93.75±44.19 ^{ab}	19.53±16.57 ^a	46.88±22.10 ^a	5.86±2.76 ^b
<i>Salmonella Typhi</i>	23.44±11.05 ^b	7.81±2.76 ^a	125.00±0.00 ^a	15.63±0.00 ^{ab}
<i>Enterobacter aerogenes</i>	125±0.00 ^{ab}	7.81±0.00 ^a	62.50±0.00 ^a	23.44±11.05 ^{ab}
<i>Listeria monocytogenes</i>	93.75±44.19 ^{ab}	3.90±0.00 ^a	125.00±0.00 ^a	62.5±0.00 ^{ab}
<i>Bacillus cereus</i>	187.5±88.39 ^a	62.50±0.00 ^a	187.50±88.39 ^a	125.00±0.00 ^a
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	62.5±0.00 ^{ab}	23.44±11.05 ^a	93.75±44.19 ^a	46.88±22.10 ^{ab}
Bakteri	Greyfurt		Limon	
	Taze Yaprak	Kuru Yaprak	Taze Yaprak	Kuru Yaprak
<i>Escherichia coli</i>	46.88±22.10 ^{ab}	23.44±11.05 ^b	31.25±5.54 ^a	7.81±0.00 ^a
<i>Staphylococcus aureus</i>	23.44±11.05 ^b	9.77±8.28 ^b	39.06±0.00 ^a	23.44±11.25 ^a
<i>Salmonella Typhi</i>	62.50±0.00 ^{ab}	46.88±22.10 ^b	31.25±16.58 ^a	11.71±5.53 ^a
<i>Enterobacter aerogenes</i>	93.75±44.19 ^{ab}	31.25±0.00 ^b	15.62±11.05 ^a	7.81±0.00 ^a
<i>Listeria monocytogenes</i>	23.44±11.05 ^b	11.71±5.53 ^b	93.72±0.00 ^a	31.25±0.00 ^a
<i>Bacillus cereus</i>	125.00±0.00 ^{ab}	62.50±0.00 ^{ab}	15.62±11.05 ^a	23.44±11.25 ^a
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	250.00±0.00 ^a	187.50±88.39 ^a	93.75±5.54 ^a	19.53±16.58 ^a

Ayrıca araştırmamızda kabuklara ve yapraklara uygulanan kurutma işleminin MIC değerlerine benzer şekilde MBC değeri üzerinde de düşürücü bir etki gösterdiği ortaya konulmuştur. Swarnamoni ve ark. [49] Pomelo (*Citrus maxima*) yapraklarının etanol ekstraktlarının en düşük MBC değerlerini 1.25 mg/mL ile *Pseudomonas aeruginosa* üzerinde olduğunu belirtmişlerdir.

SONUÇ

Bu araştırma dört farklı turunçgil meyvesinin taze ve kurutulmuş kabuk ve yapraklarından elde edilen etanol ekstraktlarının gıda kaynaklı yedi farklı bakteri

üzerindeki antibakteriyel etkilerini ortaya koymuştur. Çalışmada kullanılan turunçgil kabukları içerisinde en yüksek anti bakteriyel etkiyi mandalina kabuklarından elde edilen etanol ekstraktları göstermiştir. En düşük MIC ve MBC değerleri kuru mandalina kabuğu etanol ekstraktında *Listeria monocytogenes* üzerinde olduğu belirlenmiştir.

Son yıllarda bitkilerden elde edilen doğal bileşiklere karşı oluşan ilgi tıp, gıda ve eczacılık alanlarında hızla yayılmaktadır. Elde edilen bileşiklerin ortaya koymuş olduğu antibakteriyel etki bu bileşiklerin gıda, tıp, eczacılık, ziraat ve veteriner alanlarında kullanılabileceğini ortaya koymaktadır. Ayrıca özellikle

son yıllarda bakterilerin antibiyotiklere karşı göstermiş olduğu direncin kırılmasında bu bileşiklerin alternatif olarak kullanım imkanları olduğu görülmektedir. Şüphesiz ki bahsedilen etkilerin sağlanabilmesi adına konu hakkında daha kapsamlı çalışmalar yapılması, etken bileşenlerin insan ve hayvan sağlığı ile gıdalar üzerindeki etkilerinin ortaya konulması gerekmektedir. Bu amaçla araştırmaların ileride yapılacak olan benzer çalışmalara kaynak olacağı ümit edilmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Yılmaz, E. (2000). Turunçgil meyvelerinin insan sağlığına etkileri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 47-52.
- [2] Uysal, O., Polatöz, S. (2017). Dünyada ve Türkiye'de turunçgil üretimi ve dış ticareti. *Türkiye Tohumcular Birliği Dergisi*, 6-11.
- [3] Saraçoğlu, T. (2017). Bazı turunçgil türlerinin seçilmiş fiziksel ve hidrodinamik özellikleri. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 206-215.
- [4] Tağa, Ö. (2007). Ege ve Akdeniz Bölgelerinde Yetişen Turunçgil Ürünlerindeki Pestisit Kalıntı Düzeylerinin Belirlenmesi. Yüksek lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- [5] Turhan, İ., Tetik, N., Karhan, M. (2006). Turunçgil kabuk yağlarının elde edilmesi ve gıda endüstrisinde kullanımı. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 3, 71-77.
- [6] Güzel, M., Akpınar, Ö. (2017). Turunçgil kabuklarının biyoaktif bileşenleri ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7, 153-167.
- [7] Gülşen, O., Uzun, A. (2011). Turunçgil Araştırmalarında Biyoteknoloji çalışmaları. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 26, 68-76.
- [8] Cin, P., Gezer, C. (2017). Fonksiyonel bir besin olarak turunçgiller ve metabolik sendrom ilişkisi. *Gıda ve Sağlık Bilimleri Dergisi*, 3(2), 49-58.
- [9] Akarca, G., Tomar, O., Güney, İ., Erdur, S., Gök, V. (2019). Determination of sensitivity of some food pathogens to spice extract. *Journal of Food Science and Technology*, 56(12), 5253-5261.
- [10] Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C., Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 36, 493-496.
- [11] Akarca, G. (2019). Composition and antibacterial effect on food borne pathogens of *Hibiscus sarrattensis* L. calyces essential oil. *Industrial Crops and Products*, 137, 285-289.
- [12] Tomar, O., Akarca, G. (2020). The Antibacterial effects of çiriş (*Asphodelus aestivus* Brot.) on some foodborne pathogenic bacteria. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 18, 11-15.
- [13] Cruz-Gálvez, A.M., Castro-Rosas, J., Rodríguez-Marín, M.L., Cadena-Ramírez, A., Tellez-Jurado, A., Tovar-Jiménez, X., Chavez-Urbiola, E., Abreu-Corona, A., Gómez-Aldapa, C.A. (2018). Antimicrobial activity and physicochemical characterization of a potato starch-based film containing acetic and methanolic extracts of *Hibiscus sabdariffa* for use in sausage. *LWT Food Science and Technology*, 93: 300-305.
- [14] EUCAST, (2018). European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_8.0_Breakpoint_Tables.pdf
- [15] Şahin, E. (2006). Bitkisel kaynaklı antimikrobiallerin gıda kaynaklı bazı patojen mikroorganizmalar üzerinde etkileri. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [16] By Aamer, A.A., Abdul-Hafeez, M.M., Sayed, S.M. (2015). Minimum inhibitory and bactericidal concentrations (MIC & MBC) of honey and bee propolis against multidrug resistant (mdr) *staphylococcus* spp. isolated from bovine clinical mastitis. *GJSFR D Agriculture Veterinary* 15(2), Version 1.0.
- [17] Chikezie, I.O. (2017). Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) using a novel dilution tube method. *Africa Journal of Microbiology Research*, 11(23), 977-980.
- [18] Sümerkan, B., Gökahmetoğlu, S. (1998). MIC ve MBC Testleri, rutindeki önemi ve uygulamaları. *Flora Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi*, 3(2), 91-95.
- [19] Bauer, A.W., Perry, D.M., Kirby, W.M.M. (1959). Single disc antibiotic sensitivity testing of Staphylococci. *Archive of International Medicine*, 104, 208-216.
- [20] Dhiman, A., Nanda, A., Ahmad, S., Narasimhan, B. (2011). In vitro antimicrobial activity of methanolic leaf extract of *Psidium guajava* L. *Journal of Pharmacy and Bioallied Science*, 3(2), 226-229.
- [21] Anonymous, (2015). SPSS Version 23 for Windows SPSS Inc. Chicago IL, USA.
- [22] Kirbaslar, S., Boz, I., Kirbaslar, F.G. (2006). Composition of Turkish lemon and grapefruit peel oils. *Journal of Essential Oil Research*, 18(5): 525-543.
- [23] Kirbaslar, F.G., Tavman, A., Dülger, B., Türker, G. (2009). Antimicrobial activity of Turkish citrus peel oils. *Pakistan Journal of Botany*, 41(6): 3207-3212.
- [24] Hosni, K., Zahed, N., Chrif, R., Abid, I., Medfei, W., Kallel, M., Sebei, H. (2010). Composition of peel essential oils from four selected Tunisian Citrus species: Evidence for the genotypic influence. *Food Chemistry*, 123(4): 1098-1104.
- [25] Espina, L., Somolinos, M., Lorán, S., Conchello, P., García, D., Pagán, R. (2011). Chemical composition of commercial citrus fruit essential oils and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined. *Food Control*, 22(6): 896-902.
- [26] Ozogul, Y., Ozogul, F., Kulawik, P. (2021). The antimicrobial effect of grapefruit peel essential oil and its nanoemulsion on fish spoilage bacteria and food-borne pathogens. *LWT- Food Science and Technology*, 136, 110362.
- [27] Haiyan, L., Chongxin, X., Xiao, Z., Ying, L., Xianjin, L. (2016). Antibacterial effect of limonene on food-

- borne pathogen. *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Science)*, 42(3), 306-312.
- [28] Yashaswini, P., Arvind. (2018). Antimicrobial properties of orange (*Citrus reticulata* var. *kinnow*) peel extracts against pathogenic bacteria. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(3), 737-746.
- [29] Dorman, H.J.D., Deans, S.G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88(2), 308-316.
- [30] Mandalari, G., Bennett, R.N., Bisignano, G., Trombetta, D., Saija, A., Faulds, C.B., Narbad, A. (2007). Antimicrobial activity of flavonoids extracted from bergamot (*Citrus bergamia* Risso) peel, a byproduct of the essential oil industry. *Journal of Applied Microbiology*, 103(6), 2056-2064.
- [31] Du, W.X., Olsen, C.W., Avena-Bustillos, R.J., Friedman, M., McHugh, T.H. (2011). Physical and antibacterial properties of edible films formulated with apple skin polyphenols. *Journal of Food Science*, 76(2), 149-155.
- [32] Cushnie, T.P., Lamb, A.J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26, 343-356.
- [33] Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223-253.
- [34] Kalemba, D.A.A.K., Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current medicinal chemistry*, 10(10), 813-829.
- [35] Hojiati, M., Barzegar, H. (2017). Chemical composition and biological activities of lemon (*Citrus limon*) leaf essential oil. *Nutrition and Food Sciences Research*, 4(4), 15-24.
- [36] Filip, S., Durovic, S., Blagojevic, S., Tomic, A., Ratinovic, A., Gasic, U., Tesic, Z., Zekovi, Z. (2021). Chemical composition and antimicrobial activity of Osage orange (*Maclura pomifera*) leaf extracts. *Archiv der Pharmazie*, 354: e2000195 1-9.
- [37] Lawal, O.A., Ogunwande, I.A., Owolabi, M.S., Giva, A.O., Kasali, A.A., Abudu, F.A., Sanni, A.A., Opoku, A.R. (2014). Comparative analysis of essential oils of *Citrus aurantifolia* Swingle and *Citrus reticulata* Blanco, from two different localities of Lagos State, Nigeria. *American Journal of Essential Oils and Natural Products*, 2(2), 08-12.
- [38] Huang, Y., Pu, Z., Chen, Q. (2000). The chemical composition of the leaf essential oils from 110 citrus species, cultivars, hybrids and varieties of Chinese origin. *Perfumer and Flavorist*, 25(1), 53-66.
- [39] Waikedre, J., Dugay, A., Barrachina, I., Herrenknecht, C., Cabalion, P., Fournet, A. (2010). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from new Caledonian *Citrus macroptera* and *Citrus hystrix*. *Chemistry and Biodiversity*, 7(4), 871-877.
- [40] Abdel-Gaber, A.M., Hijazi, K.M., Younes, G.O., Nsouli, B. (2017). Comparative study of the inhibitive action between the bitter orange leaf extract and its chemical constituent linalool on the mild steel corrosion in HCl solution. *Quim Nova*, 40(4), 395-401.
- [41] Paoli, M., de Rocca Serraa, D., Tomia, F., Lurob, F., Bighellia, A. (2016). Chemical composition of the leaf essential oil of grapefruits (*Citrus paradisi* Macf.) in relation with the genetic origin. *Journal of Essential Oil Research*, 28(4), 265-271.
- [42] Nwaogu, L.A., Alisi, C.S., Ibegbulem, C.O., Igwe, C.U. (2007). Phytochemical and antimicrobial activity of ethanolic extract of *Landolphia owariensis* leaf. *African Journal of Biotechnology*, 6(7), 890-893.
- [43] Park, S.N., Lim, Y.K., Freire, M.O., Cho, E., Jin, D., Kook, J.K. (2012). Antimicrobial effect of linalool and α -terpineol against periodontopathic and cariogenic bacteria. *Anaerobe*, 18(3), 369-372.
- [44] Ouedrhiri, W., Balouiri, M., Bouhdid, S., Mja, S., Chahdi, F.O., Taleb, M., Greche, H. (2016). Mixture design of *Origanum compactum*, *Origanum majorana* and *Thymus serpyllum* essential oils: Optimization of their antibacterial effect. *Industrial Crops and Products*, 89, 1-9.
- [45] Ben Salah, H., Bouaziz, H., Allouche, N. (2019). Chemical composition of essential oil from *Rhanterium suaveolens* Desf. and its antimicrobial activity against foodborne spoilage pathogens and mycotoxigenic fungi. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 22(3), 592-603.
- [46] Liu, X., Cai, J., Chen, H., Zhong, Q., Hou, Y., Chen, W., Chen, W. (2020). Antibacterial activity and mechanism of linalool against *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbial Pathogenesis*, 141, 103980.
- [47] Shetty, S.B., Mahin-Syed-Ismail, P., Varghese, S., Thomas-George, B., Kandathil-Thajuraj, P., Baby, D., Haleem, S., Sreedhar, S., Devang-Divakar, D. (2015). Antimicrobial effects of *Citrus sinensis* peel extracts against dental caries bacteria: An in vitro study. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 8(1), 71-77.
- [48] Chanthaphon, S., Chanthachum, S., Hongpattarakere, T. (2008). Antimicrobial activities of essential oils and crude extracts from tropical *Citrus* spp. against food-related microorganisms. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 30(1), 125-131.
- [49] Swarnamoni, D., Bora, M., Ahmed, S. (2013). Antibacterial activity of the ethanolic extract of leaves of *Citrus maxima* (burm.) Merr. on *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 6(4), 136-139.