

TURUNÇ (*Citrus aurantium*, L.) YAPRAK ve MEYVE KABUĞU UÇUCU YAĞLARININ KİMYASAL BİLEŞENLERİ, ANTİOKSİDAN VE ANTİBAKTERİYEL ETKİNLİKLERİ

Selin SEZEN¹, Selmin ÖZER^{2*}, Fırat ÇINAR³

¹ Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD., Mersin, Türkiye

² Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik Bölümü, Hastalık ABD., Mersin, Türkiye

³ Mersin Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Bölümü Mühendisliği Bölümü, Gıda Bilimleri ABD., Mersin, Türkiye

* e-mail: selmind@mersin.edu.tr

ÖZET

Bu araştırma turunç (*Citrus aurantium*) meyve kabuğu ve yaprak uçucu yağlarının biyo-yararlılığının belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür. Bu amaçlarla Şubat-Nisan 2020'de turunç ağaçlarının meyveleri ve yaprakları toplanarak hidrodistilasyon yöntemiyle uçucu yağları elde edilmiştir. Uçucu yağların bileşenleri GC-MS (Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi) ve antioksidan aktiviteleri DPPH (2,2-difenil-2-pikrilhidrazil) metotlarına göre yapılmıştır. Antimikrobiyal duyarlılıkları ise antibiyogram (disk difüzyon yöntemi), minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) (mikrodilüsyon yöntemi) ve minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) testleri uygulanarak saptanmıştır. Antibakteriyel aktivite testleri iki Gram-negatif basil (*Escherichia coli* ve *Yersinia ruckeri*) ve Gram-pozitif kok (*Enterococcus faecalis* ve *Staphylococcus aureus*) üzerine uçucu yağ örneklerinin dört farklı dilüsyonu (%0,1, %1, %5 ve %10) uygulanarak gerçekleştirilmiştir.

Araştırma bulgularına göre, toplam meyve miktarının %49,5'ini kabuk teşkil ederken, meyve kabukları ve yapraklardan %1,1 oranlarında çucu yağ elde edilmiştir. GC-MS analizi ile belirlenen 18 uçucu yağ bileşeninden limonen kabuk uçucu yağında (%93,55) ve linalool oksit (%49,01) ve linalil asetat (%20,84) da yaprak uçucu yağında en yüksek oranda tespit edilmiştir. Antioksidan aktivite yaprak uçucu yağında %30,54, kabuk uçucu yağında ise %18,32 oranında bulunmuştur. Antibakteriyel aktivite ölçümlerine göre yaprak uçucu yağının %10'luk seyreltisinin Gram negatif bakteriler üzerinde en yüksek inhibisyon etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Antibiyogram zon çapları, MİK ve MBK değerleri *E. coli* için sırasıyla 25 mm, 2 µL/mL, 2 µL/mL; *Y. ruckeri* için de 20 mm, 8

$\mu\text{L}/\text{mL}$, $8 \mu\text{L}/\text{mL}$ olarak saptanmıştır. Bu araştırma ile bölgemizde yetişen turuncun da diğer turunçgiller gibi biyoyararlı bileşenlerinin olduğu ortaya konulmuştur.

ANAHTAR KELİMELEER: Turunç, *Citrus aurantium*, hidrodistilasyon, uçucu yağ, antioksidan aktivite, antibakteriyel aktivite, bakteri

CHEMICAL COMPONENTS, ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF BITTER ORANGE (*Citrus aurantium*, L.) LEAF AND PEEL ESSENTIAL OILS

ABSTRACT

This research was carried out to determine the bioavailability of bitter orange (*Citrus aurantium*) peel and leaf essential oils. For these purpose, the fruits and leaves of bitter orange trees were collected in February-April 2020, and their essential oils were extracted by hydrodistillation method. The components of essential oils were determined according to GC-MS (Gas chromatography-mass spectrometry) and antioxidant activities according to DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) methods. Antimicrobial susceptibility was determined by using antibiogram (disk diffusion method), minimum inhibition concentration (MIC) (microdilution method) and minimum bactericidal concentration (MBC) tests. Antibacterial activity tests were performed by applying four different dilutions (0.1%, 1%, 5% and 10%) of essential oil samples on two Gram-negative bacilli (*Escherichia coli* and *Yersinia ruckeri*) and Gram-positive cocci (*Enterococcus faecalis* and *Staphylococcus aureus*).

According to the research findings, while 49.5% of the total fruit amount was the peel, essential oil was obtained from the fruit peels and leaves in the ratio of 1.1%. Among the 18 essential oil components determined by GC-MS analysis, limonene was the highest in the peel essential oil (93.55%) and linalool oxide (49.01%) and linalyl acetate (20.84%) in the leave essential oil. Antioxidant activity was found to be 30.54% in leave essential oil and 18.32% in peel essential oil. According to the antibacterial activity measurements, it was determined that 10% dilution of the leaf essential oil had the highest inhibition effect on Gram-negative bacteria. Antibiogram zone diameters, MIC and MBK values were 25 mm, 2 $\mu\text{L}/\text{mL}$, 2 $\mu\text{L}/\text{mL}$ for *E. coli*, and 20 mm, 8 $\mu\text{L}/\text{mL}$, 8 $\mu\text{L}/\text{mL}$ for *Y. ruckeri*, respectively. With this research, it has been revealed that the bitter orange grown in our region has bio-beneficial components like other citrus fruits.

KEY WORDS: Bitter orange, *Citrus aurantium*, hydrodistillation, essential oil component, antioxidant activity, antibacterial activity, bacteria.

How to cite this article: Sezen, S., Ozer, S., Cinar, F., (2021). Turunç (*Citrus Aurantium*, L.) Yaprak ve Meyve Kabuğu Uçucu Yağlarının Kimyasal Bileşenleri, Antioksidan Ve Antibakteriyel Etkinlikleri, *MedFAR*, 4 (3):58-73.

1. GİRİŞ

İnsan, hayvan ve bitki sağlığını koruyucu ve tedavi edici birçok kimyasalın yaygın ve bilinçsiz kullanımı tüm canlılar için tehdit oluşturmaya başlamıştır. Bu sorunlara çözüm arayışları bilimsel çalışmaları doğal hayvansal ve bitkisel ürünlere yöneltmiştir. Geleneksel olarak kullanılan tıbbi bitkilerin içerdikleri birçok sekonder metabolit sayesinde antioksidan, antibakteriyel, antifungal, antiviral, antiparaziter, antienflamatuar, antikarsinojen, antimitojen, antialerjik, antispazmotik, antiemetik gibi etkilere sahip olduğu birçok araştırma ile kanıtlanmıştır (Baysal, 2005, Gölükçü vd., 2015, Bendaha vd., 2016, Adenaike ve Abakp, 2021). Turunçgiller de çokça araştırılan bitkiler arasında yer almaktadır. Ülkemiz turunçgil üretiminde dünyada ilk on ülke arasında yer almaktadır (TOB, 2020). Rutaceae familyasının Citrus cinsine bağlı olan turunçgillerin en çok üretimi yapılan türleri arasında portakal (*C. sinensis*), limon (*C. limon*), misket (*C. aurantifolia*), mandarin (*C. reticulata*), pummelo (*C. maxima*), altıntop (*C. paradisi*) ve turunç (*C. aurantium*) yer almaktadır. Turunçgiller iyi bir C vitamini kaynağı olarak bilinmeleri yanında, birçok yararlı etkileri olan diğer vitaminler, karetonoid, alkaloid, flavanoid ve terpenler gibi yapı taşları yönünden zengindirler (Yılmaz, 2002, Karoui ve Marzouk, 2013, Gölükçü vd., 2015, Haraoui vd., 2020, Adenaike ve Abakp, 2021). Bu fitokimyasalların atık olarak nitelendirilen narenciye kabukları ve yapraklarından elde edilen uçucu yağlarda yüksek oranda

bulduğu bildirilmiştir (Güzel ve Akpınar, 2017, Chavan vd., 2018, Mahato vd., 2018). Turunçgillerin atası olarak bilinen turunç (*C. aurantium*) da fito-bileşenleri ve sağlığı destekleyici nitelikleriyle oldukça değerli bir bitki türüdür.

Araştırmalar turunç meyve kabukları ve yaprak uçucu yağlarının kimyasal ana bileşenlerinin narenciyelere acılığı veren limonen (Hosni vd, 2010, Bourgou vd.,2012, Karoui ve Marzouk, 2013, Sarrou vd., 2013, Gölükçü vd., 2015, Azhadarzadeh ve Hojjati, 2016, Bendaha vd., 2016, Farahmandfar vd., 2020) ve linalool (Ellouze vd., 2012, Sarrou vd., 2013, Ouedrhiri vd., 2015, Azhadarzadeh ve Hojjati, 2016) olduğunu göstermiştir. Yapılan birçok çalışmada turunç uçucu yağlarının antibakteriyel (Kırbaşlar vd., 2009, Soković vd., 2010, Bourgou vd. 2011, Frassinetti vd., 2011, Sarrou vd., 2013) ve antioksidan (Karoui ve Marzouk, 2013, Sarrou vd., 2013, Ouedrhiri vd., 2015, Bendaha vd., 2016, Pratama vd., 2018, Haraoui vd., 2020) etki gösterdikleri ortaya konulmuştur.

Bu araştırma ile Akdeniz Bölgesinde yaygın olarak bulunmasına rağmen sanayide değerlendirilmeyen, daha çok halk tarafından tüketilen turunç ağaçlarının yaprak ve meyve kabuğundan hidrodistilasyon yöntemiyle elde edilen uçucu yağların bileşenleri, antioksidan ve antibakteriyel aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. Materials and Methods

2.1. Materyal

2.1.1. Turunç (*Citrus aurantium*) örnekleri

Turunç meyvesi ve yaprakları Şubat-Nisan 2020 aylarında Mersin Üniversitesi Yenişehir Yerleşkesi ve Mezitli ilçesi parklarından toplanmış, aynı gün içinde Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi araştırma laboratuvarında işleme alınmıştır. Toplamda 41,346 kg meyve ve 4,950 kg yaprak temin edilmiştir. Meyvelerden 16,573 kg meyve

suyu (%40), 20,463 kg meyve kabuğu (%49,5) elde edilmiştir.

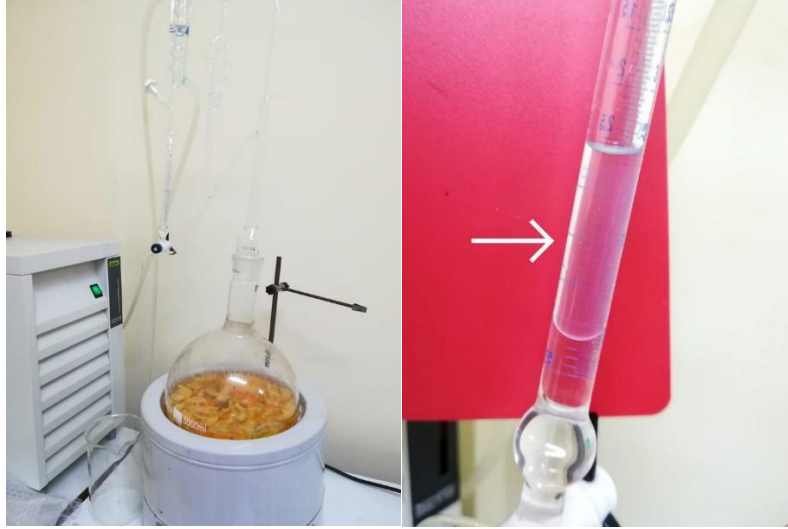
2.2. Yöntem

2.2.1. Turunç kabuk ve yapraklarından hidrodistilasyon ile uçucu yağların elde edilmesi

Laboratuvara getirilen meyveler ve yapraklar yıkanıp taze olarak işleme alınmıştır. Turunç meyvesi elektrikli meyve suyu sıkacağında (Moulinex Genius 2000) sıkılarak kabuklar jülyen

dilimlere ayrılmış, yapraklar bütün olarak kullanılmıştır. Ekstraksiyon işlemleri Abdelatif (2004)'in uyguladığı yöntemler esas alınarak bazı modifikasyonlarla Clevenger düzeneğinde yürütülmüştür (Şekil 1). Örneklere 1:4-5 (w/v)

oranında distile su eklenmiş, 3 saat kaynatılarak kabuk uçucu yağı (KUY) ve yaprak uçucu yağı (YUY) elde edilmiştir. Uçucu yağlar analizler yapıncaya kadar steril Falkon tüplerinde -20°C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 1. Sol: Clevenger düzeneği Sağ: Clevenger düzeneğinde uçucu yağ (Beyaz ok)

2.2.2. Turunç uçucu yağ bileşenlerinin GC-MS ile analizi

Uçucu yağ örneklerinin GC-MS analizi silika kaplı apolar HP-5MS kapiler kolon (30 m x 0,25 mm iç çap, 0,25 µm film kalınlığı) kullanılarak Agilent marka 7890A model GC cihazında gerçekleştirilmiştir. Analizlerde taşıyıcı gaz olarak helyum kullanılmıştır (akış hızı 1,9 mL/dk). Fırın sıcaklık programı ilk olarak 50°C'de 2 dk bekleme; daha sonra 10°C/dk artışlarla 150°C'de ve 250°C'de 2'şer dk bekleme, ardından yine 10°C/dk artışla 300°C'de 3 dk bekleme olarak ayarlanmıştır. Enjeksiyon hacmi 3 µL ve enjeksiyon giriş sıcaklığı 250°C olup ayırma oranı da 1/50'dir. Meyve suyu ise heksan ile 1:50 (v/v) oranında muamele edilerek işleme alınmıştır.

Sistemde Agilent marka MSD 5975 model kütle detektörü kullanılmıştır. İyonlaşma enerjisi 70 eV ayarlanmış ve kütle spektrum taraması 50-550 amu (Atomic mass unit) arasında gerçekleştirilmiştir. Bileşenlerin çoğu NIST-02 ve Wiley-275 kütüphane spektrumlarının karşılaştırılması ile belirlenmiştir

2.2.3. Turunç uçucu yağlarının antioksidan aktivitelerinin DPPH yöntemiyle belirlenmesi

Antioksidan kapasitesiyi belirlemek için 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürme kapasitesi yöntemi kullanılmıştır. Bu metodun prensibi ekstraktların DPPH'ı bağlayarak mavi renkli DPPH çözeltisinin renginin açılması ve absorbansının 517 nm'de ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Sonuçlar, antioksidan aktivite düzeyi % inhibisyon olarak ifade edilmesi tercih edilmiştir (Shadi ve Zhong, 2015).

Bu amaçlarla, 450 mL Tris-HCl tamponu (3,0276 g Tris-HCl distile su ile 500 mL'ye tamamlanır, pH 7.4), 50 µL ekstrakt ve 1 mL DPPH çözeltisi (9,86 g DPPH + 250 mL metanol) ile karıştırıldıktan sonra 30 dakika beklenmiş ve absorbans (Abs) 517 nm'de spektrofotometrede ölçülmüştür. Yüzde inhibisyon oranı aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır. Deneyler iki paralelli yapılmış olup, antioksidan aktivite ortalamalar alınarak değerlendirilmiştir.

$$\% \text{ İnhibisyon (DPPH)} = \frac{[(\text{AbsKontrol} - \text{AbsÖrnek}) / \text{AbsKontrol}] \times 100}{}$$

2.2.4. Turunç uçucu yağlarının antibakteriyel aktivitelerinin tespiti

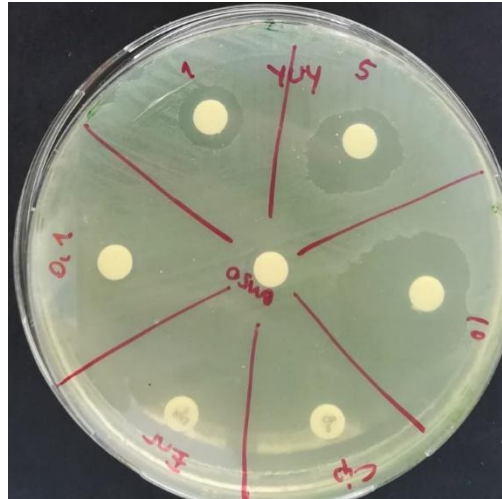
Antibakteriyel aktivite deneyleri Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi (EUCAST) metotları esas alınarak yürütülmüştür. Uçucu yağların antibiyogram testleri disk difüzyon yöntemine göre yapılarak (EUCAST 2020a, 2020b) etkili bulunanlara mikrodilüsyon yöntemiyle MİK (minimal inhibisyon konsantrasyonu) ve MBK (minimum bakterisidal konsantrasyon) testleri yapılmıştır (EUCAST, 2019). Tüm çalışmalar çift paralelli yapılmıştır.

2.2.4.1. Referans suşların hazırlanması

Referans suşlar uygun besiyerlerinde ve uygun koşullarda canlandırılmıştır. *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Yersinia ruckeri* (Wiklund, T., Finlandiya) ve *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) triptik soy agarda (TSA), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) Baird Parker agarda 35°C'de 24 saat inkübe edilerek canlandırılmış; taze koloniler fizyolojik tuzlu su ile McFarland 0,5'e (BaCl₂ 9,5 mL, sülfirik asit 0,5 mL) (1,5x10⁸cfu/mL) göre süspansiyon edilmiştir.

2.2.4.2. Disk difüzyon yöntemi

McFarland'a göre yoğunluğu ayarlanmış referans suşlar Müller Hinton Agar'a steril svaplarla inoküle edilmesinden sonra yüzeye yerleştirilen 6 mm çaplı boş diskler (Becton Dickenson BBL, ABD) üzerine uygun dilüsyonları hazırlanan KUY ve YUY 10 µL miktarında konulmuştur. 35°C'de 24-48 saatlik inkübasyonun ardından inhibisyon zonları ölçülmüştür. Uçucu yağların %0,1, %1, %5 ve %10 konsantrasyonları kullanılmıştır (Şekil 2). Yağların dilüsyonu saf dimetilsulfoksit (DMSO) ile yapılmıştır. Pozitif kontrol amacıyla *S. aureus* için de gentamisin (GN, 10 µg) ve eritromisin (E, 15 µg), *E. faecalis* için siprofloksasin (CIP, 5 µg) ve vankomisin (VA, 5 µg), *E. coli* için siprofloksasin ve trimetoprim-sulfametoksazol (SXT, 1,25-23,75 µg) ve *Y. ruckeri* için siprofloksasin ve enrofloksasin (ENR, 5 µg) diskleri (Becton Dickenson BBL, ABD); negatif kontrol amacıyla da steril DMSO kullanılmıştır [EUCAST, 2020a, 2020b]. Çalışmalar çift paralelli yapılmış olup, değerlendirme EUCAST (2019) antibakteriyel ilaçların referans değerlerine göre yapılmıştır. Turunç örneklerinin göstermiş olduğu antibakteriyel duyarlılık zonları Bendaha vd. (2016)'nin bildirmiş olduğu ölçütler esas alınarak değerlendirilmiştir. Buna göre hiç zon olmaması etkisiz, zon çapları <7-9,9 mm zayıf etkili, 10-11,9 mm orta etkili ve ≥12 mm'den büyük ise yüksek etkili olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 2. Disk difüzyon yöntemi ile yaprak uçucu yağının *Y. ruckeri*'ye antibakteriyel aktivite testi

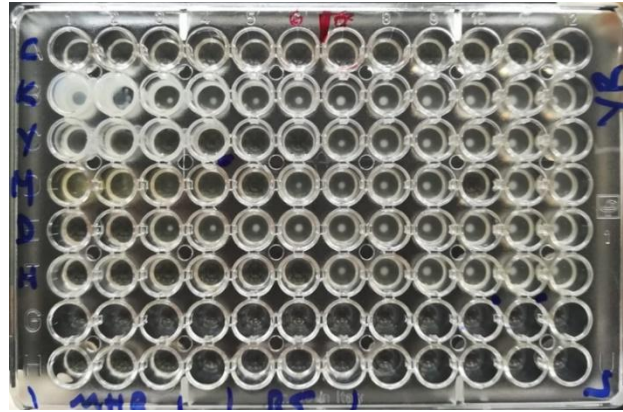
2.2.4.3. Minimal inhibisyon konsantrasyonu (MİK)

MİK tayini EUCAST (2019)'ın önerdiği mikrotitr brot seyreltme yöntemine göre 96 kuyucuklu mikropleytlerde gerçekleştirilmiştir. MİK

testinde kullanılan örneklerin yoğunlukları KUY ve YUY için 512 µL/mL; *S. aureus* pozitif kontrolü amacıyla eritromisin tiosiyanat (potens: 890 µg/mL) ve diğer bakteriler için siprofloksasin (potens: 1000µg/mL) 256 µg/mL; siprofloksasinin çözündürülmesinde kullanılan 0,1N HCl 256 µL/mL; eritromisin için kullanılan %95'lik etil alkol 512 µL/mL; yağların sulandırılmasında kullanılan DMSO 512 µL/mL olarak belirlenmiştir. McFarland 0,5'e göre hazırlanan referans bakteri solüsyonları (1x10⁸ CFU/mL) 1:20 oranında FTS ile sulandırılarak (5x10⁶ CFU/mL) (EUCAST, 2020) testte yerini almıştır. Besiyeri olarak Müller-Hinton Broth (MHB) (OXOID) kullanılmıştır. Her referans bakteri için testler çift tekrarlı gerçekleştirilmiştir.

Mikropleyitin ilk 6 satırındaki tüm kuyucuklara 100 µL MHB eklendikten sonra, 1. sütuna 1. satırdan başlayarak 6. satıra kadar sırayla 100 µL

antibakteriyel ilaç, KUY, YUY, DMSO, HCL / etanol, 8. sıraya da kontrol amacıyla yan yana üç kuyucuğa MHB ve diğer ardışık üç kuyucuğa da bakteri solüsyonu konulmuştur. 6 kanüllü mikropipet ile 1. sütundan başlayarak 100 µL alınarak bir sonraki sütundaki kuyucuğa konulup pipetlendikten sonra bir sonraki sütuna 100 µL aktarılmış, son sütundan alınan 100 µL atılmıştır. Yine 6 kanüllü mikropipet ile her kuyucuğa 10 µL bakteri solüsyonu (5x10⁴ CFU/mL) eklenmiştir. Böylece 96 kuyucuklu pleyitte antibiyotikler, etanol ve HCl için 0,06-128 µL/mL; uçucu yağlar ve DMSO için 0,125-256 µg/mL seri seyreltmeleri hazırlanmıştır. 35°C'de 24 saatlik inkübasyonun ardından kuyucuklardaki bulanıklık bakteri üremesi olarak kabul edilmiş, bulanıklığın olmadığı ilk kuyucuk MİK değeri olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3).

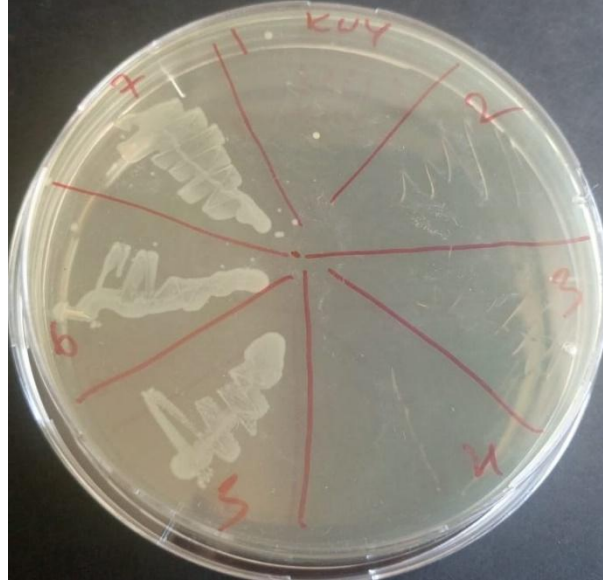


Şekil 3. *Y. ruckeri* MİK testi (C: siprofloksasin, K: KUY, Y: YUY, D: DMSO, H: HCl, MHB: Müller Hinton Broth, BK: Bakteri kontrol)

2.2.4.4. Minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK)

Mikropleyitte üremenin olmadığı ilk kuyucuktan itibaren bulanıklığın görülmediği

sonraki tüm kuyucuklardan 10 µL sıvı alınarak TSA'ya ekilmiş, 35°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Üremenin olmadığı ilk seyrelti MBK olarak kabul edilmiştir (Farahmandfar vd., 2020) (Şekil 4).



Şekil 4. Kabuk uçucu yağı MBK testi

3. Bulgular

3.1. Minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK)

GC-MS analizi neticesinde turunc kabuğu ve yaprak uçucu yağ örneklerinde toplamda 18 adet olmak üzere sırasıyla 10 ve 17 farklı bileşen saptanmıştır.

Tespit edilen uçucu yağ bileşenlerinden limonen kabukta (%93,55) ve meyve suyunda (%70,67) en yüksek oranda bulunurken, yaprakta linalool oxide (%49,01), linalyl acetate (%20,84) ve α -terpineol (%10,55) dikkate değer oranlarda belirlenmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Turunc örnekleri uçucu yağ bileşenleri oranları

No	Uçucu Yağ Bileşenleri	RT (dk)	KUY (%)	RT (dk)	YUY (%)
1	α -Pinene	5.984	0,47	5.978	0,09
2	Sabinene	6.727	0,10	6.722	0,22
3	β -Pinene	6.796	0,50	6.785	1,66
4	β - Myrcene	7.025	1,37	7.014	1,53
5	α -Phellandrene	7.300	0,18	---	---
6	Limonen	7.792	93,55	7.734	0,54
7	β -Ocimene	8.072	1,02	8.055	1,88
8	Linalool oxide	8.564	1,79	9.073	49,01
9	α -Terpinolene	---	---	8.805	0,51
10	4-Terpineol	---	---	10.424	0,12
11	α -Terpineol	10.693	0,41	10.670	10,55
12	Cis-Geraniol	---	---	11.208	1,03
13	Neral	---	---	11.402	0,13
14	Linalyl Acetate	11.545	0,33	11.534	20,84
15	Nerol	---	---	11.603	3,42
16	İsoterpinolene	---	---	13.159	0,11
17	Neryl Acetate	---	---	13.336	2,68
18	Geranyl Acetate	---	---	13.703	4,94
Toplam (%)			99,25		99,26
Bileşen sayısı			10		17

RT: Retention time (dakika), KUY: kabuk uçucu yağ, YUY: yaprak uçucu yağ

3.2. Yağların Antioksidan Aktiviteleri

Örneklerimizin antioksidan aktiviteleri yaprak uçucu yağında %30,64 ± 0,93, kabuk uçucu yağında ise %18,32 ± 0,80 oranında bulunmuştur.

3.3. Antibakteriyel Duyarlılık Zonları

Uçucu yağların antibakteriyel duyarlılık zonları tablo 2’de yer almaktadır. Negatif kontrol amacıyla yağların dilüsyonunda kullanılan DMSO’nun bakterileri inhibe edici etkisinin olmadığı anlaşılmıştır. Pozitif kontrol amacıyla kullanılan antibakteriyel ilaçların tümü EUCAST (2019) değerlerine göre yüksek oranda duyarlılık göstermiştir (Tablo 2).

Tablo 2. Turunç örneklerinin ve antibakteriyel ilaçların antibakteriyel duyarlılık zonları (mm)

Örnekler	Duyarlılık zonları (mm)						CIP	SXT
	%0,1	%1	%5	%10	%50	%100		
<i>E. coli</i>								
YUY	10	15	20	25	---	---	32	22
KUY	10	10	10	11	---	---	32	21
<i>Y. ruckeri</i>								
YUY	7	10	15	20	---	---	42	40
KUY	8	9	10	12	---	---	44	40
<i>S. aureus</i>								
YUY	0	0	10	10	---	---	25	20
KUY	0	0	7	7	---	---	25	20
<i>E. faecalis</i>								
YUY	0	5	11	12	---	---	25	20
KUY	0	0	7	10	---	---	24	20

3.3.1. Minimal inhibisyon konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) değerleri

MİK / MBK değerleri yaprak uçucu yağında *E. coli*, *Y. ruckeri* ve *S. aureus* için 2-8 µL/mL, *E.*

faecalis için 16-128 µL/mL; kabuk uçucu yağında ise dört bakteri için de 32-128 / 32-256 µL/mL konsantrasyonlarda olduğu saptanmıştır. Uçucu yağların dilüsyonunda kullanılan DMSO’nun inhibe edici özelliğinin olmadığı anlaşılmıştır (Tablo 3).

Tablo 3. Turunç uçucu yağlarının referans bakterilere göre MİK ve MBK değerleri

Örnekler	<i>E. coli</i>		<i>Y. ruckeri</i>		<i>E. faecalis</i>		<i>S. aureus</i> *	
	MİK	MBK	MİK	MBK	MİK	MBK	MİK	MBK
CIP / E* (µg/mL)	<0,0625	<0,0625	<0,0625	<0,0625	0,5	<0,0625	0,25*	<0,0625
KUY (µL/mL)	32	32	128	>256	32	128	64	>256
YUY (µL/mL)	2	2	8	8	16	128	4	8
DMSO (µL/mL)	256	-	128	-	64	-	>256	-
HCl / EA* (µL/mL)	>128	-	8	-	128	-	>128*	-

**S. aureus* için eritromisin ve etil alkol (EA) kullanılmıştır

KUY: kabuk uçucu yağ, YUY: yaprak uçucu yağ, CIP: siprofloksasin, E: eritromisin

4. Tartışma

Turunçgiller, tüm dünyada hem taze tüketimi hem de meyve suyu üretiminde önemli bir yere sahiptir. Narenciye işleme tesislerinde, atık olarak nitelendirilen ve meyvenin neredeyse %50’sini oluşturan meyve kabuklarının uçucu yağları

alınmakta, posası da hayvan yemi olarak değerlendirilmektedir. Farklı sanayi kollarında (gıda, ilaç, kozmetik vd.) önemli bir yeri olan bu yağların ekonomik değeri yüksektir (Güzel ve Akpınar, 2017, Chavan vd., 2018, Mahato vd., 2018). Nitekim bu araştırmada da turunç meyve kabuğu

oranının %49,5 olduğu görülmüştür. Bitkilerin kendi ihtiyaçları için ürettikleri bu aromatik uçucu yağlar kök, gövde, yaprak, çiçek, meyve ve tohumlarında bulunabilmektedir (Baysal, 2005, Bendaha vd., 2016). Uçucu yağlar soğuk pres, kimyasal ekstraksiyon, hidrodistilasyon gibi birçok teknikte elde edilebilmektedir (Sharma vd., 2017). Bu araştırmada da turunç yaprağı ve meyve kabuğu hidrodistilasyon yöntemiyle elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimi, antioksidan ve antibakteriyel etkinlikleri saptanmaya çalışılmıştır.

Bu araştırmada taze olarak işleme alınan meyve kabuğundan ve yaprakta %1,1'er oranında uçucu yağ elde edilmiştir. Farklı ülkelerde yapılmış çalışmalarda da genel olarak yapraklara oranla kabuklardan daha fazla uçucu yağ alınabildiği (Sarrou vd., 2013, Azhadarzadeh ve Hojjati, 2016, Pratama vd., 2018), kabuk yağı oranlarının %0,46 ila %4 (Hosni vd., 2010, Bourgou vd., 2012, Sarrou vd., 2013, Gölükçü vd., 2015, Bendaha vd., 2016, Azhadarzadeh ve Hojjati, 2016, Pratama vd., 2018);

yaprak yağ oranlarının da %0,07 ila %0,45 (Sarrou vd., 2013, Azhadarzadeh ve Hojjati, Pratama vd., 2018) arasında değiştiği görülmektedir. Taze turunç kabuklarının hidrodistilasyonu ile Tunus'ta Hosni vd. (2010) (%1,24), Yunanistan'da Sarrou vd. (2013) (%1,67), Fas'ta Bendaha vd. (2016) (%1,01) bizim verilerimize benzer KUY miktarları bildirirken, Antalya'da Gölükçü vd. (2015) (%3) ve Tayland'da Pratama vd. (2018) (%2,45) daha yüksek oranlarda yağ elde etmişlerdir. Bildirilen yaprak uçucu yağ oranları ise bu araştırmada saptanandan daha düşüktür (Sarrou vd., 2013, Azhadarzadeh ve Hojjati, 2016, Pratama vd., 2018).

Narenciye uçucu yağlarının terpenler, aldehytlar, alkoller, esterler ve steroller içerdiği bildirilmiştir (Adenaike ve Abakp, 2021). Dünyanın birçok ülkesinde araştırılmış olan turunç uçucu yağlarının da monoterpenler, oksijenli monoterpenler gibi biyoaktif bileşiklerden oluştuğu görülmektedir (Tablo 4).

Tablo 4. Farklı ülkelerde turunç yaprağı ve meyve kabuğu uçucu yağ bileşenleri

Uçucu Yağ Bileşeni	KUY (%)	YUY (%)	Kaynak
Monoterpenler			
α-Pinene	0,47	0,09	Bu çalışma, Mersin
	1,35	0,19	Kırbaşlar ve Kırbaşlar, 2004, Antalya
	0,27		Hosni vd., 2010, Tunus
	0,36		Bourgou vd., 2012, Tunus
	0,55		Karoui ve Marzouk, 2013, Tunus
	0,53	0,19	Sarrou vd., 2013, Yunanistan
	0,51		Gölükçü vd., 2015, Antalya
	1,96	0,18	Azhadarzadeh ve Hojjati, 2016, İran
	0,84		Bendaha vd., 2016, Fas
	8,42	2,06	Pratama vd., 2018, Tayland
1,32		Farahmandfar vd., 2020, İran	
β-Pinene	0,50	1,66	Bu çalışma
	1,37		Hosni vd., 2010
	0,38		Bourgou vd., 2012
	0,44		Karoui ve Marzouk, 2013
	0,62	3,58	Sarrou vd., 2013
	0,42		Gölükçü vd., 2015
		1,92	Ouedrhiri vd., 2015
	0,56	2,22	Azhadarzadeh ve Hojjati, 2016
	0,69		Bendaha vd., 2016
	---	1,56	Pratama vd., 2018
	1,21	Okla vd., 2019, Suudi Arabistan	
	0,97	Farahmandfar vd., 2020	
Sabinene	0,10	0,22	Bu çalışma
	0,28		Hosni vd., 2010
	0,20		Bourgou vd., 2012
		0,92	Ellouze vd., 2012, Tunus

	0,48		Karoui ve Marzouk, 2013
	0,18		Sarrou vd., 2013
	0,17		Gölküçü vd., 2015
		0,12	Ouedrhiri vd., 2015, Fas
	3,77	15,88	Pratama vd., 2018
	0,44		Fahrahmandfar vd., 2020
	0,46	0,34	Azhadarzadeh ve Hojjati, 2016
Myrcene	1,37	1,53	Bu çalışma
		1,8	Kırbaşlar ve Kırbaşlar, 2004
	0,07		Bourgou vd.,2012
		1,99	Ellouze vd., 2012
	0,04		Karoui ve Marzouk, 2013
	2,00	1,63	Sarrou vd., 2013
	1,90		Gölküçü vd., 2015
	5,74	3,49	Azhadarzadeh ve Hojjati, 2016
	4,02		Bendaha vd., 2016
	21,70	2,22	Pratama vd., 2018
		0,30	Okla vd., 2019
	3,81		Farahmandfar vd., 2020
Limonene	93,55	0,54	Bu çalışma
		2,5	Kırbaşlar ve Kırbaşlar, 2004
	96,90		Hosni vd, 2010
	90,95		Bourgou vd.,2012
		9,6	Ellouze vd., 2012
	90,25		Karoui ve Marzouk, 2013
	94,67	0,53	Sarrou vd., 2013
	94,48		Gölküçü vd., 2015
		0,36	Ouedrhiri vd., 2015
	81,60	4,67	Azhadarzadeh ve Hojjati, 2016
	88,97		Bendaha vd., 2016
		16,67	Okla vd., 2019
	85,49		Farahmandfar vd., 2020
β-Ocimene	1,02	1,88	Bu çalışma
	0,31		Hosni vd, 2010
	0,02		Bourgou vd.,2012
		2,19	Ellouze vd., 2012
	0,24		Gölküçü vd., 2015
		0,73	Ouedrhiri vd., 2015
	0,68		Farahmandfar vd., 2020
Oksijenli monoterpenler			
α-Terpinolene	-	0,51	Bu çalışma
	0,02		Bourgou vd.,2012
		11,72	Ellouze vd., 2012
	0,28	0,40	Karoui ve Marzouk, 2013
	---		Sarrou vd., 2013
	---	1,46	Azhadarzadeh ve Hojjati, 2016
	---	0,68	Pratama vd., 2018
Linalool oxide	1,79	49,01	Bu çalışma
		24,8	Kırbaşlar ve Kırbaşlar, 2004
	0,17		Hosni vd, 2010
	0,01		Bourgou vd.,2012
		53,47	Ellouze vd., 2012
	1,56		Karoui ve Marzouk, 2013
	0,76	58,21	Sarrou vd., 2013
	0,56		Gölküçü vd., 2015
		32,99	Ouedrhiri vd., 2015
	2,19	32,6	Azhadarzadeh ve Hojjati, 2016
	5,0	11,47	Pratama vd., 2018
	0,36		Bendaha vd., 2016
		7,82	Okla vd., 2019

	2,74		Farahmandfar vd., 2020
Linalyl Acetate	0,33	20,84	Bu çalışma
		50,1	Kırbaşlar ve Kırbaşlar, 2004
	0,01		Bourgou vd.,2012
		17,99	Ellouze vd., 2012
	0,29		Karoui ve Marzouk, 2013
	0,18	12,42	Sarrou vd., 2013
	0,26		Gölükçü vd., 2015
	0,54		Bendaha vd., 2016
		2,28	Okla vd., 2019
Neryl Acetate	---	2,68	Bu çalışma
		1,9	Kırbaşlar ve Kırbaşlar, 2004
	0,23		Karoui ve Marzouk, 2013
	0,10	2,18	Sarrou vd., 2013
	0,15		Gölükçü vd., 2015
	0,12	4,68	Azhadarzadeh ve Hojjati, 2016
	1,42	---	Pratama vd., 2018
Geranyl Acetate	---	4,94	Bu çalışma
		3,4	Kırbaşlar ve Kırbaşlar, 2004
	0,02		Bourgou vd.,2012
		2,92	Ellouze vd., 2012
	0,12		Bendaha vd., 2016
	0,44		Farahmandfar vd., 2020
α-terpineol	0,41	10,55	Bu çalışma
		6,2	Kırbaşlar ve Kırbaşlar, 2004
	0,35		Bourgou vd.,2012
		45,9	Ellouze vd., 2012
	0,56		Karoui ve Marzouk, 2013
	0,13	7,11	Sarrou vd., 2013
	0,16		Gölükçü vd., 2015
		10,54	Ouedrhiri vd., 2015
	0,15	0,39	Azhadarzadeh ve Hojjati, 2016
	6,31	8,63	Pratama vd., 2018
		0,96	Okla vd., 2019
	0,52		Farahmandfar vd., 2020
Nerol	---	3,42	Bu çalışma
		0,6	Kırbaşlar ve Kırbaşlar, 2004
		0,12	Bourgou vd.,2012
	0,08		Karoui ve Marzouk, 2013
	---	1,45	Sarrou vd., 2013
		1,56	Ouedrhiri vd., 2015
	0,23	3,62	Azhadarzadeh ve Hojjati, 2016
	2,66	---	Pratama vd., 2018

--- Tespit edilememiştir

Genel olarak yaprak yağlarında (petitgrain) en çok linalool, linalil asetat ve α -terpineol gibi oksijenli monoterpenlerin (Kırbaşlar ve Kırbaşlar, 2004, Ellouze vd., 2012, Sarrou vd., 2013, Ouedrhiri vd., 2015, Azhadarzadeh ve Hojjati, 2016); kabuk yağlarında ise bir monoterpen olan limonenin baskın olduğu bildirilmiştir (Hosni vd., 2010, Frassinetti vd., 2011, Bourgou vd., 2012, Karoui ve Marzouk, 2013, Sarrou vd., 2013, Gölükçü vd., 2015, Ouedrhiri vd., 2015, Azhadarzadeh ve Hojjati, 2016,

Bendaha vd., 2016, Farahmandfar vd., 2020). Tayland'da turunç kabuğu ve yaprak uçucu yağlarının bileşenlerinin tespit edildiği çalışmada kabukta limonen tespit edemezken, en çok myrcene (%21,70), α -pinene (%8,42), α -terpineol (%6,31) ve linalool (%5,0); yaprakta ise sabinene (%15,88), linalool (%11,47) ve α -terpineol (%8,63) bildirilmiştir (Pratama vd., 2018). Bizim çalışmamızda belirlenen toplam 18 adet uçucu yağın ana bileşeni, genel bilgiye uygun olarak, turunç kabuğunda (%93,55) limonen iken, yaprağın

yaklaşık %80'lik kısmını linalool (%49,01), linalyl acetate (%20,84) ve α -terpineol (%10,55) oluşturmuştur (Tablo 1). Bilimsel çalışmalar limonen (Anandakumar vd., 2020), linalool (Pereira vd., 2018), linalil asetat (Hsieh vd., 2018), α -terpineol (Sales vd., 2020) ve diğer terpenlerin (Bisht vd., 2021) birçok terapötik etkisinin olduğunu ortaya koymaktadır. Bu yararlı fitokimyasallar diğer narenciyelerde (bergamot, kan portakalı, tatlı portakal, limon, mandarin) de yüksek oranda bulunmakla birlikte, limonenin turunçta en yüksek oranda bulunduğunu bildiren araştırmalar mevcuttur (Moufida ve Marzouk, 2003, Hosni vd., 2010, Bourgou vd., 2012). Bu fitokimyasal yapısıyla, bir dezavantaj gibi görünen acı aromayı meydana getiren limonenin turunçta bir artı değer kattığı görülmektedir.

Canlı organizmalardaki metabolik faaliyetler sonucunda açığa çıkan reaktif oksijen türleri (ROS) normal koşullar altında vücutta üretilen doğal antioksidanlarla etkisizleştirilmektedir. Ancak, birçok çevresel ve psikolojik stres faktörü ROS'nin atışına, dolayısıyla da doğal yollardan denatüre edilmelerine engel olmaktadır. Artan ROS hücre ölümlerine kadar varabilen oksidatif strese yol açmaktadır. Doğal ve yapay kaynaklarda bulunabilen antioksidanlar ise ROS'nin neden olduğu hücre hasarını önleyebilen veya yavaşlatan maddelerdir. Tıbbi bitkilerde bulunan vitaminler, flavonoidler, terpenler gibi fitokimyasalların antioksidan özellik taşıdıkları yapılan araştırmalarla belgelenmiştir (Anandakumar vd., 2020, Haraoui vd., 2020, Shankar vd., 2021). Turunç uçucu yağlarının antioksidan özelliği de birçok araştırmada ele alınmıştır (Karoui ve Marzouk, 2013, Sarrou vd., 2013, Ouedrhiri vd., 2015, Bendaha vd., 2016, Pratama vd., 2018, ve Haraoui vd., 2020). Araştırmamız neticesinde yaprak uçucu yağı (%30,64 \pm 0,93) antioksidan aktivite kapasitesinin kabuk yağından (%18,32 \pm 0,80) daha yüksek olduğu görülmüştür. Bizim bulgularımıza benzer sonuçların bildirildiği bazı çalışmalar turunç yaprağı uçucu yağı DPPH radikalleri temizleme yeteneğinin kabuğa nazaran daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur (Sarrou vd., 2013, Pratama vd., 2018). Sarrou vd. (2013) kabuk uçucu yağında %19,29 bildirirken, genç yaprakların %22,79, olgun

yaprakların ise %94,36 antioksidan özellik gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Pratama vd. (2018) de yaprakta %38,28, kabukta %16,09 DPPH radikal süpürme yeteneği tespit etmişlerdir. Bunlara karşın Ouedrhiri vd. (2015) kabuk uçucu yağında yaprağa oranla daha yüksek antioksidan özellik bildirmişlerdir. Bu veriler turunç uçucu yağlarının antioksidan kapasitesinin coğrafya, mevsim, turunç ağacının olgunluk durumu, incelenen örnek gibi çok-bileşenli bir yapı gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Bitkisel uçucu yağların temel yapıtaşlarının çeşitli farmakolojik özellikler gösteren terpenlerden, bunların da çoğunun tıbbi açıdan önemli monoterpenler ve seskiterpenlerden meydana geldiği bildirilmiştir (Aljaafari vd., 2021). Birçok ülkede turunç uçucu yağlarının antibakteriyel aktivitelerinin anlaşılmasına yönelik yapılmış birçok araştırma mevcuttur. Turunç ekstraktlarının invitro antibakteriyel aktivitelerinin incelendiği araştırmamızda yaprak uçucu yağında daha yüksek etki görülürken, kabukta daha düşük etki belirlenmiştir (Tablo 2). Bu amaçla iki Gram negatif basil (*E. coli* ve *Y. ruckeri*) ve iki Gram pozitif kok (*S. aureus* ve *E. faecalis*) kullanılmıştır. Turunç örneklerinin antibakteriyel etkinlik ölçümlerinde, yaprak uçucu yağların %5-10'luk seyreltilerinin antibakteriyel etkinliğinin Gram negatif bakterilerde yüksek (zon çapı *E. coli* 20-25 mm; *Y. ruckeri* 15-20 mm), Gram pozitif koklarda daha zayıf (zon çapı 10-12 mm) olduğu görülmüştür. Kabuk uçucu yağının inhibisyon özelliği ise, her ne kadar Gram negatiflerde biraz daha yüksek olsa da hem Gram negatif hem de Gram pozitif koklarda orta etki (zon çapı 10-12 mm) gözlenmiştir. Test sonuçlarına göre turunç meyvesi (*C. aurantium*) yapraklarının %5 ve %10'luk seyreltilerinin özellikle *E. coli* (20 mm ve 25 mm) ve *Y. ruckeri* (15 mm ve 20 mm) bakterilerine karşı inhibe edici özelliğinin dikkate değer olduğunu göstermektedir. Bir balık patojeni olan *Y. ruckeri* üzerine birçok bitki ekstraktının antibakteriyel aktivite ölçümü yapılmış olmasına karşın (Uluköy vd. 2013, Öntaş vd., 2016, Birinci Yıldırım ve Türker, 2018), turunçgillerden sadece limon (*Citrus limon*) kabuğu uçucu yağının etkisine bakılmış ve %10'luk dilüsyonda yüksek oranda aktivite (19 mm) tespit edilmiştir (Öntaş vd., 2016).

Ancak, yapılmış olan literatür taramalarına göre, turunç uçucu yağlarının *Y. ruckeri* üzerine antibakteriyel etkisine ilk defa bu araştırma ile bakılmaktadır. Dahası, ülkemizde turunç kabuğu ve yaprağı uçucu yağlarının antibakteriyel aktiviteleri ile ilgili insan ve hayvan hastalıkları alanında yeterli araştırma bulunmamaktadır.

MİK ve MBK sonuçları antibiyogram sonuçlarımızı destekler nitelikte olup, yaprak uçucu yağının *E.coli* (2 µL/mL) ve *Y. ruckeri* (8 µL/mL) üzerinde etkili sonuç verirken, *S. aureus*'un (4 µL/mL ve 8 µL/mL, sırasıyla) da duyarlı olduğu anlaşılmıştır. Kabuk uçucu yağının MİK ve MBK değerleri daha yüksek olsa da *E. coli* (32 µL/mL ve 32 µL/mL) ve *E. faecalis*'i (32 µL/mL ve 128 µL/mL) inhibe edici özellikleri diğer iki bakteriye göre daha yüksek bulunmuştur (Tablo 3). Frassinetti vd. (2011) de turunç kabuğu yağının Gram negatif basillere daha etkili (*E. coli* 25 µg/mL), Gram pozitif koklara (*S. aureus* 200 µg / mL, *E. faecalis* 150 µg / mL) daha dirençli bulmuş olsalar da çalışmamızda test edilen kabuk yağlarının minimal inhibisyon konsantrasyonunun daha düşük olduğu görülmektedir. Bunlara karşın başka bir çalışmada *S. aureus*'un (10 ve 10 µg /mL) taze olarak işleme alınan turunç kabuğu yağına *E. coli*'ye (20 ve 40 µg/mL) kıyasla MİK ve MBK değerlerinin daha düşük olduğu ortaya konulmuştur (Farahmandfar vd., 2020).

Genel kanı Gram pozitif bakterilerin uçucu yağlara daha duyarlı olduğu şeklinde olsa da (Azhadarzadeh ve Hojjati, 2016, Ouedrhiri, vd., 2015, Farahmandfar vd., 2020, Haraoui vd., 2020) turunçgil uçucu yağlarının Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler üzerindeki etki güçlerinin değişken olabileceğini, hatta tür bazında bile farklılıklar olabileceğini ortaya koymaktadır. Bizim bulgularımıza benzer, ülkemizde (Kırbaşlar vd., 2009), Tunus'ta (Bourgou vd. 2011) turunçgiller üzerinde yapılan çalışmalarda turunç kabuk yağlarının *E. coli* ve *S. aureus*'a benzer etkiyi (sırasıyla 12 mm ve 14 mm) gösterdiği bildirilmiştir. Bazı araştırmacılar ise turunç kabuk uçucu yağlarının Gram pozitif koklara daha etkili bulurken (Sokovic vd., 2010, Farahmandfar vd., 2020), diğerleri Gram negatif basillerin daha duyarlı olduğunu

bildirmişlerdir (Frassinetti vd., 2011, Bendaha vd., 2016). Gram negatif bakterilerin daha duyarlı olması hücre duvarlarının peptidoglikan tabakası yapısına bağlanmış olsa da (Farahmandfar vd., 2020), Gram pozitiflerin daha duyarlı olabildiği araştırmalar da mevcuttur. Araştırma bulguları arasındaki bu tür farklılıklar uçucu yağların ve diğer metabolitlerin etki mekanizmalarının anlaşılması ve standardizasyonları için daha ileri araştırmaların yapılması gerekliliğini ortaya çıkarmaktadır.

Antibakteriyel etkinlik araştırmalarında bildirilen veri farklılıklarının kullanılan uçucu yağın nitelikleri yanında disk difüzyon testinde uygulanan dilüsyon oranına da bağlı olabileceği görülmektedir. Yapmış olduğumuz çalışmada dört farklı dilüsyon oranı denenmiş ve oran arttıkça antibakteriyel etkinliğin de arttığı görülmüştür (Tablo 2). Azhadarzadeh ve Hojjati (2016)'in testte kullandıkları uçucu yağ oranının (%66,7) bizimkinden çok daha fazla olması antibakteriyel etkinliğin daha yüksek olmasını açıklayıcı bir neden olarak düşünülebilir. Buna karşın Kırbaşlar vd. (2012), antibiyogram testinde hidrodilüsyon yöntemiyle elde ettikleri narenciye yaprak yağlarını dilüe etmeden 20 µL miktarında kullanmışlar, turunç da dahil tüm narenciyelerde genellikle orta düzeyde etkinlik belirlemişlerdir. Ouedrhiri vd. (2015) de yaprak uçucu yağını saf olarak 10 µL miktarında kullanmış ve Kırbaşlar vd. (2012)'ye benzer sonuç elde etmişlerdir. Böylece, turunç uçucu yağlarının farklı dilüsyon oranlarındaki etkilerinin de ayrıntılı araştırılması antibakteriyel etkinliklerin standardizasyonu için bir gereklilik olarak ortaya çıkmaktadır.

Farklı narenciye türlerinin uçucu yağlarının karşılaştırıldığı antibakteriyel etkinlik çalışmalarında (Bourgou vd. 2011, Frassinetti vd., 2011, Kırbaşlar vd., 2012, Haraoui vd., 2020) turunç yağlarının diğer narenciyeler kadar etkili olduğu bildirilmiştir. Dahası, bölgemizde yetiştirilen turunçların yaprak yağının %10'luk dilüsyonunun siprofloksasin (dirençli <22 mm, duyarlı ≥25 mm) kadar ve trimetoprim-sulfametoksazolden (<14 mm duyarlı, ≥14 mm dirençli) daha etkili olduğu anlaşılmıştır (Tablo 2). Ülkemizde yaprak uçucu yağlarının antibakteriyel etkisine bakıldığı bir çalışmada turuncun da dahil olduğu 6 çeşit

narenciyenin hepsinin *E. coli* ve *S. aureus*'ta benzer sonuç (11-15 mm) verdiği görülmüştür (Kırbaşlar vd., 2012). Bizim araştırmamızdaki turunc yaprak uçucu yağı ise Gram negatif bakterilere yüksek, Gram pozitif koklara ise daha düşük etkili olduğu ortaya çıkmıştır. Cezayir'de on farklı narenciye türünün yaprak ve meyve sularının antibakteriyel aktivitesinin araştırma kapsamına alındığı bir çalışmada limonun ardından en etkili bulunan turuncun meyve suyunun yaprak uçucu yağından daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Bu araştırma, antibakteriyel etki gücünü Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler bazında ayırma yaklaşımının doğru olmadığını da göstermektedir.

5. Sonuç

Bu araştırma ile Mersin ilinde yetişen turunc yaprak ve meyve kabuğu uçucu yağlarının kimyasal bileşenleri, uçucu yağların antioksidan ve antibakteriyel aktivite özellikleri belirlenmiştir. Birçok biyo-yararlılığı olduğu bildirilen limonenin kabuk suyu uçucu yağında, linalool, linalil asetat ve α -terpineolün ise yaprak yağında yüksek oranlarda bulunduğu saptanmıştır. Antibakteriyel etkinlik testlerinde ise yaprak uçucu yağının %5-10'luk dilüsyonlarının Gram negatif bakteriler (*E. coli* ve *Y.*

References

- Abdelatif, H.M. (2004) Insecticidal and antibacterial activity of citrus fruits' peels and juices. Yayınlanmamış doktora tezi, Science University of Khartoum, Hartum.
- Adenaike, O., Abakp. G.O. (2021) Antioxidant compounds and health benefits of citrus fruits. European Journal of Nutrition and Food Safety 13(2):65-74. <https://doi.org/10.9734/EJNFS/2021/v13i230376>
- Aljaafari, M.N., AlAli, A.O., Baqais, L., Alqubaisy, M., AlAli, M., Molouki, A., Ong-Abdullah, J., Abushelaibi, A., Lai, K.-S., Lim, S.E. (2021) An overview of the potential therapeutic applications of essential oils. Molecules 26: 628. <https://doi.org/10.3390/molecules26030628>
- Anandakumar, P., Kamaraj, S., Vanitha, M.K. (2020) D-limonene: A multifunctional compound with potent therapeutic effects. Journal of Food Biochemistry 2020;00:e13566. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13566>
- Azhadarzadeh, F., Hojjati, M. (2016) Chemical composition and antimicrobial activity of leaf, ripe and unripe peel of bitter orange (*Citrus aurantium*) essential oils. Nutrition and Food Sciences Research 3(1): 43-50.
- Baysal, A. 2005. Bitkisel kimyasallar ve antioksidanlar- Sağlık yönünden önemi. Beslenme ve Diyet Dergisi 32(1): 5-11.
- Bendaha, H., Bouchal, B., Mounsi, I.E., Salhi Amine, Berrabeh, M., Bellaoui, M.E., Mimouni, M. (2016) Chemical composition, antioxidant, antibacterial and antifungal activities of peel essential oils of *Citrus aurantium* grown in Eastern Morocco. Der Pharmacia Lettre 8(4): 239-245.
- Birinci Yıldırım, A., Türker, H. (2018) Antibacterial activity of some aromatic plant essential oils

- against fish pathogenic bacteria. *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research* 4(2): 67-74.
- Bisht, B.S., Bankoti, H., Bharti, T.A. (2021) Review on therapeutic uses of terpenoids, *Journal of Drug Delivery and Therapeutics* 11(1-s): 182-185 <http://dx.doi.org/10.22270/jddt.v11i1-s.4523>
- Bourgou, S., Rahali F. Z., Ourghemmi I., Tounsi M. S. (2012) Changes of peel essential oil composition of four Tunisian Citrus during fruit maturation. *The Scientific World Journal* Vol. 2012, Article ID 528593, 10 pages. <https://doi.org/10.1100/2012/528593>
- Chavan, P., Singh, A.K., Kaur, G. (2018) Recent progress in the utilization of industrial waste and byproducts of citrus fruits: A review. *Journal of Food Process Engineering* 2018;41:e12895. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12895>
- Ellouze, I., Abderrabba, M., Sabaou, N., Mathieu, F., Lebrihi, A., Bouajila, J. (2012) Season's variation impact on *Citrus aurantium* leaves essential oil: chemical composition and biological activities. *Journal of Food Science* 77(9): T173-T180.
- EUCAST. (2019) EUCAST reading guide for broth microdilution. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Version 1.0. www.eucast.org/ast_of_bacteria/
- EUCAST. (2020a) AST of Bacteria. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. www.eucast.org/ast_of_bacteria/
- EUCAST. (2020b) Calibration of zone diameter breakpoints to MIC values. European Committee on Microbial Susceptibility Testing. www.eucast.org/ast_of_bacteria/
- Farahmandfar, R., Tirgarian, B., Dehghan, B., Nemati, A. (2020) Comparison of different drying methods on bitter orange (*Citrus aurantium L.*) peel waste: changes in physical (density and color) and essential oil (yield, composition, antioxidant and antibacterial) properties of powders. *Journal of Food Measurement and Characterization* 14: 862-875.
- Frassinetti, S., Caltavuturo, L., Cini, M., Della Croce, C.M., Maserti, B.E. (2011) Antibacterial and antioxidant activity of essential oils from Citrus spp., *Journal of Essential Oil Research* 23(1): 27-31. <https://doi.org/10.1080/10412905.2011.9700427>.
- Gölküçü M., Toker R., Tokgöz H., Turgut Yıldız, D. (2015). Farklı yöntemlerle elde edilen turuncu (*Citrus aurantium L.*) kabuk yağlarının uçucu yağ bileşimleri. *Derim*, 32(2): 161-170.
- Güzel, M., Akpınar, Ö. (2017) Turunçgil Kabuklarının Biyoaktif Bileşenleri ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi. *GÜFBED/GUSTIJ*, 7(2): 153-167.
- Haraoui, N., Allem, R., Chaouche, T.M. and Belouazni, A. (2020) In- vitro antioxidant and antimicrobial activities of some varieties citrus grown in Algeria. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine* 20: 23-34. <https://doi.org/10.1007/s13596-019-00379-9>
- Hosni, K., Zahed, N., Chrif, R., Abid, I., Medfei, W., Kallel, M., Brahim, N.B., Sebei, H. (2010) Composition of peel essential oils from four selected Tunisian citrus species: Evidence for the genotypic influence. *Food Chemistry* 123: 1098-1104.
- Hsieh, Y.S., Kwon, S., Lee, H.S., Seol, G.H. (2018) Linalyl acetate prevents hypertension-related ischemic injury. *PLoS ONE* 13(5): e0198082. DOI: 10.1371/journal.pone.0198082
- Karoui, I.J., Marzouk, B. (2013) Characterization of bioactive compounds in Tunisian bitter orange (*Citrus aurantium L.*) peel and juice and determination of their antioxidant activities. *Hindawi Publishing Corporation, BioMed Research International*. Vol. 2013, Article ID 345415, 12 pages. <https://doi.org/10.1155/2013/345415>
- Kırbaşlar, F.G., Tavman, A., Dülger, B., Türker, G. (2009) Antimicrobial activity of Turkish Citrus peel oils. *Pakistan Journal of Botanic* 41(6): 3207-3212.
- Kırbaşlar, F.G., Dülger, B., Türker, G., Tavman, A. (2012) Antimicrobial activity of Turkish citrus leaf oils and compositions of Turkish orange and grapefruit leaf oils. *Analytical Chemistry Letters* 2(1): 71-79.
- Kirbaslar, G., Kirbaslar, S.İ. (2004) Composition of Turkish bitter orange and lemon leaf oils, *Journal of Essential Oil Research* 16(2): 105-108. DOI: 10.1080/10412905.2004.9698663

- Mahato, N., Sharma, K., Sinha, M., Cho, M.H. (2018) Citrus waste derived nutra-/pharmaceuticals for health benefits: Current trends and future perspectives. *Journal of Functional Foods* 40: 307–316. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.11.015>
- Moufida, S., Marzouk, B. (2003) Biochemical characterization of blood orange, sweet orange, lemon, bergamot and bitter orange. *Phytochemistry* 62: 283–1289.
- Okla, M.K., Alamri, S.A., Salem, M.Z.M., Ali, H M., Behiry, S.I., Nasser, R.A., Alaraidh, I.A., Al-Ghtani, S.M., Soufan, W. (2019) Yield, phytochemical constituents, and antibacterial activity of essential oils from the leaves/twigs, branches, branchwood, and branch bark of sour orange (*Citrus aurantium L.*). *Processes* 2019, 7, 363. <https://doi.org/10.3390/pr7060363>
- Ouedrhiri, W., Bouhdid S., Balouiri M., Lalami, A.O., Moja, S., Fouad C.O., Greche H. (2015) Chemical composition of *Citrus aurantium L.* leaves and zest essential oils, their antioxidant, antibacterial single and combined effects. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 7(1): 78-84.
- Öntaş, C., Baba, E., Kaplaner, E., Küçükaydın, S., Öztürk, M. ve Ercan, M.D. (2016) Antibacterial activity of Citrus limon peel essential oil and *Argania spinosa* oil against fish pathogenic bacteria. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 22(5): 741-749. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2016.15311>
- Pereira, I., Severino, P., Santos, A.C., Silva, A.M., Souto, E.B. (2018) Linalool bioactive properties and potential applicability in drug delivery systems, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* (2018). <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.08.001>
- Pratama, M.D., Premjet, S., Choopayak, C., Premjet, D. (2018) Chemical composition and antioxidant activities of essential oil from Somsa (*Citrus aurantium L.*) in Phitsanulok province, Thailand. *Asia-Pacific Journal of Science and Technology* 24(1): 8 pg. Article ID.: APST-24-01-02.
- Sales, A, Felipe L.O., Lemos Bicas, J. (2020) Production, properties, and applications of α -Terpineol. *Food and Bioprocess Technology*. <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02461-6>
- Sarrou, E., Chatzopoulou, P., Dimassi-Theriou, K., Therios, I. (2013). Volatile constituents and antioxidant activity of peel, flowers and leaf oils of *Citrus aurantium L.* growing in Greece. *Molecules* 2013, 18: 10639-10647. <https://doi.org/10.3390/molecules180910639>
- Shankar, S., Prasad, S., Owaiz, M., Yadav, S., Manhas, S., Yaqoob, M. (2021) Essential oils, component and their applications: A review. *Plant Archives* 21(1): 2027-2033. DOI: 10.51470/PLANTARCHIVES.2021.v21.S1.331
- Sharma, K., Mahato, N., Cho, M.H., Lee, Y.R. (2017) Converting citrus wastes into value-added products: Economic and environmently friendly approaches. *Nutrition* 34: 29-46.
- Soković, M., Glamočlija, J., Marin, P.D., Brkić, D., van Griensven, L.J.L.D. (2010). Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an in vitro model. *Molecules* 15: 7532-7546. <https://doi.org/10.3390/molecules15117532>
- TOB. (2020) Turunçgiller ürün raporu 2020. Türkiye Tarım ve Orman Bakanlığı, TEPGE Yayın No 324.
- Tokgöz H., Gölükçü M. (2009) Turunç (*Citrus aurantium*) meyvelerinin değerlendirilme yöntemleri ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Hasad Gıda* 284: 44-48.
- Uluköy, G., Baba, E., Sayın, Z. (2013) *Listonella anguillarum* ve *Yersinia ruckeri* balık patojenleri üzerine mantar ve bitki ekstraktlarının invitro antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi. *Istanbul University Journal of Fisheries & Aquatic Sciences* 28(2): 119-134.
- Yılmaz, E. (2002) Turunçgil meyvelerinin insan sağlığına etkileri. *Gıda Mühendisliği Dergisi* 13(2): 47-52.