

Rezene Ve Adaçayı Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Aktivitesi Üzerine Bir Araştırma

Nesrin HAŞİMİ¹ Süleyman KIZIL², Veysel TOLAN³

¹ Batman Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, 72060, Batman, Türkiye

² Dicle Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, 21280, Diyarbakır, Türkiye

³ Dicle Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 21280, Diyarbakır, Türkiye

* nesrinhasimi@hotmail.com; nesrin.hasimi@batman.edu.tr

Özet

Son zamanlarda araştırmacılar, mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı geliştirdiği direnç sebebiyle bitki türlerinden izole edilen, patojen mikroorganizmalara karşı biyolojik olarak aktif bileşikleri araştırmaya yönelmişlerdir. Biz de bu çalışmada rezene ve adaçayı bitkilerinden elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal aktivitelerini araştırdık. Antimikrobiyal aktivite disk difüzyon metoduna göre Gram negatif ve Gram pozitif bakterilere karşı belirlenmiştir. Her iki uçucu yağ da test edilen bakteriler üzerinde farklı düzeylerde antimikrobiyal aktivite sergilemişlerdir.

Anahtar kelimeler: *Foeniculum vulgare*, *Salvia officinalis*, Uçucu yağ, Antimikrobiyal aktivite

An Investigation on Antimicrobial Activities of Fennel and Sage Essential Oils

Abstract

Recently, researchers have been interested in biologically active compounds isolated from plant species for the elimination of pathogenic microorganisms because of the resistance that microorganisms have built against antibiotics. In this study we have investigated the antimicrobial activity of essential oils obtained from fennel and sage. The antimicrobial activity was determined according to disc diffusion method against Gram negative and Gram positive bacteria. Both of the essential oils exhibited antimicrobial activity at different levels on the bacteria tested.

Key words: *Foeniculum vulgare*, *Salvia officinalis*, Essential oil, Antimicrobial activity

1. GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütü (WHO 2002)'ne göre temel halk sağlığı sorunlarından olan gıda kaynaklı hastalıklar, tüm dünyada birçok komplikasyon ve ölümlere sebep olmaktadır. Gıda kaynaklı hastalıkların risklerini ve insidansını azaltmak için sağlık otoriteleri dikkatlerini gıda üretimi ve gıda korunması konusuna yönlendirmiştir [1].

Son yüzyılın ortalarından itibaren besinleri koruma ve raf ömrünü uzatmak amacıyla ticari sentetik maddelerin gıda ürünlerine katılmasına izin verilmiştir. Son yıllarda insanlar, bu katkı maddelerinin tüketimiyle ilişkili hastalıkların [2] ortaya çıkması sonucunda bu maddelerin kullanımı konusunda ciddi endişelerini dile getirmişler ve bu da doğal maddelerin gıda koruyucu olarak kullanılması konusuna ilgiyi arttırmıştır [3, 4].

Doğal kaynaklı besin koruyucuları hakkında artan tüketici bilinci ve mikroorganizmaların mevcut koruyucu maddelere karşı geliştirdikleri direnç doğal kaynaklı antibiyotik madde arayışını son zamanlarda ilgi çeken araştırma konuları arasına koymaktadır [5].

Meyve ve sebzelerin raf ömrünü uzatmada mikrobiyal üremenin kontrol altında tutulması gerekmektedir. Yıkama ve hasarlı dokunun uzaklaştırılması gibi hasat sonrası işlemler başlangıçtaki mevcut mikrobiyal popülasyonun azaltılmasını sağlamaktadır. Başlangıçtaki mikrobiyal popülasyonun yüksek olması besinin muhafaza ömrünü kısaltır. Dolayısıyla mikrobiyal popülasyonun minimumda tutulması için hijyenin sürdürülmesi gereklidir [6].

Araştırmacılar, mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı geliştirdiği direnç sebebiyle bitki türlerinden izole edilen, patojen mikroorganizmalara karşı biyolojik olarak aktif bileşikler araştırılmaya yönelmişlerdir [7].

Günümüze araştırmacılar birçok bitkinin antimikrobiyal aktivitesini bildirmişlerdir. Kızıllı ve ark. (2014) Türkiye'de kekik olarak isimlendirilen 7 bitki türünün (*Origanum onites*, *O. vulgare* var. *hirtum*, *O. vulgare* var. *gracile*, *O. syriacum*, *Satureja hortensis*, *Thymbra spicata* ve *Thymus vulgaris*) uçucu yağlarının yüksek antimikrobiyal aktivitelerini [8], Nychas (1995) ise kekik, adaçayı, biberiye, karanfil, kişniş, sarımsak ve soğandan elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal aktivitelerini bildirmişlerdir. Uçucu yağlarda bulunan fenolik bileşiklerin antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir [9]. Bu bileşiklerin bazıları "genel olarak güvenli kabul

edilen" (generally recognized as safe-GRAS) bileşikler sınıfına girmekte, dolayısıyla bu bileşikler hasat sonrası kontamine veya mevcut bakterilerin üremesini engellemek amacıyla kullanılabilirler [10, 11].

Rezene (*Foeniculum vulgare* Miller) Apiceae familyasına ait tek yıllık bir bitkidir. Türkiye’de ve dünyanın bazı ülkelerinde (Mısır, Çin, Hindistan, İtalya, Almanya, Bulgaristan ve Romanya) kültürü yapılır. Rezene genellikle koku ve tat düzeltici olarak yemeklerde, gaz giderici ve süt artırıcı etkilerinden dolayı geleneksel tedavide yaygın kullanıma sahiptir [12].

Yaklaşık olarak 900’ün üzerinde tür ile temsil edilen *Salvia* cinsi Lamiaceae familyasına ait, tüm dünyada yayılış gösteren bir cinstir. *Salvia* türleri tat ve koku verici olarak parfümeri ve kozmetik sanayisinde kullanılmaktadır. *Salvia* türlerinden biri olan *Salvia officinalis* tıbbi ve aromatik özelliğinden dolayı ekonomik olarak en önemli türlerindedir [13, 14].

Bu çalışmanın amacı eski çağlardan günümüze gerek yemeklerde baharat, çeşitli sanayi alanlarında koku ve tat verici maddeler, gerekse geleneksel tedavide ilaç bitkisi olarak kullanılan rezene (*F. vulgare*) ve adaçayı (*S. officinalis*) bitkilerine ait uçucu yağların antimikrobiyal aktivitelerini belirlemektir.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Bitkisel Materyal

Çalışmada rezene bitkisinin tohumları ve adaçayı bitkisinin toprak üstü kısımları kullanılmıştır. Çalışılan bitkilere ait herba ve tohum örnekleri Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Tohumluk Koleksiyonundan temin edilmiştir.

2.2. Uçucu Yağ Ekstraksiyonu

Bitki uçucu yağları Clevenger cihazı ile hidrodistilasyona tabi tutularak elde edilmiştir. 30 g öğütülmüş bitkilere ait tohum ve herba örnekleri 3 saat süre ile ekstraksiyona tabi tutulmuştur (v w-1 %). Uçucu yağlar analizler yapılana kadar +4 derecede muhafaza edilmiştir.

2.3. Kullanılan Mikroorganizmalar

Antimikrobiyal aktivite belirlemede Gram negatif (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) ve Gram pozitif (*Staphylococcus*

aureus ATCC 25923, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615) bakteriler kullanılmıştır. Mikroorganizmalar Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi'nden (Ankara, Türkiye) temin edilmiştir.

2.4. Antimikrobiyal Aktivite

Antimikrobiyal aktivite tayini disk difüzyon yöntemine göre yapılmıştır [15]. Mikroorganizmalar 0.5 Mc Farland'a eşit türbidite oluşana kadar Nutrient Broth (NB) sıvı besi ortamında 37 °C'de inkübe edilmiştir. Uygun türbiditedeki kültürden 0.1 mL alınarak Nutrient Agar katı besi yerine yayma ekim yapılmış, 5 ve 10 µL uçucu yağ emdirilmiş steril diskler ekim yapılan petri kaplarına yerleştirilmiştir. Petriler +4 °C'de 2 saat bekletildikten sonra 37 °C'de 24 saatlik inkübasyona alınmıştır. İnkübasyondan sonra oluşan inhibisyon zon çapları ölçülerek değerlendirilme yapılmıştır. Aynı işlem pozitif kontrol (İmipenem 10 µg/disk) için de tekrarlanmıştır. Her test farklı zamanlarda 3 tekrar halinde gerçekleştirilmiştir, sonuçlar ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Rezene ve adaçayı uçucu yağları ve pozitif kontrol olarak kullanılan İpimenem'in antimikrobiyal aktivite sonuçlarına ait ortalama değerler Tablo 1, 2 ve 3'de verilmiştir.

Her iki uçucu yağ da çalışılan bakteriler üzerinde farklı düzeylerde antimikrobiyal etki göstermişlerdir. Rezene uçucu yağı *P. aeruginosa* dışında test edilen bakteriler üzerinde orta düzeyde (inhibisyon zonu <20-12 mm); *P. aeruginosa* üzerinde ise düşük düzeyde (inhibisyon zonu <12 mm) antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Rezene uçucu yağının antimikrobiyal aktivitesi

Test Mikroorganizmaları	İnhibisyon zon çapları (mm)	
	5 µL	10 µL
<i>Gram negatif</i>		
<i>E. coli</i> ATCC 25922	14±0.3	15±0.4
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	10±0.1	10±0.3

Gram pozitif

<i>S. aureus</i> ATCC 25923	13±0.2	14±0.2
<i>S.pyogenes</i> ATCC 19615	12±0.3	15±0.1

Singh ve ark. (2006), rezene uçucu yağının ana bileşeninin *trans*-anetol (%70.1) olduğunu bildirmiş ve uçucu yağın *A. niger*, *A. flavus*, *F. graminearum* ve *F. moniliforme* üzerinde %100 antifungal aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir [16]. Başka bir çalışmada ise rezene uçucu yağının ana bileşeni aynı şekilde *trans*-anetol (%69.87) olarak bildirilmiş ve uçucu yağın *E. coli*, *B. subtilis*, *A.niger*, *F. solani* ve *R. solani* mikroorganizmalarına karşı sırasıyla 14, 29, 28, 26 ve 19 mm inhibisyon zon çaplarıyla yüksek aktivite gösterdiği bildirilmiştir [17].

Uçucu yağların antimikrobiyal aktivitelerinin içerdikleri fenolik bileşiklerden kaynaklandığı bilinmektedir. Anetolün antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu daha önce rapor edilmiştir [18-20]. Dolayısıyla rezene uçucu yağının göstermiş olduğu antimikrobiyal aktivitenin, yağın ana bileşeni olan anetolden kaynaklandığı düşünülebilir.

Adaçayı uçucu yağı da rezene uçucu yağına benzer şekilde *P. aeruginosa* dışında test edilen bakteriler üzerinde orta düzeyde, *P. aeruginosa* üzerinde ise düşük düzeyde antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Tablo 2).

Tablo 2. Adaçayı uçucu yağının antimikrobiyal aktivitesi

Test Mikroorganizmaları	İnhibisyon zon çapları (mm)	
	5 µL	10 µL
Gram negatif		
<i>E. coli</i> ATCC 25922	12±0.4	13±0.3
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	10±0.1	11±0.3
Gram pozitif		
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	16±0.2	16±0.2
<i>S.pyogenes</i> ATCC 19615	11±0.3	13±0.1

Her ne kadar çalışılan iki uçucu yağ da *P. aeruginosa* üzerinde düşük aktivite (inhibisyon zon çapı < 12mm) göstermiş olsalar da bu değer (10 mm ve 11 mm inhibisyon zon çapı) pozitif kontrol olarak kullanılan İmipenemin aynı bakteri üzerinde gösterdiği aktiviteye (12 mm inhibisyon zon çapı) çok yakındır (Tablo 3).

Tablo 3. Pozitif kontrol olarak kullanılan İmipenemin antimikrobiyal aktivitesi

Test Mikroorganizmaları	İnhibisyon zon çapları (mm)
Gram negatif	
<i>E. coli</i> ATCC 25922	19±0.8
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	12±0
Gram pozitif	
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	27.5±0.7
<i>S.pyogenes</i> ATCC 19615	39.5±0.7

Aumeeruddy-Elalfi ve ark. (2015) *S. officinalis* uçucu yağının %69.76 oranında oksijenlenmiş monoterpenerler içerdiğini ve yağın *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *S. epidermidis* bakterilerine karşı sırası ile 13.8, 18.4, 12.8, 16.2 ve 9.4 mm inhibisyon zon çaplarıyla antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir ki bu değerler bizim sonuçlarımıza uygunluk göstermektedir [21]. Pesavento ve ark. (2015) ise *S. officinalis* uçucu yağının *Staphylococcus*, *Listeria*, *Salmonella* ve *Campylobacter* türleri üzerindeki antimikrobiyal aktivitesini araştırmış ve *L. monocytogenes* ATCC, *L. monocytogenes* HSD, *S. aureus* ATCC, *S. aureus* HSD, *C. jejuni* ATCC, *C. jejuni* HSD, *S. enteridis* ATCC, *S. enteritidis* HSD bakterileri üzerinde uçucu yağın sırasıyla 15.7, 16, 18, 22.7, 9.67, 9, 10 ve 10.3 mm zon çapıyla farklı düzeylerde aktivite gösterdiğini bildirmiştir [22].

Uçucu yağların birçok biyolojik aktivitelere sahip oldukları rapor edilmiştir. Bu aktiviteler arasında, mikrobiyal solunumu engellemek ve plazma zar geçirgenliğini arttırarak bakterileri hücre ölümünü uyarmak sayılabilir [23]. Uçucu yağlarda bulunan fenolik bileşiklerin uçucu yağlara güçlü antibakteriyel özellikler kazandırdığı bilinmektedir [24].

Fenolik bileşikler plazma zarı bütünlüğünü bozarak hücre içeriğinin aktif taşınımını etkilemektedirler [25]. Bu çalışmada gözlenen antibakteriyel aktivitenin bu bileşiklerden kaynakladığı düşünülmektedir.

3. SONUÇ

Sonuç olarak; antimikrobiyal aktivite mevcut sentetik besin koruyuculara alternatif doğal bileşikler bulma amacıyla gıda endüstrisi tarafından ihtiyaç duyulan bir özelliktir. Bu bağlamda rezene ve adaçayı uçucu yağları, elde edilen sonuçlar ışığında doğal antimikrobiyal maddeler olma açısından umut verici kabul edilebilir. Bu çalışmada sunulan sonuçlar, bu türlerin antimikrobiyal potansiyelleri ile ilgili çalışmalara katkıda bulunacaktır.

KAYNAKLAR

1. WHO., 2002. Food safety and foodborne illness. In World Health Organization Fact sheet, 237.
2. Fleming-Jones M.E., Smith R.E., 2003. Volatile organic compounds in foods: a five year study, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(27): 8120-8427.
3. Goni P., Lopez P., Sanchez C., Gomez-Lus R., Becerril R., Nerin, C., 2009. Antimicrobial activity in the vapour phase of a combination of cinnamon and clove essential oils, *Food Chemistry*, 116: 982-989.
4. Lv F., Liang H., Yuan Q., Li C. , 2011. In vitro antimicrobial effects and mechanism of action of selected plant essential oil combinations against four food-related microorganisms. *Food Research International*, 44: 3057-3064.
5. Gould G.W. , 1995. Homeostatic mechanisms during food preservation by combined methods, pp. 397-410, In Food preservation by moisture control (Eds: G. Barbosa-Canovas & J. Welte-Chanes.), Lancaster: Techromic Publishing Co., Inc.
6. Bolin H.R., Stafford A.E., King Jr., Huxsoll C.C., 1977. Factors affecting the storage stability of shredded lettuce, *Journal of Food Science*, 42:1319-1321.
7. EssawiT., Srour M., 2000. Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity, *Journal of Ethnopharmacology*, 70: 343-349.
8. Kizil S., Hasimi N., Tolun V., 2014. Biological Activities of *Origanum*, *Satureja*, *Thymbra* and *Thymus* Species Grown in Turkey. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 17 (3): 460 - 468.
9. NychasG. J. E. , 1995. Natural antimicrobials from plants, In: New methods of food preservation, (Eds:G. W. Gould), London: Blackie Academic Professional.
10. Kabara J.J., 1991. Phenols and chelators, pp. 200, In: Food preservatives, (Eds: N. J. Russell & G.W. Gould), , London: Blackie.

11. Singh A., Singh R.K., Bhunia A.K., Simmon J.E., 2001. Use of plant essential oils as antimicrobial agents against *Listeria monocytogenes* in hotdogs, In Program listing, The 2001 IFT Annual Meeting, New Orleans, LO.
12. Kan Y., Kartal M., Aslan S., Yıldırım N., 2006. Farklı Koşullarda Yetiştirilen Rezene Meyvelerinin Uçucu Yağ Bileşenleri, *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 35 (2): 95 - 101.
13. Radosavljevic I., Jakse J., Javornik B., Satovic Z. Liber Z., 2011. New microsatellite markers for *Salvia officinalis* (Lamiaceae) and cross-amplification in closely related species, *American Journal of Botany*, 98:316–318.
14. Putievsky E., Ravid U., Diwan-Rinzler N., Zohary D., 1990. Genetic affinities and essential oil composition of *Salvia officinalis* L., *S. fruticosa* Mill., *S. tomentosa* and their hybrids, *Flavour Fragrance Journal*, 5: 121–123.
15. NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) 1997. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test; 6th ed. Approved Standard, Wayne Pa. M2-A6
16. Singh G., Maurya S., Lampasona M.P., Catalan C., 2006. Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* volatile oil and its acetone extract, *Food Control*, 17: 745–752.
17. Anwar F., Ali M., Hussain A. I., Shahid M., 2009. Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds from Pakistan, *Flavour and Fragrance Journal*, 24:170–176.
18. Curtis O. F., Shetty K., Cassagnol G., Peleg M., 1996. Comparison of synthetic and lethal effects of synthetic versions of plant metabolites (anethole, eugenol, carvacrol, thymol) on food spoilage yeast (*Debaromycesd hanenei*), *Food Biotechnology*, 10: 55–73.
19. De M., De A.K., SenP., Banerjee A. B., 2002. Antimicrobial properties of star anise (*Illicium verum* Hook f), *Phytotherapy Research*, 16: 94–95.
20. Nychas G.J.E., 1998. Natural antimicrobials from plants, *Chapman & Hall* New York.
21. Aumeeruddy-Elalfi Z., Gurib-Fakim A., MahomoodallyF. 2015. Antimicrobial, antibiotic potentiating activity and phytochemical profile of essential oils from exotic and endemic medicinal plants of Mauritius, *Industrial Crops and Products*, 71: 197–204.
22. Pesavento G. , Calónico C., Bilia A.R., Barnabei M., Calesini F., Addona R., Mencarelli L., Carmagnini L., Di Martino M.C., Lo Nostro A. 2015. Antibacterial activity of *Oregano*, *Rosmarinus* and *Thymus* essential oils against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in beef meatballs, *Food Control*, 54:188-199.
23. Walsh S.E., Maillard J.Y., Russel A.D., Catrenich C.E., Charbonneau D.L., Bartolo R.J., 2003. Activity and mechanism of action of selected biocidal agents on gram positive and negative bacteria, *Journal of Applied. Microbiology*, 94 (2): 240–247.
24. Lambert R.J.W., Skandamis P.N., Coote P., Nychas G.J.E., 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil: thymol and carvacrol, *Journal of Applied. Microbiology*, 91: 453–462.

25. Davidson P.M., 1997. Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds, pp. 520–556, In: Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers, (Eds: Doyle M.P., Beuchat L.R., Montville T.J.), ASM, Washington.

ELEKTRONİK POSTA ADRESLERİ

suleymankizil@gmail.com

vytolan@gmail.com