
Araştırma Makalesi / Research Article

***Pistacia vera* L.'nin Dış Kabuğunun Antimikrobiyal Etkisi**

Şule İNCİ*, Sevda KIRBAĞ

Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 23119 Elazığ, Türkiye
(ORCID: 0000-0002-4022-5269) (ORCID: 0000-0002-4337-8236)

Öz

Pistacia vera L. (Fıstık) çerez olarak tüketilmesinin yanı sıra birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. *P. vera*'nın antioksidan, antiinflamatuvar, hipoglisemik, antiaterojenik gibi biyolojik aktiviteleri ve içerdiği yağlarla makul miktarlarda tüketildiğinde cilt sağlığına iyi geldiği bilinmektedir. Bu çalışmada Antep fıstığı dış kırmızısı kabuğunun metanol, etanol ve hekzan gibi çözücüler kullanılarak elde edilen ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon metoduna göre tespit edilmiştir. Çalışma için *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Pseudomonas aeruginosa* DMS50071, *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603, *Escherichia coli* ATCC25322, *Bacillus subtilis* ATCC6633, *Bacillus megaterium* DSM32 ve *Staphylococcus cohnii* DSM 20260 gibi bakteriler, fungus olarak *Candida albicans* FMC17 ve *Candida glabrata* ATCC66032, dermatofitlerden *Trichophyton sp.* ve *Epidermophyton sp.* mikroorganizmaları kullanılmıştır. Sonuçta *P. vera*'nın dış kabuğunun metanol, etanol ve hekzan ekstraktları mikroorganizmaların gelişimini farklı oranlarda inhibe etmiştir (8-20 mm inhibisyon zonu). *P. vera*'nın en iyi antimikrobiyal etkiyi etanol ekstraktında gösterdiği tespit edilmiştir. Bu ekstraktın en fazla *C. glabrata*'nın gelişimini engellediği (20 mm inhibisyon zonu) belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: *Pistacia vera*, Tıbbi Bitki, Antimikrobiyal Aktivite.

Antimicrobial Effect of *Pistacia vera* L.'s Outer Shell

Abstract

Pistacia vera L. (Pistachio) is used in the treatment of many diseases as well as snacks. It is known that biological activities of *P. vera* such as antioxidant, antiinflammatory, hypoglycemic, antiatherogenic and it is good for skin health when consumed in reasonable amounts with the oils it contains. In this study, antimicrobial activity of extracts of pistachio outer reddish shell obtained by using solvents such as methanol, ethanol and hexane was determined according to disc diffusion method. For the study, bacteria such as *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Pseudomonas aeruginosa* DMS50071, *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603, *Escherichia coli* ATCC25322, *Bacillus subtilis* ATCC6633, *Bacillus megaterium* DSM32 and *Staphylococcus cohnii* DSM20260, *Candida albicans* FMC17 and *Candida glabrata* ATCC66032 as fungi, from dermatophytes, *Trichophyton sp.* and *Epidermophyton sp.* microorganisms were used. As a result, methanol, ethanol and hexane extracts of *P. vera*'s outer shell inhibited the development of microorganisms at different rates (8-20 mm inhibition zone). *P. vera* showed the best antimicrobial effect in ethanol extract. This extract was found to the most inhibit the growth of *C. glabrata* (20 mm inhibition zone).

Keywords: *Pistacia vera*, Medicinal Plant, Antimicrobial Activity.

1. Giriş

İnsanoğlu çok eski dönemlerden beri hastalıkların tedavisinde bitkilerden yararlanmışlardır. Bitkilerin kullanımı yöreden yöreye farklılık göstermekle birlikte bazıları açık yaralara lapa haline getirilip sürülmekte, bazıları ise kaynatılarak suyundan faydalanılmakta ya da direkt gıda olarak tüketilmektedir [1]. Günümüzde ise hala bitki ekstraktları doğal ilaçlar olarak tercih edilmektedir. Çünkü hastalık etmenine bağlı olarak dirençli suşlar ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle bitkilerden elde edilen preparatlar

*Sorumlu yazar: sule.inci@hotmail.com

Geliş tarihi: 14.04.2019, Kabul Tarihi: 06.08.2019

bu dirençli mikroorganizmalara karşı daha etkili olmaktadır [2]. Bu amaçla bitkiler sahip oldukları biyoaktif bileşenler sayesinde halk arasında geleneksel ilaç tedavilerinde her zaman kullanılmışlardır. Özellikle bağışıklık sistemi zayıf olan hastalarda antimikrobiyal ajan olarak tercih edilmektedirler [3].

Anacardiaceae familyasına ait olan *Pistacia* türleri tıbbi önemi olan aynı zaman da gıda olarak tüketilebilen süs bitkileridir. Antep fıstığı *Pistacia* türleri arasında yabani olmayan ve ekonomik değeri olan en önemli yenilebilir bir türdür [4]. Ülkemizde özellikle Güney Doğu Anadolu bölgesinde üretimi oldukça yaygın olmakla birlikte dünya sıralamasında önemli bir yere sahiptir [5]. Sert kabuklu olan *P. vera*'nın insan sağlığı üzerine olumlu etkileri bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda antioksidan, antimikrobiyal, antienflamatuvar, hipoglisemik, sitotoksik aktivite ve antiaterojenik gibi biyolojik aktiviteleri olduğu tespit edilmiştir [4, 6-9].

Bu çalışmada *Pistacia vera* (Antep Fıstığı)'nın dış kırmızımsı kabuğunun metanol, etanol ve hekzan gibi çözücüler kullanılarak elde edilen ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Test Mikroorganizmaları

Bu çalışmada; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* DMS 50071, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Escherichia coli* ATCC 25322, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus megaterium* DSM32 ve *Staphylococcus cohnii* DSM 20260 gibi bakteriler, fungus olarak *Candida albicans* FMC17 ve *Candida glabrata* ATCC 66032, dermatofitlerden *Trichophyton sp.* ve *Epidermophyton sp.* kullanılmıştır. Mikroorganizma kültürleri Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Mikrobiyoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonundan sağlanmıştır.

2.2. Materyalin Elde Edilmesi ve Hazırlanışı

Gaziantep Nizip ilçesinde yetişen Antep fıstığı 2018 Eylül-Ekim aylarında toplanmış ve dış kırmızımsı kabukları ayrılarak elde edilmiş ve kurutulup, değirmende toz haline getirildikten sonra 50 gr alınarak 100 ml %96'lık metanol, etanol ve hekzan solventleri kullanılarak soxhlet cihazında 7 saat süreyle özüt eldesi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra rotary evaporator kullanılarak özütlerin içinde kalan alkol 40°C'de yoğunlaştırılmıştır [10-11]. Örnekler çalışmada kullanılmak için 5 mg/ml konsantrasyonda olacak şekilde hazırlanmıştır.

2.3. Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması ve Antimikrobiyal Etkinin Test Edilmesi

Antep fıstığı dış kırmızımsı kabuğunun metanol, etanol ve hekzan çözücülerini kullanılarak elde edilen ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi disk diffüzyon metoduna göre tespit edilmiştir [12]. Bakteri suşları (*Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Pseudomonas aeruginosa* DMS50071, *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603 *Escherichia coli* ATCC25322, *Bacillus subtilis* ATCC6633, *Bacillus megaterium* DSM32 ve *Staphylococcus cohnii* DSM 20260), Nutrient Buyyon'a (Difco) aşılansak 35±1°C'de 24 saat, maya suşları (*Candida albicans* FMC17 ve *Candida glabrata* ATCC66032) Malt Ekstrakt Buyyon'da (Difco), dermatofit funguslar (*Trichophyton sp.* ve *Epidermophyton sp.*) ise Glukozlu Sabouroud Buyyon'da (Difco) 25±1°C'de 48 saat süre ile inkübe edilmiştir. Hazırlanan bakteri, maya ve fungusların buyyon'daki kültürü sırasıyla; Müeller Hinton Agar, Sabouraud Dextrose Agar ve Potato Dextrose Agar içine % 1 oranında aşılansak (10⁶ bakteri/ml, 10⁴ maya/ml, 10⁴ fungus/ml) iyice çalkalandıktan sonra 9 cm çapındaki steril petri kutularına 25 ml konularak besiyerinin homojen bir şekilde dağılması sağlanmıştır. Katılaşılan agar ortamına aseptik olarak her biri 50 µl'lik (250 µg) farklı ekstraktlar emdirilmiş olan 6 mm çapındaki antimikrobiyal diskler (Oxoid) hafifçe yerleştirildi. Bu şekilde hazırlanan petri kutuları 4°C'de 1.5-2 saat bekletildikten sonra, bakteri aşılansak plaklar 37±0.1°C'de 24 saat, maya ve dermatofit aşılansak plaklar ise 25±0.1°C'de 72 saat süre ile inkübe edilmiştir. Kontrol olarak bakteriler (Streptomisin sülfat 10 µg / disk) ve mayalar (Nystatin 30 µg / disk) için farklı standart diskler kullanılmıştır. Negatif kontrol için dimetil sülfoksit (DMSO) kullanıldı. Süre sonunda besiyeri üzerinde oluşlan inhibisyon zonları mm olarak değerlendirilmiştir. Denemeler üç tekrarlı yapılmıştır.

3. Bulgular ve Tartışma

P. vera'nın dış kırmızımsı kabuğunun metanol, etanol, hekzan ekstraktları ve kullanılan kontrol disklerin (Streptomisin, Nystatin ve DMSO) antimikrobiyal sonuçları Tablo 1'de verilmiştir. Hekzan ekstraktı; *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *B. megaterium*, *Trichophyton sp.* ve *Epidermophyton sp.*'ye karşı 8 mm, *S. cohnii* ve *C. albicans*'a karşı 9 mm zon çapı oluştururken 10 mm zon çapı ile en yüksek inhibisyon zonunu *B. subtilis*'e karşı gösterdiği görülmüştür (Tablo 1). Metanol ekstraktının bütün mikroorganizmaların gelişimini engellediği belirlenmiştir (8-13 mm). En yüksek antimikrobiyal aktiviteyi ise *B. subtilis*'e (13 mm) karşı gösterdiği tespit edilmiştir (Tablo 1). Etanol ekstraktı bütün mikroorganizmaları inhibe (8-20 mm) etmiş ve en yüksek inhibisyon zonunu 20 mm ile *C. glabrata*'ya karşı göstermiştir (Tablo 1). Streptomisin sülfat (10 µg / disk) test edilen bakterilerin gelişimini farklı oranlarda (10-18 mm inhibisyon zonu) engellemiştir (Tablo 1). Mayalar ve dermatofit funguslar için kullanılan Nystatin (30 µg / disk) mikroorganizmalara karşı farklı inhibisyon zonları (37-40 mm) oluşturmuştur (Tablo 1).

Tablo 1. *Pistacia vera*'nın dış kırmızımsı kabuğunun antimikrobiyal etkisi (inhibisyon zon çapları mm)

Mikroorganizmalar	AFK-Hekzan	AFK-Metanol	AFK-Etanol	Kontrol	DMSO
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	10	8	14	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8	9	10	14	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8	10	14	18	-
<i>Escherichia coli</i>	-	8	8	15	-
<i>Bacillus subtilis</i>	10	13	11	14	-
<i>Bacillus megaterium</i>	8	9	10	10	-
<i>Staphylococcus cohnii</i>	9	8	11	15	-
<i>Candida albicans</i>	9	11	17	38	-
<i>Candida glabrata</i>	-	8	20	40	-
<i>Trichophyton sp.</i>	8	8	9	37	-
<i>Epidermophyton sp.</i>	8	9	15	37	-

AFK-Hekzan: Antep fıstığının dış kırmızımsı kabuğunun hekzan ekstraktı; AFK-Metanol: Antep fıstığının dış kırmızımsı kabuğunun metanol ekstraktı; AFK-Etanol: Antep fıstığının dış kırmızımsı kabuğunun etanol ekstraktı; DMSO:Dimetil Sülfoksit

P. vera'nın dış kırmızımsı kabuğunun hekzan ekstraktı *E. coli*'nin gelişimini engellemezken, , metanol (8 mm) ve etanol (8 mm) ekstreleri *E. coli*'nin gelişimini inhibe etmiştir (Tablo 1). *P. vera*'nın uçucu yağlarının *E. coli*'ye karşı 2 µL konsantrasyonunda 8 mm zon çapı görülürken 4 µL'sinde 13 mm zon çapı gösterdiği rapor edilmiştir [6]. *P. vera*'nın dış kırmızımsı kabuğunun hekzan, etanol ve metanol ekstreleri *S. aureus*, *B. megaterium* ve *C. albicans*'a karşı (8-17 mm) farklı inhibisyon zonları oluşturduğu tespit edilmiştir (Tablo 1). Aynı türün uçucu yağlarının 2-4 µL konsantrasyonlarının *S. aureus*, *B. megaterium* ve *C. albicans*'a karşı (7-26 mm) antimikrobiyal aktivitelerinin olduğu yapılan çalışmada rapor edilmiştir [6]. *P. vera*'nın dış kırmızımsı kabuğunun *C. albicans*'a karşı hekzan (9mm), metanol (11mm) ve etanol (17 mm) ekstreleri antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Tablo 1). Aynı türün lipofilik özleri ile yapılan çalışmada *C. albicans* ve *C. parapsilosis*'e karşı (16 µg / ml) antifungal aktivite, *E. coli* ve *P. aeruginosa*'ya karşı ise (128-256 µg / ml) az miktarda antibakteriyel aktivite gösterdiği rapor edilmiştir [3]. *P. vera*'nın *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa*'ya karşı hekzan, metanol ve etanol ekstreleri antimikrobiyal aktivite sergilediği görülmüştür (Tablo 1). *P. lentiscus*'un *K. pneumoniae*'nin gelişimini engellediği, *P. aeruginosa*'ya karşı herhangi bir etki göstermediği rapor edilmiştir [13]. *P. integerrima*'nın sulu fraksiyonlarının *B. subtilis*'e karşı (16 mm) antibakteriyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir [14]. *P. lentiscus*'un reçinesi *H. pylori*'yi 125 µg /ml konsantrasyonda %50 inhibe ederken 500 µg / ml konsantrasyonunda %90 inhibe ettiği tespit edilmiştir [15]. Aynı türün uçucu yağlarının *S. aureus*, *E. coli* ve *B. subtilis*'in gelişimini engellediği rapor edilmiştir [16]. *P. terebinthus subsp. palestina*'nın DMSO'da çözünen ekstraktlarının *K. pneumoniae* (22 mm),

Trichophyton sp. (21 mm), *B. megaterium* (20 mm), *S. aureus* (17 mm), *E. coli* (16 m), *C. albicans* (13 mm), *C. tropicalis* (24 mm) ve *C. glabrata*'da (10 mm) yüksek bir etki gösterirken, *Epidermophyton sp.*'ye (9 mm) karşı düşük bir etki gösterdiği tespit edilmiştir [17].

4. Sonuç ve Öneriler

Enfeksiyona bağlı hastalıkların artması ve bunun sonucunda kullanılan antibiyotiklere karşı mikroorganizmaların sürekli olarak direnç göstermesi yeni ilaçların ortaya çıkmasını zorunlu kılmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda özellikle *Pistacia* türlerinin sahip olduğu zengin besinsel değerler ve biyolojik aktiviteleri bu anlamda dikkat çekmektedir. *Pistacia*'nın farklı türlerinin ve özellikle *P. vera*'nın sahip olduğu antimikrobiyal ve antioksidan etkisine bağlı olarak insan patojen mikroorganizmalara karşı iyi bir antibakteriyel ve antifungal ajan olabileceğini, bu konuda ki araştırmaların daha fazla olması gerektiğini ve özellikle deri hastalıklarında kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

Kaynaklar

- [1] Erdoğan A.E., Everest A. 2013. Antimikrobiyal Ajan Olarak Bitki Bileşenleri. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 6 (2): 27-32.
- [2] Faydaoğlu E., Sürücüoğlu M.S. 2011. Geçmişten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanılması ve Ekonomik Önemi. Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 11 (1): 52-67.
- [3] Özçelik B., Aslan M., Orhan İ., Karaoglu T. 2005. Antibacterial, antifungal, and antiviral activities of the lipophylic extracts of *Pistacia vera*. Microbiological Research, 160-159-164.
- [4] Rauf A., Patel S., Uddin G., Siddiqui B.S., Ahmad B., Muhammad N., Mabkhot Y.N., Hadda T.B. 2017. Phytochemical, ethnomedicinal uses and pharmacological profile of genus *Pistacia*. Biomedicine & Pharmacotherapy, 86: 393-404.
- [5] Çağlar A., Tomar O., Vatansever H., Ekmekçi E. 2017. Antepfıstığı (*Pistacia vera* L.) ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri. Akademik Gıda, 15 (4): 436-447.
- [6] Alma M.H., Nitz S., Kollmannsberger H., Dıgırak M., Efe F.T., Yılmaz N. 2004. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils from the Gum of Turkish *Pistachio* (*Pistacia vera* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52 (12): 3911-3914.
- [7] Orhan I., Kupeli E., Aslan M., Kartal M., Yesilada E. 2006. Bioassay-guided evaluation of anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Pistachio* (*Pistacia vera* L.). Journal of Ethnopharmacology, 105 (1-2): 235-240.
- [8] Almehdar H., Abdallah H., Osman A., Abdel-Sattar E. 2012. In vitro cytotoxic screening of selected Saudi medicinal plants. Journal of Natural Medicines, 66: 406-412.
- [9] Gentile C., Tesoriere L., Butera D., Fazzari M., Monastero M., Allegra M., Livrea M.A. 2007. Antioxidant activity of sicilian *Pistachio* (*P. vera* L. Var. Bronte) nut extract and its bioactive components. Journal of Agricultural Food Chemistry, 55: 643-648.
- [10] Khan N.H., Kamal M.S.A., Rahman M. 1988. Antibacterial activity of *Euphorbia thymifolia* Linn. Indian Journal of Medical Med Research, 87: 395-397.
- [11] Karaca O. 2010. Türkiye'de Kekik Adı İle Anılan Bitkiler Konusunda Yapılan Çalışmaların Envanteri. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 435s, Adana.
- [12] Collins C.H., Lyne P.M. 1987. Mikrobiyolojik Methots. Butter Morths and Co (Publishers) Ltd., London, 450 pp.
- [13] Mharti F.Z., Lyoussi B., Abdellaoui A. 2011. Antibacterial activity of the essential oils of *Pistacia lentiscus* used in Moroccan folkloric medicine. Natural Product Communications, 6 (10): 1505-1506.
- [14] Bibi Y., Nisa S., Chaudhary F.M., Zia M. 2011. Antibacterial activity of some selected medicinal plants of Pakistan. BMC Complementary & Alternative Medicine, 11: 52.
- [15] Marone P., Bono L., Leone E., Bona S., Carretto E., Perversi L. 2001. Bactericidal activity of *Pistacia lentiscus* mastic gum against *Helicobacter pylori*. Journal of Chemotherapy, 13 (6): 611-614.

- [16] Koutsoudaki C., Krsek M., Rodger A. 2005. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil and the gum of *Pistacia lentiscus* var. Chia. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53 (20): 7681–7685.
- [17] Erecevit P., Kırbağ S. 2017. Antimicrobial activity of some plant species used for the medical purpose in Turkey. The Journal of Phytopharmacology, 6 (2): 93-97.