

## BAZI UÇUCU YAĞLARIN ANTİBAKTERİYEL VE ANTİFUNGAL ETKİLERİ ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR

### THE INVESTIGATIONS ON THE ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL EFFECTS OF SOME VOLATILE OILS

Taner DORTUŇ\* - Adile ÇEVİKBAŞ\*\*

#### SUMMARY

In this study, essential oils of 9 plants (*Mentha piperita*, *M. spicata*, *O. onites*, *O. heracleoticum*, *S.sclarea*, *S. cryptantha*, *S. triloba*, *M. officinalis* and *L. nobilis*) were investigated for their antimicrobial activities against *B. subtilis*, *B. cereus*, *M. luteus*, *S. aureus*, *E. hirae*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *E. coli*, *A. niger*, *A. versicolor*, *A. parasiticus*, *A. fumigatus*, *A. candidus*, *A. ochraceus*, *P. chrysogenum*, *P. crustatum*, *P. aurentiogrimum*, *Fusarium* spp. and *C. chartarum*. Activities were determined by double-layer agar diffusion method. Essential oil of *O.onites* was active against all the bacteria except *P. aeruginosa* and molds tested and it displayed the highest antimicrobial activity amongst all the essential oils. Essential oil combinations of *M. piperita*, plus *M. spicata* and *O. onites* plus *O. heracleoticum* were tested against all the bacterial and mold strains to detect the interactions between the components of the essential oils.

No significant effect was observed with the first combination; however, slight increases in antimicrobial activity were detected in the second one.

Tube dilution method was used to determine the MIC and MBC/MFC values of the essential oil of *O. onites* for *B. subtilis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *A. niger*, *A. candidus*, *P. chrysogenum* and *Fusarium* spp. *P. aeruginosa* and *P. chrysogenum* were found to be the most susceptible microorganisms to the essential oil of *O. onites*.

#### ÖZET

Bu çalışmada *M. piperita*, *M. spicata*, *O. onites*, *O. heracleoticum*, *S. clarea*, *S. cryptantha*, *S. triloba*, *M. officinalis*, *L. nobilis* bitkilerine ait 9 uçucu yağın antimikrobiyal etkisi çift katlı agar difüzyon yöntemi ile; *B. subtilis*, *B. cereus*, *M. luteus*, *S. aureus*, *E. hirae*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *E. coli*, *A. niger*, *A. versicolor*,

\* Mustafa Nevzat İlaç Fabrikası, İSTANBUL.

\*\* Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Mikrobiyoloji Bilim Dah, 81010 Haydarpaşa / İSTANBUL.

*A. parasiticus*, *A. fumigatus*, *A. candidus*, *A. ochraceus*, *P. chrysogenum*, *P. crustatum*, *P. aurentiogriseum*, *Fusarium* spp. ve *C. chartarum* suşlarına karşı araştırıldı. *O. onites* uçucu yağının *P. aeruginosa* dışında diğer tüm bakteri ve küf suşlarına karşı etkili olduğu ve uçucu yağlar içinde en yüksek antimikrobiyal etkiyi gösterdiği saptandı. *M. piperita* ile *M. spicata* ve *O. onites* ile *O. heracleoticum* uçucu yağlarının kombinasyonlarının da etkisi tüm bakteri ve küf suşlarına karşı araştırıldı. Birinci kombinasyonda özel bir etki saptanmazken ikinci kombinasyonda antimikrobiyal etkide az da olsa bazı artışlar gözlemlendi.

*O. onites* uçucu yağının tüpte dilüsyon yöntemi ile, *B. subtilis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* *A. niger*, *A. candidus*, *P. chrysogenum*, *Fusarium* spp. suşlarına karşı MIK ve MBK/MFK değerleri araştırıldı. Bakteri suşları arasında *P. aeruginosa*, küf suşları içinde *P. chrysogenum*, *O. onites* uçucu yağına en duyarlı mikroorganizmalar olarak belirlendi.

## GİRİŞ

Bitkilerin, baharatın ve uçucu yağların koruyucu özellikleri olduğu, asırlardan beri bu özelliklerinden dolayı kullanıldıkları ve daha çok besinlerin kullanım sürelerinin uzatılmasında yarar sağladıkları bilinmektedir. Ancak antimikrobiyal etkinin bu koruyuculuğa neden olabileceği yakın zamanlarda düşünölmeye başlanmıştır (3, 6).

Bu çalışmada agarda diffüzyon ve tüpte dilüsyon yöntemleri kullanılarak ölkemiz florasından 8'i Labiatae, 1'i Lauraceae familyasına ait 9 bitkinin uçucu yağlarının antimikrobiyal etkileri 11 bakteri ve 12 küf suşuna karşı araştırılmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

*İncelenen uçucu yağ örnekleri* : Uçucu yağ örnekleri Anadolu Üniversitesi Tıbbi Bitkiler Araştırma Merkezi'nden temin edilmiştir ve tablo 1'de görölmektedir.

*Bakteriler* : Mustafa Nevzat İlaç Firmasının bakteri kültür koleksiyonundan sağlanan 11 bakteri suşu kullanılmıştır. Bakteriler tablo 1'de görölmektedir.

*Küf suşları* : Marmara Araştırma Enstitüsü Beslenme ve Gıda Teknolojisi Bölümünden alınmıştır. *A. parasiticus* NRRL 2999 dışında diğerleri ölkemiz gıdalarından izole edilmiştir (Aran ve Eke; Aran ve ark, 1987). Kullanılan küf türleri Tablo 2'de görölmektedir.

*Besiyerleri* : Antibakteriyel etkinin araştırılmasında Bacto antibiotic medium 1 (Difco), Bacto antibiotic medim<sub>4</sub> (Difco), Bacto triptic

soy agar (Difco), Bacto nutrient agar (Difco), Antifungal etkinin tayininde Bacto Sabouraud Dextrose agar (Difco), Bacto Sabouraud dextrose broth (Difco) kullanılmıştır.

### Antibakteriyel etkinin araştırılması

Uçucu yağların antibakteriyel ve antifungal etkisi agarda diffüzyon ve tüpte dilüsyon yöntemi ile araştırılmıştır.

*Diffüzyon yöntemi* : Her bakteri kültürü için iki paralel çalışma yapılmıştır. Antibakteriyel etkisi araştırılacak yağlar Whatman No : 1 kağıdından hazırlanan 6 mm çapındaki disklere 10 µl miktarlarda emdirilerek katı besiyerine uygulanmıştır. Bunun dışında farklı bileşikleri içeren *M. piperita* ve *M. spicata* uçucu yağları ile aynı bileşikleri değişik oranlarda içeren *O.onites* ve *O.heracleoticum* uçucu yağlarının kombinasyonları (1:1) da aynı şekilde uygulanmıştır. Kontrol olarak da sefaklor ile ampisilin steril distile suda hazırlanan 10 µg/ml konsantrasyondaki çözeltileri 10 µl kağıt disklere emdirilerek besiyerlerine uygulanmıştır.

Bir gecelik bakteri ve küf kültürlerinin bulanıklığı Mac Farland standartları no : 0,5'e göre ayarlanıp gerekli dilüsyonları yapıldıktan sonra sıra ile 0,1 ml ( $10^6$  CFU/ml) ve 1 ml ( $10^6$  CFU/ml) besiyerlerine karıştırılmıştır. Bundan sonra besiyerlerine usulüne uygun şekilde diskler yerleştirilmiştir. Bakteriler 37 °C'de 48 saat, küfler 22 °C'de 5 gün inhübe edilmişlerdir. Diskler etrafındaki inhibisyon zon çapları mm olarak ölçülmüştür.

*Tüpte dilüsyon yöntemi* : Diffüzyon yönteminde kullanılan tüm bakterilere karşı en yüksek antibakteriyel etkiyi gösteren uçucu yağın bakteri suşlarından *B. subtilis* ATCC 6633, *S. aureus* ATCC 6538 P, *P. aeruginosa* ATCC 9027 ve *E. coli* ATCC 8739 bakteri kültürlerine karşı MIK (Minimum Inhibition Concentration) ve MBK (Minimum Bactericidal Concentration) değerlerinin bulunması için tüpte dilüsyon yöntemi kullanılmıştır (14). Bu yöntemde 1 g uçucu yağ 121 °C'de 15' steril edilmiş antimikrobiyal etkisi olmayan (7) 8 g Tween 20 ile bir tüpte karıştırılarak buna 1 ml steril distile su ilave edilmiş ve girdap karıştırıcıda homojenize edilerek stok çözelti hazırlanmıştır. Stok uçucu yağın NB (Bacto nutrient Broth) besiyerinde 1/20, 1/40, 1/80, 1/60, 1/320, 1/640, 1/1280, 1/2560, 1/5120, 1/10240 ve 1/10480'lik dilüsyonları her bakteri kültürü için 2 paralel seri olarak hazırlanmış, bir gecelik bakteri kültürlerinin bulanıklığı standardize edildikten sonra dilüsyonlarının

0,1'er ml'si tüplere dağıtılmış, 37 °C'de 48 saatlik inkubasyondan sonra tüm serideki üremeler gözle değerlendirilmiş ve üremenin görülmediği tüpteki en düşük konsantrasyon MİK değerleri olarak saptanmıştır.

MBK değerlerinin bulunması amacı ile üreme gözlenen veya gözlenmeyen tüm tüplerden eğik NA (Bacto Nutrient Agar) besiyerine pasaj yapılarak tüpler 37 °C'de 48 saat inkube edilmiş ve üreme görülmeyen tüpteki en düşük konsantrasyon MBK değeri olarak bulunmuştur.

### Antifungal etkinin araştırılması

En yüksek antifungal etkiyi gösteren uçucu yağın, *A. niger* TBK-MAE 319, *A. candidus* TBK-MAE 4079, *P.chrysogenum* TBK-MAE 1327 ve *Fusarium* spp. TBK-MAE 4476 küf kültürlerine karşı MİK ve MFK (Minimum Fungicidal concentration) değerleri tüpte dilüsyon yöntemi ile araştırılmıştır. Stok çözeltisi hazırlanan uçucu yağın 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320, 1/640, 1/1280, 1/2560, 1/10240 ve 1/20480'lik dilüsyonları her küf suşu için 2 paralel seri olarak hazırlanmış, bu seriye yukarıda adı geçen ve bulanıklığı standardize edilmiş küf kültürlerinin fizyolojik tuzlu suda 1/10 oranındaki dilüsyonlarınının 0.1 ml'si tüm tüplere ilave edilerek, tüpler 22 °C'de 5 gün inkube edilmiştir. Inkubasyon süresinin sonunda tüplerdeki üremeler gözlenerek MİK değerleri bulunmuştur. MFK değerlerinin bulunması amacı ile tüm tüplerden eğik SDA besiyerine pasaj yapılmış, 22 °C'de 5 günlük inkubasyon sonunda MFK değerleri bulunmuştur.

## BULGULAR

### Antibakteriyel etki bulguları

Yukarıda anlatıldığı şekilde yapılan deneylerden elde edilen, uçucu yağlara, kombinasyonlara ve antibiyotiklere ait sonuçlar Tablo 1'de verilmiştir.

Tüm uçucu yağlar deneylerde kullanılan tüm Gram pozitif bakteri suşlarına değişen ölçülerde antibakteriyel etki gösterirken Gram negatif bakteri suşlarınının daha dirençli olduğu özellikle *P. aeruginosa* ATCC 9027, ATCC 25619 suşlarına hiç bir uçucu yağın antibakteriyel etki göstermediği saptanmıştır. *E. coli* ATCC 11229, ATCC 8739 suşlarına karşı sadece *M. spicata* O.onites ve *O. heracleoticum* uçucu yağları

Tablo - 1 : Uçucu yağların ve kombinasyonların bakteri suşlarına etkisi

## BAKTERİ SUŞLARI

| UÇUCU YAğLAR       | B. subtilis<br>ATCC 6633 | B. cereus<br>ATCC 11773 | M. luteus<br>ATCC 9341 | S. aureus<br>ATCC 6538F | E. hirae<br>ATCC 8043 | P. aeruginosa<br>ATCC 9027 | P. aeruginosa<br>ATCC 25619 | K. pneumoniae<br>ATCC 4352 | P. mirabilis<br>ATCC 14153 | E. coli<br>ATCC 11229 | E. coli<br>ATCC 6739 |
|--------------------|--------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|-----------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------|----------------------|
| M. piperita        | 12*                      | 17                      | 14                     | 12                      | 13                    | **                         | -                           | 14                         | -                          | -                     | -                    |
| M. spicata         | 12                       | 10                      | 11                     | 12                      | 11                    | -                          | -                           | 12                         | -                          | 9                     | 8                    |
| O. onites          | 45                       | 44                      | 43                     | 33                      | 27                    | -                          | -                           | 35                         | 27                         | 25                    | 22                   |
| O. heracleoticum   | 33                       | 42                      | 35                     | 16                      | 25                    | -                          | -                           | 31                         | 16                         | 18                    | 19                   |
| S. sclerea         | 12                       | 11                      | 19                     | 14                      | 15                    | -                          | -                           | -                          | -                          | -                     | -                    |
| B. cryptantha      | 9                        | 9                       | 9                      | 8                       | 8                     | -                          | -                           | 8                          | -                          | -                     | -                    |
| S. triloba         | 9                        | 8                       | 9                      | 10                      | 8                     | -                          | -                           | 8                          | -                          | -                     | -                    |
| M. officinalis     | 13                       | 12                      | 10                     | 13                      | 10                    | -                          | -                           | 11                         | 10                         | -                     | -                    |
| L. nobilis         | 9                        | 10                      | 12                     | 9                       | 9                     | -                          | -                           | 10                         | -                          | -                     | -                    |
| M. piperita 1      | 15                       | 16                      | 12                     | 15                      | 8                     | -                          | -                           | 20                         | -                          | 8                     | 10                   |
| M. spicata 1       | 1                        | 58                      | 40                     | 29                      | 25                    | -                          | -                           | 40                         | 27                         | 18                    | 16                   |
| O. onites          | 1                        | 40                      | 40                     | 29                      | 25                    | -                          | -                           | 40                         | 27                         | 18                    | 16                   |
| O. heracleoticum 1 | 1                        | -                       | 50                     | 43                      | 18                    | -                          | -                           | -                          | 34                         | 23                    | 18                   |
| Ampisilin          | 23                       | -                       | 50                     | 43                      | 18                    | -                          | -                           | -                          | 34                         | 23                    | 18                   |
| Sefaklor           | 37                       | 28                      | 50                     | 32                      | 10                    | -                          | -                           | 20                         | 27                         | 18                    | 18                   |

\* İnhibisyon zon çapı (mm)

\*\*Antibakteriyel etki yok

antibakteriyel etki gösterirken, *P. mirabilis* ATCC 14153'ün *O. onites*, *O. heracleoticum* ve *M. officinalis* uçucu yağlarından etkilendiği saptanmıştır. *K. pneumoniae* ATCC 4352 uçucu yağlardan en fazla etkilenen Gram negatif bakteri olarak belirlenmiş. *S. sclarea* uçucu yağı dışındaki tüm uçucu yağlar bu bakteriye değişen ölçülerde antibakteriyel etki göstermişlerdir. *S. sclarea* uçucu yağının hiç bir Gram negatif bakteriye karşı etki göstermediği, bunun yanında *M. piperita*, *S. cryantha*, *S. triloba* ve *L. nobilis* uçucu yağları 1, *M. officinalis* uçucu yağı 2, *M. spicata* uçucu yağının 3 gram negatif bakteriye karşı etki gösterdiği saptanmıştır.

*P. aeruginosa* suşları dışında tüm Gram negatif ve Gram pozitif bakterilere karşı *O. onites* uçucu yağı en yüksek etkiyi göstermiş, *O. heracleoticum* uçucu yağı da onun ardından diğer uçucu yağlara oranla oldukça yüksek ölçüde antibakteriyel etki göstermiştir.

*M. piperita* ve *M. spicata* ile *O. onites* ve *O. heracleoticum* uçucu yağlarının 1:1 oranındaki kombinasyonlarının etkisinin söz konusu uçucu yağların tek başına gösterdiği etkiden çok farklı olmadığı bulunmuştur. Kombinasyonların antibakteriyel etkisinin, genellikle kombinasyonlara ve daha etkili olan uçucu yağın verdiği etkiye paralel olduğu gözlenmiştir. *M. piperita* uçucu yağı, *E. coli* ATCC 11229, ATCC 8739 suşlarına etkisizken, kombinasyonun etkisinin *M. spicata* uçucu yağının söz konusu bakteri suşlarına karşı tek başına gösterdiği etkiye yakın olduğu saptanmıştır.

Deneyde kullanılan antibiyotiklerin bakteri suşlarına karşı etkileri literatür bilgileri doğrultusunda olmuştur (1, 9, 13).

### Antifungal etki bulguları

Yukarıda anlatıldığı şekilde yapılan deneylerden alınan uçucu yağlara ve kombinasyonlara ait sonuçlar Tablo 2'de görülmektedir.

Antibakteriyel etkide olduğu gibi, *O. onites* uçucu yağının tüm küf suşlarına diğer uçucu yağlardan anlamlı şekilde farklı olarak en yüksek antifungal etkiyi gösterdiği saptanmıştır. *O. onites* uçucu yağının antifungal etkisinden *A. versicolor* TBK-MAE 1624 en çok etkilenen küf olarak belirlenmiştir. Tüm uçucu yağlardan değişen ölçülerde etkilenen *P. crustatum* TBK-MAE 1962 en duyarlı suş, sadece 3 uçucu yağın antifungal etki gösterdiği *P. chrysogenum* TBK-MAE 1327 ise en dirençli suş olarak saptanmıştır. Genel olarak *salvia* cinsinin uçucu

Tablo - 2 : Uçucu yağların ve kombinasyonlarının küf suşlarına etkisi

## KÜF SUŞLARI

| UÇUCU YAĞLAR     | TBK-MAE 319 | A. Versicolor | NRRL 2999 | A. fumigatus | TBK-MAE 4079 | A. ochraceus | P. chrysogenum | P. crustatum | TBK-MAE 1962 | P. aureofulvum | TBK-MAE 4460 | Fusarium spp. | TBK-MAE 4476 | C. chararum | TBK-MAE 1V6a |
|------------------|-------------|---------------|-----------|--------------|--------------|--------------|----------------|--------------|--------------|----------------|--------------|---------------|--------------|-------------|--------------|
| M. piperita      | 8*          | 10            | -**       | 8            | 10           | 13           | -              | 11           | 11           | -              | 11           | -             | -            | -           | -            |
| M. spicata       | 12          | 13            | 12        | 18           | 30           | 10           | -              | 13           | 13           | 13             | 15           | 10            | 10           | 10          | 10           |
| O. onites        | 46          | 52            | 39        | 34           | 45           | 37           | 37             | 35           | 35           | 38             | 36           | 35            | 35           | 40          | 40           |
| O. heracleoticum | 18          | 39            | 28        | 34           | 23           | 29           | 18             | 23           | 23           | 30             | 25           | 30            | 30           | 15          | 15           |
| S. sclarea       | 11          | -             | 11        | 11           | 13           | -            | -              | 9            | 9            | 9              | -            | 8             | 8            | 13          | 13           |
| S. cryptantha    | -           | -             | -         | -            | -            | -            | -              | 9            | 9            | -              | -            | -             | -            | -           | -            |
| S. triloba       | -           | -             | -         | -            | 9            | -            | -              | 10           | 10           | 10             | -            | -             | -            | -           | -            |
| M. officinalis   | 12          | 15            | 12        | 25           | 12           | 11           | 8              | 13           | 13           | 19             | -            | 11            | 11           | 9           | 9            |
| L. nobilis       | 10          | 11            | 10        | 18           | 10           | 13           | -              | 12           | 12           | 16             | 10           | 12            | 12           | 9           | 9            |
| M. piperita 1    | 11          | 11            | 11        | 18           | 28           | 9            | -              | 9            | 9            | 12             | 12           | 9             | 9            | 9           | 9            |
| M. spicata 1     | 40          | 60            | 33        | 45           | 52           | 45           | 39             | 32           | 32           | 47             | 38           | 32            | 32           | 36          | 36           |
| O. onites        |             |               |           |              |              |              |                |              |              |                |              |               |              |             |              |
| O. heracleoticum |             |               |           |              |              |              |                |              |              |                |              |               |              |             |              |

\*: İnhibisyon zon çapı (mm)

\*\*: Antifungal etki yok

yağları en zayıf etkili uçucu yağlar olarak belirlenirken, *S. cryptantha* uçucu yağının sadece 1 küf suşuna etkili olduğu gözlenmiştir. *M. spicata*, *M. officinalis* ve *L. nobilis* uçucu yağlarının 12 küf suşundan 11'ine antifungal etki gösterdiği, özellikle *M. spicata* uçucu yağının ardından en yüksek antifungal etki gösteren uçucu yağ olarak belirlenmiştir.

*M. piperita* ve *M. spicata* uçucu yağlarının kombinasyonunun antifungal etkilerinde hiç bir önemli fark saptanmamıştır. Buna karşılık *O. onites* ile *O. heracleoticum* uçucu yağlarının kombinasyonundan elde edilen antifungal etkilerde bazı küf suşlarında, söz konusu uçucu yağların tek başına gösterdikleri etkiye oranla bir artış gözlenmiştir.

### Tüp te dilüsyon yöntemi

*Antibakteriyel etki bulguları* : Agar difüzyon yönteminde en yüksek antibakteriyel etkiyi gösteren *O. onites* uçucu yağı *B. subtilis* ATCC 6633 ve *S. aureus* ATCC 6538 P ile *P. aeruginosa* ATCC 9027 ve *E. coli* ATCC 8739 bakteri suşlarına karşı MIK ve MBK değerleri Tablo 3'de görülmektedir. Agarda difüzyon yönteminde *O. onites* uçucu yağından etkilenmeyen *P. aeruginosa* tüpte dilüsyon yönteminden bu uçucu yağa en duyarlı suş olarak bulunmuştur.

**Tablo - 3** : *O. onites* uçucu yağının MIK ve MBK'larını gösteren dilüsyonlar ve bu dilüsyonlardaki uçucu yağ konsantrasyonları

|                      | <i>B. subtilis</i> |         | <i>S. aureus</i> |         | <i>P. aeruginosa</i> |         | <i>E. coli</i> |         |
|----------------------|--------------------|---------|------------------|---------|----------------------|---------|----------------|---------|
|                      | ATCC 6633          |         | ATCC 6536P       |         | ATCC 9027            |         | ATCC 8739      |         |
|                      | MIC                | MBC     | MIC              | MBC     | MIC                  | MBC     | MIC            | MBC     |
| Dilüsyon             | 1/20               | <1/20   | 1/20             | <1/20   | 1/80                 | 1/20    | 1/20           | 1/20    |
| Uçucu yağ<br>(mg/ml) | (49.01)            | (49.01) | (49.01)          | (49.01) | (11.77)              | (49.01) | (49.01)        | (49.01) |

*Antifungal etki bulguları* : Agar difüzyon yöntemi ile en yüksek antifungal etki gösterdiği saptanan *O. onites* uçucu yağının küf suşlarına karşı gösterdiği MIK ve MFK değerleri Tablo 4'de görülmektedir.

*P. chrysogenum* küf suşunun *O. onites* uçucu yağına en duyarlı suş olduğu saptanmıştır.



Tablo - 4 : *O.onites* uçucu yağının MİK ve MFK'larını gösteren dilüsyonlar ve bu dilüsyonlardaki uçucu yağ konsantrasyonları

|                      | A.niger     |              | A.candidus   |              | P.chrysogenum |              | Fusarium spp. |              |
|----------------------|-------------|--------------|--------------|--------------|---------------|--------------|---------------|--------------|
|                      | TBK-MAE 319 | TBK-MAE 4079 | TBK-MAE 4079 | TBK-MAE 1327 | TBK-MAE 1327  | TBK-MAE 4476 | TBK-MAE 4476  | TBK-MAE 4476 |
|                      | MIC         | MBC          | MIC          | MBC          | MIC           | MBC          | MIC           | MBC          |
| Dilüsyon             | 1/40        | <1/20        | 1/20         | <1/20        | 1/80          | 1/40         | 1/20          | 1/20         |
| Uçucu yağ<br>(mg/ml) | (24.02)     | (49.01)      | (49.01)      | (49.01)      | (11.77)       | (24.02)      | (49.01)       | (49.01)      |

### TARTIŞMA

Uçucu yağların antimikrobiyal etkilerinin ölçülmesinde, uçucu yağın kendisinden, besiyerinden, test mikroorganizmalarından ve test yöntemlerinden kaynaklanan birçok güçlükler ile karşılaşıldığı bilinmektedir (5).

Uçucu yağların doğal ve uçucu bileşikler içeren ürünler oluşu, içeriklerinin her zaman aynı olmamasına neden olmaktadır. Buldukları bitkinin mevsimsel değişikliklerden, toplama zamanından etkilenmesi sonucu uçucu yağın kimyasal yapısında özellikle nicel değişiklikler olduğu bilinmektedir (10). Ayrıca çok karmaşık bir yapıya sahip olan uçucu yağların elde edilmesinden sonra bileşenlerinin kendi aralarında kolayca yapılarını değiştirmeleri, cis-trans izomerlerinin meydana gelmesi de önem taşımaktadır (4). Uçucu yağların elde edilme şekilleri de antimikrobiyal etkiden önem taşımaktadır. Örneğin, su buharı distilasyonu ile uçucu yağ ile birlikte sadece uçucu bileşiklerin elde edilebileceği düşünüldüğünden diterpen yapısındaki maddelerin uçucu olmamaları nedeniyle elde edilemeyeceği bilinmektedir (11). Oysa bu diterpen yapısındaki maddelerin de antibakteriyel etki gösterdikleri belirtilmektedir (12).

Bu çalışma su buharı distilasyonu ile elde edilen ve ana bileşenleri bilinen uçucu yağlar kullanılmıştır (2). Antibakteriyel etkinin araştırıldığı agar difüzyon yöntemi ile yapılan çalışmaların sonunda elde edilen bazı sonuçlar tartışmaya açıktır. Örneğin, p-simol'u (% 8.9) oranında içeren sadece karvakrol ve timol oranları farklı olan uçucu yağlardan *O. onites* uçucu yağı *O. heracleoticum* uçucu yağına göre daha etkili bulunmuştur. *O. onites* uçucu yağının *O. heracleoticum* uçucu

yağına oranla karvakrol'u daha az (% 74.5), ancak timol'u daha fazla (% 1.2) oranda içermesinin yüksek antibakteriyel etkiye neden olduğu söylenebilir. Bu arada timol ile karvakrol arasındaki etkileşim nedeniyle antibakteriyel etkinin artabileceği düşünüldüğünde (8) bu iki bileşiğin uçucu yağlardaki oranlarının önemli olduğu ve *O. heracleoticum* uçucu yağındaki düşük timol oranının (% 0.3) karvakrol ile etkileşmeyecek kadar düşük olması düşünülebilir. Nitekim, söz konusu bu iki uçucu yağın 1:1 kombinasyonunda bazı bakteri ve küf suşlarına karşı artan etkinin gözlenmesi iki uçucu yağın bir araya geldiğinde timol oranının artması nedeniyle etkileşimin daha fazla olduğu ihtimalini ortaya koymaktadır. Buna karşılık birbirlerinden tamamen farklı bileşikler içeren *M. piperita* ve *M. spicata* uçucu yağlarının 1:1 kombinasyonunda hiçbir artan etki gözlenmemiştir.

Agarda difüzyon ve tüpte dilüsyon yöntemleri ile yapılan çalışmalarda her zaman aynı cevabı almanın mümkün olmadığı ve agar difüzyon yönteminden zon oluşturmayan uçucu yağın aynı mikroorganizmaya tüpte dilüsyon yönteminde etki gösterdiği veya bunun tersi bir durumla karşılaşıldığı bilinmektedir (7, 14). Bu çalışmada da gerek antibakteriyel gerek antifungal etkinin araştırılmasında böyle bir durum gözlenmiştir. Antibakteriyel etkinin araştırılmasında agar difüzyon yönteminde *P. aeruginosa* ATCC 9027 suşuna hiç bir etki göstermeyen *O. onites* uçucu yağı aynı bakteri suşuna tüpte dilüsyon yönteminde etkili bulunmuştur. Antifungal etkinin araştırıldığı çalışmada da buna benzer bir durum gözlenmiş, *O. onites* uçucu yağı agar difüzyon yöntemi ile *P. chrysogenum* TBK-MAE 1327 küf suşunu *A. niger* TBK-MAE 319 ve *A. candidus* TBK-MAE 4079 küf suşlarından daha az etkilerden, tüpte dilüsyon yönteminde *P. chrysogenum* TBK-MAE 1327 suşu aynı uçucu yağa sözkonusu diğer küf suşlarından daha duyarlı bulunmuştur. Genel olarak iki yöntem ile yapılan çalışmalardan her zaman paralel sonuçlar alınmayacağı bu çalışmada da gözlenmiştir ve sonuçlar agar difüzyon yönteminde hiç etkilenmeyen veya diğerlerine oranla daha az etkilenen mikroorganizmaların tüpte dilüsyon yönteminde daha duyarlı olduklarını göstermiştir. Burada uçucu yağın katı besiyerinde difüzyon güçlüğü gösterdiği düşünülebilir ki, özellikle agar oranının yüksek olması halinde difüzyonun düşük olacağı bilinmektedir (5). Yine bilinmektedir ki uçucu yağ bileşenlerinin besiyerini teşkil eden maddeler ile etkileşmesi sonucu antimikrobiyal etki artabilmekte veya azalabilmektedir (5). Ancak bu

difüzyon güçlüğüne uçucu yağ ile besiyeri etkileşmesinin ötesinde söz konusu bakteri ve küf suşlarının kendi özelliklerinin de neden olabileceği düşünülebilir.

Antibakteriyel etkinin ölçülmesinde kullanılan mikroorganizma suşunun da önemi olduğu bilinmektedir (5). *M. piperita* uçucu yağının *P. aeruginosa* ATCC 9027 ve ATCC 25619 suşlarına agar difüzyon yönteminde hiç bir etki göstermediği saptanmıştır. Ancak bir başka çalışmada aynı uçucu yağın *P. aeruginosa* NCIB 950 suşuna karşı etki gösterdiği bildirilmektedir (3).

Sonuç olarak çalışmada kullanılan uçucu yağlar bazı bakteriler ve küf suşlarına karşı değişen ölçülerde etkili bulunmuşlardır. Özellikle çalışmada kullanılan küf suşlarının gıdalardan izole edildiği düşünüldüğünde, uçucu yağların güzel kokulu olmalarının da verdiği avantaj ile gıdaların bileşimine girerek gıdaları küflere karşı koruyabilecekleri söylenebilir.

## TEŞEKKÜR

Çalışmamızda kullanılan uçucu yağların ve mikroorganizma suşlarının temininde gösterdikleri ilgi ve kolaylıktan dolayı Sayın Prof.Dr. Kemal Hüsnü Can Başer'e (Anadolu Üniversitesi, Eskişehir), Sayın Doç.Dr. Necla Aran'a (TUBİTAK – Marmara Araştırma Enstitüsü Gebze) ve çalışmamızda değerli katkı ve eleştirilerini esirgemeyen Sayın Prof.Dr. Candan Johansson'a (M.Ü. Tıp Fakültesi, İstanbul) teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

1. Agarwal, B. N. : *Postgraduate Med. J.* , 55, 12-16 (1979).
2. Başer, K.H.C. : Anadolu Üniv. Tıbbi Bitkiler Araştırma Merkezi (kişisel görüşme).
3. Deans, S. G., Ritchie, G. : *Int. J. Food Microbiol.*, 5, 165-180 (1987).
4. Guenther, E. : *The Essential Oils*. Robert E. Krieger Publishing Comp. Malabar, Florida, 1972.
5. Janssen, A. M., Scheffer, J.J.C., Baerheim-Swendsen, A. : *Planta Medica*, 53, 395-398 (1987).
6. Karapınar, M. : *Int. J. Food Microbiol.*, 10 (3-4), 193 (1990).
7. Kivanc, M., Akgül, A. : *Flavour and Fragrance J.*, 1, 175-179 (1986).
8. Melegari, M., Albasini, A., Provvisionato, A., Bianchi, A., Vampa, G., Pecorari, P., Rinaldi, M. : *Fitoterapia*, 56, 8591 (1985).