

BAZI BAHARAT UÇUCU YAĞLARININ ÇEŞİTLİ BAKTERİLERE KARŞI ANTİMİKROBİYAL ETKİSİ

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE ESSENTIAL OILS EXTRACTED FROM SOME SPICES

Ahmet Hilmi ÇON, Ahmet AYAR, Hüsnü Yusuf GÖKALP
Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, DENİZLİ

ÖZET: Araştırmada, 6 baharattan elde edilen uçucu yağların seyreltilmeksizin ve iki farklı orandaki dilüsyonları 8 bakteri suşuna karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktivite açısından test edilmiştir. En yüksek antimikrobiyal etkiye sahip uçucu yağın kekiğe ait olduğu tespit edilmiştir. Araştırma ile antimikrobiyal etkinin bakteri türü ve uçucu yağın dilüsyon oranı ile doğrudan bağlantılı olduğu belirlenmiştir. Baharatların gıda hazırlamada kullanılan miktarları ile tek başına antimikrobiyal ajan olarak kullanılması mümkün görülmemekle birlikte, gıdaların bileşiminde bulunan veya dışarıdan eklenen ve mikrobiyal faaliyeti etkileyen diğer maddeler ile oluşturacağı kümülatif veya sinerjistik etkilerinin ilave edilecek yapay antimikrobiyal katkı maddelerinin miktarının azaltılmasında potansiyel bir özellik olabileceği düşünülmektedir.

ABSTRACT: Essential oils were obtained from 6 different spices and their antimicrobial activities were tested, directly and preparing dilutions, against 8 bacteria strains. From the results, to it was seen that thyme have the most antibacterial effect. It was also determined that antimicrobial effect is directly associated both with the bacteria species and the dilution factor of the essential oils. Therefore, it is not possible to spices directly as an antimicrobial agent with their appropriate usage level in food processing practice. But, it has been thought that together with other substances, which are existing in the composition of food and having antimicrobial activities, their cumulative and/or synergistic effects would play a role in the reduction of the addition level of the artificial preservatives.

GİRİŞ

Baharatlar ilk çağlarda özellikle et ve mamüllerinin bozulmalarının önlenmesi ve hoş olmayan kokuların maskelenmesi amacıyla kullanılmışlar ise de, son yüzyıldaki teknolojik gelişmeler ve çeşitli gıda muhafaza yöntemlerinin uygulanmaya konulması sonucu kullanımlarındaki bu amaç ikinci plana düşmüştür (Berker, 1990). Günümüzde baharatlar temel olarak, lezzeti artırmak ve ürün çeşitlendirmek amacıyla kullanılmaktadır.

İlk çağlardan beri, gıda veya gıda katkı maddesi olarak kullanılan baharatların ve bileşenlerinin var olduğu bilinen antimikrobiyal etkileri üzerinde bilimsel araştırma sonuçları 19. yüzyıldan itibaren rapor edilmeye başlanmıştır (ZAIKA, 1987). Gıdaların muhafazasında baharatların kullanımı ile ilgili olarak ilk laboratuvar çalışması ise 1911 yılında Hoffman ve ark. Evans isimli araştırmacılar tarafından yapılmıştır. Günümüzde, her ne kadar gıdalara katılan baharatlar antimikrobiyal aktivite gösterecek konsantrasyonlarda katılmıyor ise de, yine de kimyasal ve yapay koruyucuların yerine doğal koruyucuların kullanımına karşı ilginin artması, baharatların antimikrobiyal etkileri konusundaki araştırmaların yaygınlaşmasına neden olmuştur. Ayrıca fermente ürünlerin üretiminde kullanılan starter kültürlerle karşı inhibitör aktivitelerinin bilinmesi gereği de, bu araştırmaların önemini artırmaktadır. Nitekim, ZAIKA ve ark. KISSENGER (1979), ZAIKA ve ark. (1983), NES ve SKJELKVALE (1982), MIYAO (1975), PARK ve ark. (1980) ve KARAPINAR ve AKTUĞ (1986) tarafından, fermente ürünlerde kullanılan laktik asit bakterilerinin çeşitli baharatlardan etkilenimleri araştırılmıştır. Gıda maddelerinde istenilmeyen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkileri de PRUTHI (1980), AKGÜL ve KIVANÇ (1989), KIVANÇ ve AKGÜL (1989), TOPAL (1989) ve KIVANÇ ve ark. (1989) tarafından ortaya konulmuştur.

Baharatların antimikrobiyal etkileri çoğunlukla içerdikleri uçucu yağlardan kaynaklanmaktadır (AKGÜL ve KIVANÇ, 1989; AKGÜL, 1993). Bu nedenle baharatların antimikrobiyal aktivite denemelerinde; ekstraktları veya uçucu yağları kullanılmaktadır (ZAIKA, 1987; AKGÜL ve KIVANÇ, 1989).

Türkiye'de beslenme ve gıda hazırlama alışkanlıklarına bağlı olarak bazı baharatlar (örneğin; kekik, nane, kimyon ve karabiber) yaygın, diğerleri ise (yenibahar ve sirmo gibi) daha az olarak veya bölgesel olarak kullanılmaktadır. Bunlardan bir kısmının antimikrobiyal aktivitesi üzerinde çeşitli araştırmacılar tarafından araştırmalar yürütülmekle birlikte, sirmo gibi bölgesel olarak kullanılanlar hakkında bir araştırmaya rastlanılmamıştır. İlaveten, değişik iklim ve bölgelerde yetişen aynı tür bitkilerden elde edilen baharatların farklı bileşimlerde olabilecekleri de belirtilmektedir (AKGÜL ve KIVANÇ, 1989).

Bu bilgiler ışığında planlanan araştırma ile; yukarıda ismi geçen, yaygın veya bölgesel olarak kullanılan baharatlardan elde edilen uçucu yağların, çeşitli gıda zararlısı bakteriler ve starter kültürler üzerine antimikrobiyal etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

1. Baharatlar

Araştırmada, çeşitli gıda ürünlerinin hazırlanmasında yaygın olarak kullanılan 6 farklı baharat kullanılmıştır. Bunlar; kekik (yabani mercanköşk, *Origanum sp.*), yenibahar (*Pimenta dioical L.*), kimyon (*Cuminum cyminum L.*), nane (*Mentha sp.*), karabiber (*Piper nigrum L.*) ve sirmo (*Allium sp.*) olarak isimlendirilmektedir (AKGÜL ve KIVANÇ, 1989; AKGÜL, 1993; ÇAKMAKÇI ve ÇELİK, 1994). Baharatlar mümkün olduğunca taze olacak şekilde ve kekik, nane ve sirmoda yaprak diğerlerinde meyve şeklinde satın alınarak 1 mm'lik elekten geçecek tarzda öğütülmüştür.

Baharatların uçucu yağları, Clevenger düzeneği kullanılarak su distilasyonu yoluyla elde edilmiştir (AKGÜL, 1993). Antimikrobiyal aktivite araştırılmasında bu uçucu yağlar kullanılmıştır.

Bakteriler

Araştırmada, gıdalarda bozulmaya ve/veya gıda zehirlenmelerine neden olan 4 adet bakteri ile, çeşitli fermente ürünlerde starter kültür olarak kullanımı önerilen 4 adet laktik asit bakterisi (LAB) kullanılmıştır. Kullanılan bakteri türlerinden; *Listeria monocytogenes Li6*, *Staphylococcus aureus St44* ve *Lactobacillus sake Lb706*, Federal Et Araştırma Kurumu, Kulmbach, Almanya, *Micrococcus luteus NRRL B-3711*, USDA Tarımsal Araştırma Merkezi, Illinois, USA *Yersinia enterocolitica tip 103*, Refik Saydam Hıfzıssıhha Enstitüsü, Ankara'dan temin edilmiştir. Diğer 3 tür, *Pediococcus pentosaceus 416*, *Pediococcus acidilactici 419* ve *Lactobacillus plantarum 495*, ise ÇON (1995) tarafından Türk Sucuklarından izole edilen ve tanımlanan suşlardır.

Araştırmada kullanılan LAB'leri, de Man Rogosa and Sharpe (MRS, Oxoid) broth'da, diğer bakteri türleri ise, Yeast Extract (YE, Oxoid) ilaveli Tryptone Soy (TS, Oxoid) broth'da (TS+YE) 32°C'de 10⁸-10⁹ hücre içerecek şekilde çoğaltılmışlardır (ÇON, 1995).

Antimikrobiyal Aktivite Denemesi

Antimikrobiyal aktivite belirlenmesi için sıvı besiyerlerinde çoğaltılan LAB'leri MSR agar plaklarına, diğer bakteri türleri TS+YE agar plaklarına 0.1 ml inoküle edilmiş ve Drigalski Spatülü ile tüm petri yüzeyine yayılmıştır. Filtre kağıdından hazırlanan 0.5 mm çapındaki diskler, baharatlardan elde edilen uçucu yağ içerisine daldırılmış ve daha önceden inoküle edilmiş petri plağına yerleştirilmiştir. Tüm bakteri suşları için, aynı işlem, değişik baharatlardan elde edilen uçucu yağlar ve bunların farklı konsantrasyonları (1/50 ve 1/200) için ayrı ayrı 3 paralelli olarak uygulanmıştır. İnoküle edilen ve disklere yerleştirilen plaklar 32°C'de 48 saat inkübe edilmiş, inkübasyon süresi sonunda kağıt diskin çevresindeki gelişme olmayan bölgede, "inhibisyon zonu" ölçülmüş ve mm olarak kaydedilmiştir (ZAIKA, 1987; ÇON, 1995). Araştırma 2 tekerrürlü olarak yapılmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Araştırmada, 6 farklı baharattan elde edilen uçucu yağların doğrudan ve 2 farklı dilüsyon oranında, test edilen 8 adet bakteri suşuna karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktiviteleri ile ilgili bulgular Çizelge 1'de gösterilmiştir.

Çizelgeden de görüldüğü gibi, test edilen bakterilere karşı en etkili baharat kekik olmuştur. Kekik uçucu yağı, seyreltilmeksizin kullanımda, denenen tüm bakterilere karşı değişik düzeylerde olmak üzere, inhibitör aktiviteye sahip bulunmuştur. 1:50'lik konsantrasyonda yalnız 1 bakteriye (*L. plantarum* 495) inhibitör etkisiz iken, 1:200 konsantrasyonda yalnız 1 bakteriye (*L. plantarum* 495) inhibitör etkisiz 1:200 konsantrasyonda 7 bakteriye karşı inhibitör etkisiz bulunmuştur. Tüm bu verilerden, inhibitör etkinin konsantrasyon ile doğrudan bağlantılı olduğu, bu baharata karşı en hassas bakteri türlerinin de *M. luteus* NRRL B-3711 ve *L. monocytogenes* Li6 olduğu görülmüştür. AKGÜL ve KIVANÇ da (1989) çeşitli baharat uçucu yağlarının bazı bakterilere karşı inhibitör etkisini araştırdıkları çalışma sonucunda kekiki en etkili baharat olarak tanımlamışlardır.

Çizelge 1. Çeşitli Baharat Uçucu Yağlarının Farklı Konsantrasyonlarının Bazı Bakterilere Karşı Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

| Bahteri Suşları | Dilüsyon Oranı | Baharatlar | | | | | |
|--|----------------|------------|-----------|--------|------|-------|-----------|
| | | Kekik | Yenibahar | Kimyon | Nane | Sirmo | Karabiber |
| <i>Staphylococcus aureus</i> St44 | Uçucu Yağ | ++ | ++ | ++ | + | - | - |
| | 1/50 | + | + | + | - | - | - |
| | 1/200 | - | - | - | - | - | - |
| <i>Yersinia enterocolitica</i> tip 103 | Uçucu Yağ | +++ | ++ | +++ | ++ | - | - |
| | 1/50 | ++ | - | + | + | - | - |
| | 1/200 | - | - | - | - | - | - |
| <i>Micrococcus luteus</i> NRRL B-3711 | Uçucu Yağ | +++ | +++ | ++ | + | - | - |
| | 1/50 | +++ | +++ | + | - | - | - |
| | 1/200 | - | - | - | - | - | - |
| <i>Listeria monocytogenes</i> Li6 | Uçucu Yağ | +++ | ++ | ++ | + | - | - |
| | 1/50 | +++ | + | - | - | - | - |
| | 1/200 | - | - | - | - | - | - |
| <i>Pediococcus pentosaceus</i> 416 | Uçucu Yağ | ++ | + | + | + | + | + |
| | 1/50 | + | + | - | + | - | - |
| | 1/200 | + | + | - | + | - | - |
| <i>Pediococcus acidilactici</i> 419 | Uçucu Yağ | ++ | + | + | - | + | - |
| | 1/50 | + | - | - | - | - | - |
| | 1/200 | - | - | - | - | - | - |
| <i>Lactobacillus plantarum</i> 495 | Uçucu Yağ | + | + | + | + | + | - |
| | 1/50 | - | + | - | - | - | - |
| | 1/200 | - | - | - | - | - | - |
| <i>Lactobacillus sake</i> Lb 706 | Uçucu Yağ | ++ | + | + | + | + | - |
| | 1/50 | ++ | + | - | - | - | - |
| | 1/200 | - | - | - | - | - | - |

-: <0.5 mm (inhibitör etkisiz), +: 0.5-1.0 mm (zayıf), ++: 1.1-2.0 mm (orta), +++: >2.1 mm (yüksek inhibitör etkili)

Yenibahar, denenen bakterilere karşı inhibitör aktivitenin yükseliği yönünden kekikten sonra ikinci sırayı almıştır. Bu baharat uçucu yağı da, seyreltilmeksizin tüm bakterilere karşı, kekike oranla daha düşük düzeyde olmakla birlikte, inhibitör aktivite göstermiştir. 1:50'lik konsantrasyonda 2, 1:200'lük konsantrasyonda da 7 adet bakteriye karşı inhibitör etkisiz bulunmuştur. Bu baharata karşı da yine en hassas suş *M. luteus NRRL B-3711* olarak belirlenmiştir (Çizelge 1).

Kimyon da, denenen bakterilere karşı, yenibaharda elde edilen sonuçlara yakın inhibitör aktivite göstermiştir. Yine seyreltilmeksizin, tüm bakterilere karşı inhibitör aktivite göstermiştir. 1:50'lik konsantrasyonda 3 bakteriye karşı inhibitör etki gösterir iken, 1:200'lük konsantrasyonda denenen tüm bakterilere karşı inhibitör etkisiz olarak belirlenmiştir. *Y. enterocolitica* tip 103 bu baharata karşı en hassas suş olarak belirlenmiştir (Çizelge 1). AKGÜL ve KIVANÇ (1989) tarafından yapılan bir araştırmada da kimyonun bazı bakterilerin gelişimini inhibe ettiği belirlenmiştir.

Çizelge 1'de verildiği gibi, nane uçucu yağının seyreltilmeksizin denenen bakterilerin 7 adedi, 1:50'lik konsantrasyonda 2 adedi ve 1:200'lük konsantrasyonda da yalnızca 1 adedine karşı inhibitör etki gösterdiği saptanmıştır. Araştırmada naneye karşı en hassa suşun, yine, *Y. enterocolitica* tip 103 olduğu belirlenmiştir.

Araştırmada denenen diğer iki baharatın (karabiber ve sirmo) uçucu yağları ise, oldukça zayıf inhibitör etkili olarak tespit edilmiştir. Bunlardan sirmo, yalnızca seyreltilmeksizin, denemede 4 adet bakteriye karşı, karabiber de yine seyreltilmeksizin, yalnızca 1 bakteriye karşı inhibitör etkili olarak saptanmıştır.

Araştırmada, çeşitli araştırma sonuçlarına (KIVANÇ ve AKGÜL, 1986; AKGÜL ve KIVANÇ, 1989) benzer şekilde inhibitör etkisi en yüksek uçucu yağ olarak tespit edilen kekiğin bu özelliğinin uçucu yağının ana bileşenlerinden olan timol ve karvakrolden kaynaklandığı belirtilmektedir (PRUTHI, 1980; KIVANÇ ve ark., 1989). Yine yenibaharın içerdiği başlıca uçucu yağ bileşenleri olan öjenol ve metilöjenol, kimyonun içerdiği kuminaldehit ve nanenin içerdiği mentol ve mentonun da antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu ileri sürülmektedir (KIVANÇ ve ark., 1989; AKGÜL, 1993). Bu bulgular, bu araştırma sonuçları ile paralellik göstermektedir.

Görüldüğü ki çeşitli baharatların değişik bakterilere karşı antibakteriyel etkisi farklı olmaktadır. Araştırmada kullanılan gıda zararlısı ve/veya patojeni 4 adet bakteriden *Y. enterocolitica* tip 103 ve *M. luteus NRRL B-3711* daha hassas suşlar olarak belirlenmiştir. Bazı fermente gıdalarda starter kültür olarak kullanılan ve araştırmada denemeye alınan 4 farklı LAB ise baharatların hemen tümünden ancak, daha az oranda etkilenmişlerdir. Zaika ve ark. (1983) kekiğin, ZAIKA ve KISSINGER'de (1984) karabiberin zayıf da olsa LAB'i inhibe ettiğini rapor etmişlerdir. Ancak çoğu baharatın laktik asit üretimi üzerine etkisi ise, bu çoğalma inhibisyonunun aksine genelde sitümlatif olarak belirlenmiştir (KARAPINAR ve AKTUĞ, 1986).

Sonuç olarak, bazı baharat ekstraktlarının bakteriler üzerinde besiyeri ortamında önemli inhibitör etkilerinin olduğu bu araştırma sonuçları ile de ortaya konulmuştur. Ancak, inhibitör etkinin, baharat uçucu yağların da dahi 1:50'lik dilüsyonlarda azaldığı, 1:200'lük dilüsyonlarda ise yalnızca bazılarında ve zayıf olarak tespit edilebildiği saptanmıştır. Bu durumda, adı geçen baharatların gıdanın aromasını olumsuz etkilemeksizin, tek başına antimikrobiyal ajan olarak kullanılması mümkün görülmemektedir. Bununla birlikte, kekik, yenibahar, kimyon gibi baharatların, özellikle gıdaların hazırlanmasında kullanılan tuz ve gıdaların bileşimlerinde bulunan veya katılan çeşitli organik asitler ile oluşturacağı kümülatif veya sinerjistik etkilerinin, eklenilecek yapay antimikrobiyal katkı maddesi miktarını azaltabileceği düşünülmektedir. Son yıllarda, tüketicinin yapay katkı maddelerine karşı takındığı olumsuz tavır dikkate alındığında, baharatların bu antimikrobiyal etkisinin dikkate değer bir potansiyel özellik olduğu üzerinde de durulmalıdır.

KAYNAKLAR

- AKGÜL, A. KIVANÇ, M., 1989, Baharatlar, Sorbik Asit ve Sodyum Klorürün Antibakteriyel Etkileri, Doğa Türk Tar. ve Or. Derg. 13; 1-9.
- AKGÜL, A., 1993, Baharat Bilimi ve Teknolojisi. Gıda Teknolojisi Derneği Yayın No:15, Ankara, s. 451.
- BERKER, A., 1990, Bursa Bölgesinde Piyasada Satılan ve Sucuk İmalathanelerinde Kullanılan Baharatların Mikrobiyolojik Kaliteleri. Uludağ Üni. Vet. Fak. Derg. 1-2-3; 1-6.
- ÇAKMAKÇI, S. ÇELİK, I., 1994, Gıda Katkı Maddeleri. Atatürk Üni. Ziraat Fak. Ders Notu: 164, Zir. Fak. Ofset Tesisi, Erzurum, s. 249.
- ÇON, A.H. 1995, Sucuktan Bakteriosin Benzeri Antimikrobiyal Metabolit Üreten Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu ve İdenifikasyonu ve Çeşitli Gıda Zararlısı ve/veya Gıda Kaynaklı Patojen Bakterilere Karşı Antagonistik Aktivite Araştırılması. (Doktora Tezi.) Atatürk Üni., Fen Bilimleri Enst., Gıda Müh. Anabilim Dalı, Erzurum, s. 78.

- HOFFMAN, C., AVANS, A.C., 1911, The Use of Spices as Preservatives. In: Zaika, L.L., 1987, Spices and Herbs: Their Antimicrobial Activity and Its Determination. J. Food Safety 9; 97-118.
- KARAPINAR, M. ve AKTUĞ, Ş.E., 1986. Baharatların Laktik Asit Bakterilerinin Üremesi ve Laktik Asit Oluşturması Üzerine İnhibitif ve Stimülatif Etkileri. E.Ü. Müh. Fak. Derg., Seri: B Gıda Müh., 4; 79-87.
- KIVANÇ, M., AKGÜL, A., 1989, Inhibitory Effects of Spice Essential Oils on Yeast. Doğa Tu Agri. and Forest. 13; 68-72.
- KIVANÇ, M., AKGÜL, A., DOĞAN, A., 1989, Uçucu Yağ Bileşenlerinin Mayaların Gelişmesine Etkisi. Bursa I. Uluslararası Gıda Sempozyumu Bildiri Kitapçığı, 463-471.
- MIYAO, S., 1975. Inhibitory Effects of Ethanol Extracts of Mace and Eugenol on the Growth of Microorganisms Isolated from Vienne Sausages. In: Karapınar, M. ve Aktuğ, Ş.E., 1986, Baharatların Laktik Asit Bakterilerinin Üremesi ve Laktik Asit Oluşturması Üzerine İnhibitif ve Stimülatif Etkileri. E.Ü. Müh. Fak. Derg., Seri: B Gıda Müh., 4:79-87.
- NES, I.F., SKJELKVALE R., 1982, Effect of Natural Spices and Oleoresins on Lactobacillus Plantarum in the Fermentation on Dry Sausage. J. Food Sci. 47; 1618-1629.
- PARK, S.Y., YUN, Y.H., KIM, H.U., 1980. Studies on the Effects of Several Spices on the Growth of Lactobacillus casei YIT 9018. In: Zaika, L.L., Kissinger, J.C. and Wasserman A.E., 1983. Inhibition of Lactic Acid Bacteria by Herbs. J. Food. Sci. 48; 1455-1459.
- PRUTHI, J.C., 1980, Spices and Condiments: Chemistry, Microbiology, Technology. In: Akgül, A. ve Kıvanç, M., 1989, Baharatlar, Sorbik Asit ve Sodyum Klorürün Antibakteriyal Etkileri. Doğa Türk Tar. ve Or. Derg. 13; 1-9.
- TOPAL, Ş., 1989, Sarmısak ve Soğanın Antimikrobiyal Etkileri Üzerinde Araştırmalar. Bursa I. Uluslararası Gıda Sempozyumu Bildiri Kitapçığı, s.450-461.
- ZAIKA, L.L., KISSENGER, J.C., 1979, Effects of Some Spices on Lactic Acid Production by Starter Cultures. J. Food Protect. 42; 572-576.
- ZAIKA, L.L., KISSENGER, J.C., 1984, Fermentation Enhancement by Spices: Identification of Active Component. J. Food Sci. 49; 5-9.
- ZAIKA, L.L., 1987, Spices and Herbs: Their Antimicrobial Activity and Its Determination. J. Food Safety 9; 97-118.
- ZAIKA, L.L., KISSINGER, J.C., WASSERMAN A.E., 1983, Inhibition of Lactic Acid Bacteria by Herbs. J. Food. Sci. 48; 1455-1459.