

Gizem GÜLHAN^{1*}, Nazlı SARIKAHYA², Duygu KIŞLA¹

¹Ege Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir

²Ege Üniversitesi, Kimya Bölümü, İzmir

*gizemgulhan@outlook.com

Bu çalışmada Tetra bitkisinin etanol, etanol-su (60:40) ve su ekstraktlarının test mikroorganizmalarına karşı (*Salmonella Typhimurium* CCM 5445, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Listeria monocytogenes* Scott A, *Escherichia coli* DSM 1103, *Candida albicans* ATCC 10239, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus niger*, *Penicillium nigricans*) antimikrobiyel aktivitesi araştırılmıştır. Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) değerleri sırası ile 4,69-150 mg/ml ve 37,50-300 mg/ml aralığında bulunmuştur. Minimum fungisidal konsantrasyonu (MFK) değeri ise 75 mg/ml olarak belirlenmiştir. Bu çalışma, kimyasal dezenfektanlara alternatif olarak, Tetra bitkisi ekstraktlarını içeren, çevre dostu dezenfektanların üretim potansiyelinin bulunduğunu göstermiştir.

1. GİRİŞ

Bitkiler, yüzyıllardan beri geleneksel tıpta, insanların sağlık sorunlarında kullanım kaynağı olmakla birlikte farmakoloji alanında da önem taşımaktadır. Şimdiye kadar birçok bitki türü incelenmiş ve bunların antimikrobiyel, antiinflamatuvar, antioksidan, antimutajenik ve kanseri önleyici etkileri tanımlanmıştır. Bitkilerin antimikrobiyel aktivitesinden sorumlu tutulan fenolik bileşikler ile alkaloid ve terpenoidlerin antimikrobiyel etkileri membran parçalama, hücre duvarı ve DNA'ya etki etme, proteinleri bağlama gibi mekanizmalarla gerçekleşmektedir. Anacardiaceae üyesi olan *Cotinus*, dünya çapında sekiz türü olan ve Türkiye'de yetişen türü *Cotinus coggygia* Scop. olarak isimlendirilen bir bitkidir. Türkiye'de Tetra, Duman Ağacı isimleriyle bilinen *Cotinus coggygia* Scop. Güney Avrupa, Akdeniz, Moldova ve Kafkasya'dan, Orta Çin ve Himalayalara kadar geniş bir dağılım göstermektedir. Bu çalışmada Tetra bitkisinin etanol, etanol-su (60:40) ve su ekstraktlarının test mikroorganizmalarına karşı (*Salmonella Typhimurium* CCM 5445, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Listeria monocytogenes* Scott A, *Escherichia coli* DSM 1103, *Candida albicans* ATCC 10239, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus niger*, *Penicillium nigricans*) antimikrobiyel aktiviteleri belirlenmiştir.



Resim I ve Resim II: Yılın farklı dönemlerinde Tetra bitkileri

2. MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışmada Tekirdağ'ın Muratlı ilçesinden 2019 Eylül – 2019 Ekim dönemlerinde toplanan Tetra bitkisinin dalları kullanılmıştır. Dallar toplandıktan sonra kuru, serin ve gölge bir ortamda kurutulmuş, ardından sanayi tipi öğütücüde (Yazıcılar G1, Türkiye) küçük parçalar haline getirilmiştir.

Çalışmada kullanılan kültürler Ege Üniversitesi, Mühendislik fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Gıda Mikrobiyolojisi Laboratuvarına ait kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.



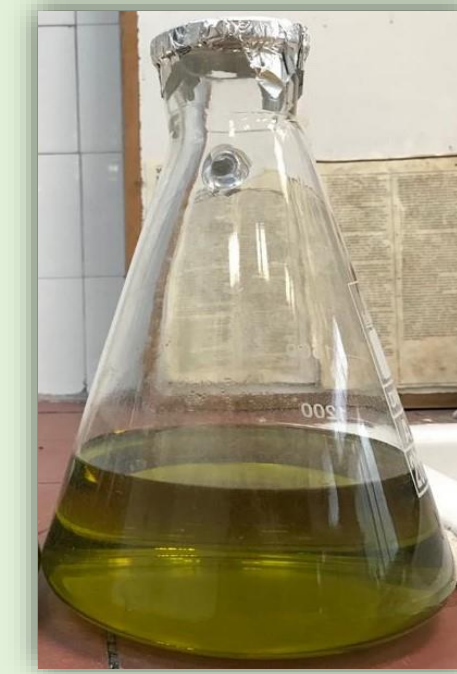
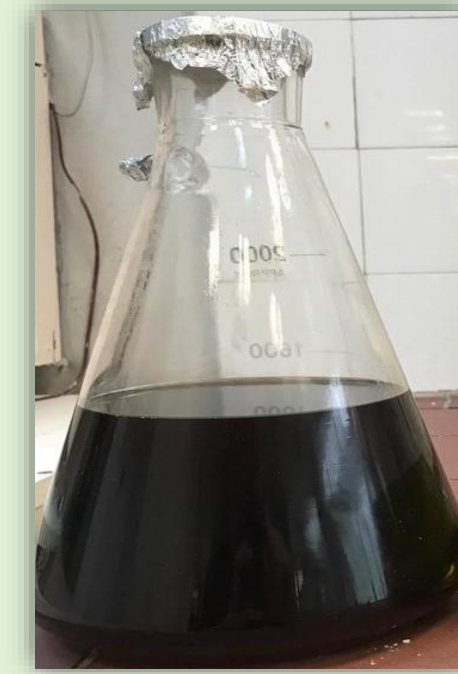
Resim III: Tetra dallarının öğütülme işlemi

Resim IV: Öğütülmüş Tetra dalları

2.1. TETRA EKSTRAKTLARININ HAZIRLANMASI

Ekstraktlar, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü'nde hazırlanmıştır.

- Üç farklı çözgen olarak etanol (%96), etanol-su (60:40) ve su kullanılmıştır. Ekstraksiyon işlemi her öğütülmüş bitki (500 gr) – çözgen karışımı dörder gece meserasyona tabi tutulmuştur (Sarıkahya, 2014).
- Her bir ekstraksiyon sırasında, 12 saat beklendikten sonra özel emülsifiyerde 12 saat boyunca aralıklarla karıştırma işlemi gerçekleştirilmiştir.
- Karıştırma işleminin ardından önce vakumda süzme, sonrasında bitki partiküllerinin hiç kalmaması için daha sıkı porlu süzgeç kağıtları (2-3 µm, Sartorius, Almanya) kullanılarak ikinci bir süzme yapılmıştır.
- Elde edilen süzüntüler birleştirilerek 40°C'yi geçmeyecek şekilde evaporatörde uçurularak ekstraktlar elde edilmiştir. Son olarak elde edilen üç ayrı ekstrakt liyofilize edilerek tartım alınmış ve kuru bitkiye göre yüzde verim hesaplanmıştır.



Resim VI: Tetra etanol-su ekstraktı

Resim V: Tetra etanol ekstraktı

Resim VII: Tetra su ekstraktı

Tablo 1: Tetra bitkisi ekstraktlarının verim değerleri

Ekstrakt verimi	Etanol	Etanol-su	Su
	%6,12	%11,61	%4,98

2.2 MİK, MBK VE MFK TESTLERİ

Tetra bitkisinin dallarından elde edilen ekstraktların bakterisi (*Salmonella Typhimurium* CCM 5445, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Listeria monocytogenes* Scott A, *Escherichia coli* DSM 1103) ve maya kültürleri (*Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans* ATCC 10239) üzerine antimikrobiyel etkinliğini belirlemek için mikrodilüsyon yöntemi (U tabanlı 96 kuyucuklu mikropatleler ile) kullanılmıştır (CLSI, 2012). Küf kültürleri için makrodilüsyon yöntemi (ependorf tüpleri ile) uygulanmıştır (Manso vd., 2013). Tetra bitkisinin etanol ve etanol-su ekstraktları %6'lık etanolde, su ekstraktı ise saf suda çözülerek şırınga filtrasyon (0,45 µm, Sartorius, Almanya) ile sterilize edilmiştir. Ekstrakt konsantrasyonları ilk kuyucukta/tüpte 300 mg/ml'ye ayarlanmıştır. Bakteri ve maya kültürleri 0,5 McFarland'a ayarlanmış ve kültür süspansiyonları hazırlanmıştır. Küf kültürleri ise Thoma lamı kullanılarak hazırlanmıştır. Bakteri ve maya kültürleri sırasıyla 10⁵ kob/kuyucuk ve 10⁴ kob/kuyucuk olacak şekilde ayarlanmıştır (CLSI, 2012; EUCAST, 2017). Küf kültürleri ise 10³ spor/ependorf tüp olacak şekilde ayarlanmıştır (Manso vd., 2013). MBK ve MFK değerlerinin belirlenmesi için, MİK değeri olarak belirlenen kuyucuk/tüp ve bir önceki kuyucuktan/tüpten, besiyeri içeren petrilere çizim yöntemi ile ekim yapılarak inkübe edilmiştir.

3. SONUÇLAR

Tetra bitkisinin etanol ve etanol-su ekstraktlarının en yüksek inhibe edici aktiviteyi *Salmonella Typhimurium* CCM 5445 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 bakterileri üzerinde gösterdiği gözlemlenmiştir ve MİK değeri her iki ekstrakt için de 4,69 mg/ml olarak belirlenmiştir. Su ekstraktı ise en yüksek inhibe edici aktiviteyi *Salmonella Typhimurium* CCM 5445 bakterisi üzerinde göstermiştir ve MİK değeri 18,75 mg/ml olarak belirlenmiştir. Diğer yandan etanol ve su ekstraktlarının tüm bakteriler üzerinde bakterisidal aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir (Tablo 2).

Bununla birlikte etanol ve etanol-su ekstraktları maya kültürlerinden *Saccharomyces cerevisiae*'ye karşı en yüksek inhibe edici aktivite göstermiştir ve MİK değeri 18,75 mg/ml olarak belirlenmiştir.

Etanol, etanol-su ve su ekstraktlarının küf kültürlerinden yalnızca *Penicillium nigricans* üzerinde antifungal aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir ve MİK değerleri sırası ile 75, 75 ve 150 mg/ml olarak belirlenmiştir.

Bu çalışma, Tetra bitkisi ekstraktlarını içeren, kalıntı bırakmayan ve çevre dostu dezenfektanların üretim potansiyelinin bulunduğunu göstermiştir.

Tablo 2: Tetra bitkisi ekstraktlarının MİK, MBK ve MFK değerleri

Mikroorganizmalar	MİK/MBK-MFK değerleri (mg/ml)		
	Etanol	Etanol-su	Su
<i>Salmonella Typhimurium</i> CCM 5445	4,69/300	4,69/-	18,75/300
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	4,69/150	4,69/37,5	75/150
<i>Listeria monocytogenes</i> Scott A	4,69/300	9,38/150	37,5/300
<i>Escherichia coli</i> DSM 1103	18,75/300	18,75/37,5	37,5/300
<i>Candida albicans</i> ATCC 10239	150/-	75/-	300/-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	18,75/18,75	18,75/18,75	300/-
<i>Aspergillus niger</i>	-/-	-/-	-/-
<i>Penicillium nigricans</i>	75/75	75/75	150/-

- : Değer belirlenmedi

KAYNAKLAR

- CLSI. 2012. "Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard—ninth edition". CLSI document M07-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Manso, S., Cacho-Nerin, F., Becerril, R., Nerín, C. 2013. "Combined analytical and microbiological tools to study the effect on *Aspergillus flavus* of cinnamon essential oil contained in food packaging", Food Control, 30(2), 370-378.
- Sarıkahya, N. B. 2014. "Aristatosides AC, hederagenin-type triterpene saponins from *Cephalaria aristata*", Phytochemistry Letters, 8, 149-155.
- Rodriguez-Tudela, J. L., Arendrup, M. C., Barchiesi, F., Bille, J., Chryssanthou, E., Cuenca-Estrella, M., ... Verweij, P. 2008. "EUCAST Definitive Document EDef 7.1: method for the determination of broth dilution MICs of antifungal agents for fermentative yeasts", Clinical Microbiology and Infection, 14(4), 398-405.