



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GIDALARDAN BULAŞABİLEN BAĞIRSAK PATOJENİ
BAKTERİLERİN GELİŞMESİNE BAZI BAHARATLARIN
ETKİLERİ**

109741

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

AYŞEGÜL YILDIRIM

109741

YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

BURSA-2001


T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

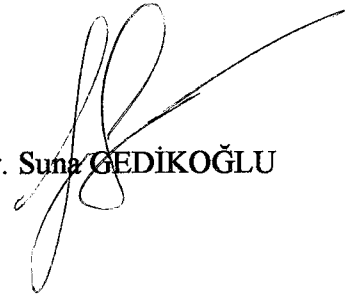
***GIDALARDAN BULAŞABİLEN BAĞIRSAK PATOJENİ
BAKTERİLERİN GELİŞMESİNE BAZI BAHARATLARIN
ETKİLERİ***

YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Bu Tez Uludağ Üniversitesi Araştırma Fonu Tarafından
Desteklenmiştir.

Bu tez 24 TEMMUZ 2001 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği/oy çokluğu ile
kabul edilmiştir.


Prof. Dr. İsmet ŞAHİN
(Danışman)


Prof. Dr. Suna GEDİKOĞLU



Yrd. Doç. Dr. Mihriban KORUKLUOĞLU

ÖZET

Çok eski çağlardan başlayarak, insanlar tarafından gıda katkısı olarak kullanılan baharatların antioksidan ve mikroorganizmalara karşı koruyucu etkileri belirlenmiştir. Buna rağmen baharatlar gıdalarda dayanıklılığı artırmaktan çok, lezzet kazandırmak amacıyla kullanılmıştır. Ancak son yıllarda beslenme bilincinin gelişmesi sonucu yapay gıda katkıları yerine, dayanıklılık kazandırmak için de doğal koruyucuların kullanılmasına yönelmesi dikkatleri yeniden baharatların bu etkisine çekmiştir. Bu yeni eğilim sonucu baharatların antimikrobiyal etkileri üzerinde yapılan araştırmalarda daha çok su dışındaki çözücülerle elde edilen özütler, hatta tümünden arıtılmış bazı bileşenlerle çalışılmıştır. Bu araştırmada baharatların ya doğrudan kendi öz suları veya sulu özütleri kullanılarak gıdalardaki uygulamaya bağlı kalınması amaçlanmıştır. Bu amaçla gıdalarda yaygın kullanımı olan, kekik, nane, hardal, sarımsak, soğan, taze acı biber, pul biber (isot), rezene, anason, kimyon ve kantaron materyal olarak seçilmiş ve bunların bağırsak kaynaklı patojenler olan *Salmonella Typhimurium*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Listeria monocytogenes* ve *Yersinia enterocolitica* üzerine etkileri araştırılmıştır.

Araştırmada tüp seyreltme ve disk difüzyon yöntemleri uygulanmış ve bu iki yöntem bulgularının örtüşmedikleri saptanmıştır. Tüp seyreltme yöntemine göre engelleyici etkinin, baharat çeşidine, derişimine ve etki süresine bağlı olarak değiştiği belirlenmiştir. Her iki yöntemle elde edilen bulgulardan sarımsağın test materyali tüm bakteri türlerinin gelişmesini engelleyici etkiye sahip olduğu anlaşılmıştır. Araştırma materyali bakteriler arasında, kullanılan baharatlara en duyarlı türün *Yersinia enterocolitica*, baharatlara en dayanıklı türün ise *Salmonella Typhimurium* olduğu saptanmıştır.

Anahtar sözcükler: Baharat, bağırsak patojenleri, bakteri, engelleyici etki.

ABSTRACT

Although spices, which have been used as food additives from ancient times, are well known for their preservative and antioxidant properties. But they are currently used with the primary purpose of enhancing the flavour of foods rather than extending shelf life. However, the preservative action of spices has recently gained great attention and a trend has been observed using natural substances rather than synthetic food additives. Being inspired of this, many previous studies dealt with the antimicrobial activities of solvent extractives or totally purified compounds of spices. Present work dealt with the antibacterial effects of saps or water extractives of spices and aimed to be affiliated with normal food processes. So different spices, (thyme, mint, mustard, garlic, onion, fresh cayenne pepper, dried cayenne pepper, fennel, anise, cumin and centaury) which are frequently used in foods selected as research materials and their antibacterial effects on 5 different intestine pathogens (*Salmonella Typhimurium*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Listeria monocytogenes* and *Yersinia enterocolitica*) were evaluated.

Two different methods (disc diffusion and minimum inhibitory concentration methods) were used for the evaluation of antibacterial activity, but it was determined that results of this methods were not matching with each other. According to minimum inhibitory concentration method results, inhibitory effect varied with the types and concentrations of spices and interaction periods. Results obtained from both methods showed that, garlic inhibited the growth of all test microorganisms. Among all the bacteria tested, *Yersinia enterocolitica* was the most sensitive and *Salmonella Typhimurium* was the most resistant one.

Key words: Spice, intestine pathogens, bacteria, inhibitory effect.

İÇİNDEKİLER

BÖLÜM	SAYFA
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	3
2.1. Baharatlardaki Aktif Antimikrobiyal Bileşikler.....	4
2.2. Antimikrobiyal Etkiye Sahip Baharatlar ve Etki Mekanizmaları.....	7
2.3 . Baharatların Antimikrobiyal Etkileri.....	9
2.4 . Baharatların Değişik Gruptan Mikroorganizmalar Üzerine Etkileri.....	11
2.4.1. Baharatların Laktik Asit Bakterileri Üzerine Etkileri.....	11
2.4.2. Baharatların Mayalar Üzerine Etkisi.....	11
2.4.3. Baharatların Küfler Üzerine Etkileri.....	13
2.4.4. Baharatların Patojen Bakteriler Üzerine Etkileri.....	15
2.5. Araştırma Materyali Patojenlerle İlgili Kaynak Bilgileri.....	18
2.5.1. Salmonella Typhimurium.....	18
2.5.2. Escherichia coli.....	20
2.5.3. Listeria monocytogenes.....	23
2.5.4. Yersinia enterocolitica.....	25
2.5.5. Enterobacter aerogenes.....	27
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	28
3.1. Materyal.....	28
3.2. Yöntem.....	28
3.2.1. Baharat Özütlerinin Hazırlanması.....	28
3.2.2. Disk Difüzyon Yönteminde Kullanılan Disklerin Hazırlanması.....	31
3.2.3. Baharatların Deney Mikroorganizmaları Üzerine Etkisinin Saptanması.....	31
3.2.3.1. Tüp Seyreltme Yöntemi (En Düşük Engelleyici Doz Yöntemi).....	31
3.2.3.2. Disk Difüzyon Yöntemi.....	32
4. BULGULAR.....	33
4.1. Tüp Seyreltme Yöntemi Bulguları.....	33

4.1.1. <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028.....	33
4.1.2. <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218.....	34
4.1.3. <i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC CCM 5445.....	35
4.1.4. <i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644.....	37
4.1.5. <i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC 9610.....	39
4.2. Disk Difüzyon Yöntemi Uygulamasına Ait Bulgular.....	42
5. TARTIŞMA.....	47
6. SONUÇ.....	50
7. KAYNAKLAR.....	52
8. TEŞEKKÜR.....	56
9. ÖZGEÇMİŞ.....	57



ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1. Antimikrobiyal etkiye sahip lezzet verici bitkiler.....	3
Çizelge 2.2. Bazı baharatlar ve uçucu yağ içerikleri ile etkin bileşenleri.....	4
Çizelge 2.3. Öğütülmüş baharatlar veya özütlerinin antimikrobiyal etkileri.....	9
Çizelge 2.4. Baharat kaynaklı 17 bileşiğin <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> ve <i>Fusarium</i> türleri üzerine etkileri.....	14
Çizelge 2.5. İnsan ve insan dışındaki kaynaklardan izole edilen <i>Salmonella</i> serotipleri ve izolasyon oranları.....	19
Çizelge 4.1. <i>S. typhimurium</i> 'a sarımsağın etkisi.....	34
Çizelge 4.2. <i>E. coli</i> üzerine değişik baharatların etkisi.....	34
Çizelge 4.3. <i>E. aerogenes</i> 'e çeşitli baharatların etkileri.....	35
Çizelge 4.4. <i>L. monocytogenes</i> 'e çeşitli baharatların etkileri.....	37
Çizelge 4.5. <i>Y. enterocolitica</i> 'ya çeşitli baharatların etkisi.....	39
Çizelge 4.6. Sarımsağın araştırma materyali bakterilere karşı etkileri.....	42
Çizelge 4.7. Nanenin araştırma materyali bakterilere karşı etkisi.....	43
Çizelge 4.8. Kekiğın araştırma materyali bakterilere karşı etkisi.....	45

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 3.1. Kekik, nane, kimyon, hardal, anason, rezene, pul biber, kantaron özütlerinin elde edilmiş akış şeması.....	29
Şekil 3.2. Sıcaklık uygulamasız olarak sarımsak özütünün elde edilmiş işlemleri.....	29
Şekil 3.3. Acı biber özütünün elde edilmiş akış şeması.....	30
Şekil 3.4. Soğan özütünün elde edilmiş akış şeması.....	30
Şekil 3.5. Sıcaklık uygulaması ile sarımsak özütünün elde edilmiş akış şeması.....	31
Şekil 4.1. Sarımsağın bağırsak kaynaklı patojenler üzerine disk yöntemiyle görülebilir engelleyici etkisi.....	43
Şekil 4.2. Nananin bağırsak kaynaklı patojenler üzerine disk yöntemiyle görülebilir engelleyici etkisi.....	44
Şekil 4.3. Kekiğin bağırsak kaynaklı patojenler üzerine disk yöntemiyle görülebilir engelleyici etkisi.....	46

1. GİRİŞ

Baharatlar, çok eski çağlardan günümüze değin, gıdalara lezzet ve renk kazandırmak yanında onları dayanıklı hale getirmek amacıyla da kullanılmıştır. Bununla birlikte geçmişten günümüze sürekli olarak baharat kullanımının temel nedeninin ne olduğu sorusuna yanıt aranmıştır. Bu soruya yanıt olarak lezzet verici olmaları yanında, kendilerini çeşitli bitki zararlılarına karşı koruyan bileşiklere sahip olmaları gösterilmiştir (Sherman ve Billing 1999, Giese 1994). Bu düşüncelerden hareketle bazı baharat ve lezzetlendiricilerin antimikrobiyal etkileri olduğu, bunlardan elde edilen özütlerin gıdaları korumak ve çeşitli hastalıkları tedavi etmek amacıyla eski Mısır, Roma ve Yunan medeniyetleri dönemlerinde kullanıldığı belirtilmektedir (Bullerman ve ark. 1977). Eski medeniyetlerce bitkisel özütlerin antiseptik ve antimikrobiyal etkileri farkedilmiş olsa da, baharat ve baharat özütlerinin koruyucu etkilerinin bilimsel açıdan açıklığa kavuşturulması 18. yüzyıldan başlayarak netlik kazanmıştır (Conner 1993).

Bu bilimsel gelişmelerin ortaya çıkardığı gerçekler üzerine, çok sayıda mikrobiyolog ve üretici firmalar laboratuvar çalışmaları ile baharatlardan elde ettikleri bileşenleri gıda kaynaklı bakteri, küf ve mayalara karşı denemeye koyulmuşlardır. Bu yönde yapılan araştırmalarda engelleyici etkinin belirlenmesinde çok farklı yöntemler kullanılmasına karşın varılan ortak kanı, baharatların az veya çok antimikrobiyal etkilerinin olduğu, bu etkinin, baharat cins, miktar ve kalitesine göre değiştiğidir. Denenen baharatlar arasında, sarımsak, soğan, yeni bahar ve mercanköşk oldukça yüksek etkili baharatlar olarak belirtilmiştir (Sherman ve Billing 1999).

Gıdaların üretim, işleme, depolama ve satışı sırasında gerçekleşebilecek mikrobiyal faaliyet sonucunda, renk, koku vb. duyuşal özelliklerinde değışiklikler meydana gelebilmektedir. Hatta gıda maddesi tüketilemeyecek duruma gelebilmekte veya bu şekilde tüketildiğinde önemli sağlık sorunlarına neden olabilmektedir. Amerika Birleşik Devletleri Tarım Dairesi (U.S.D.A.)'nin açıkladığı sayısal değerlere göre Amerika'da her yıl 3.6-7.1 milyon kişide gıda kaynaklı hastalık görülmekte ve bu rahatsızlıkların neden olduğu tedavi harcamaları ve verimlilik kayıplarının toplam maliyeti 2.9-6.7 milyon doları bulmaktadır. Buna göre patojen mikroorganizmaların

kontrol altına alınması ile gıda kaynaklı salgınlar azaltılıp, tüketiciye güvenli, sağlıklı ve besin değeri yüksek gıdalar sunulması kaçınılmazdır (Kim 1995b).

Mikrobiyal gelişmeyi yavaşlatmak yada tümüyle durdurmak amacıyla bir çok yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemlere ek olarak, aşırı bir mikrobiyal bulaşma söz konusu olmadığı durumlarda, baharatların ya da bunların özütlerinin benzer etkiye sahip oldukları bilinmektedir. 20. yüzyılın sonunda yapılan araştırmalara göre gelişmiş toplumlardaki bilinçli tüketicilerin kimyasal koruyuculara tepkili yaklaşımları, gıdaların korunmasında doğal seçeneklere özellikle baharat ve özütlerine yönelimi artırmıştır (Delaquis ve ark. 1999, Grohs ve Kunz 2000, Karanika ve ark. 2001). Gıdalarda kullanılan baharatlar, lezzetlendiriciler ve tıbbi amaçlı kullanılan iyileştirici bitkiler doğal olarak içerdikleri, kumarinler, flavonoidler ve esansiyel yağlar ile mikrobiyal gelişmeyi önleyici özelliğe sahiptirler ve bu özellikleri nedeni ile antibakteriyal araçlar olarak kullanıma alınmışlardır.

Baharatların bozucu veya hastalık yapıcı mikroorganizmalara karşı etkileri çok sayıda araştırmaya konu teşkil etmiş, fakat bu çalışmalarda genellikle özütler veya derişimi artırılmış bazı bileşenler kullanılmıştır. Ayrıca ülkemizde konuya yönelik çalışmalarda patojenlerden çok, gıda bozucu mikroorganizmalar ve çoğunlukla da maya ve küfler üzerine etki araştırılmıştır. Ülkemizde yapılan bir araştırmada, az sayıda gıda kaynaklı, patojen etkili bakterilere bazı baharat bileşenlerinin etkileri incelenmişse de, doğrudan baharatlarla gerçekleştirilen bir araştırmaya ulaşamamıştır. Ayrıca bu araştırmalarda baharatların özütlenmesinde su dışında çözücüler kullanılmıştır. Bu durum dikkate alınarak, baharatların gıdalara ilavesinde gerçekleşen doğal özütlenmeye yakın kalınması ve herhangi bir bileşenin tek başına etkisi yerine, ait olduğu baharata özgün bileşenlerin, bağırsak kaynaklı patojenlere doğal etkisini belirlemek amacıyla bu çalışma yapılmıştır. Böylece, gıdalarda kullanılmakta olan miktarın, antibakteriyal etkisinin veya etkin olabilecek baharat miktarının belirlenmesi hedeflenmiştir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Bilindiği gibi gıdalarda baharat kullanımı çok eskilere gitmektedir. Bundan amaç gıdaya istenilen koku ve lezzeti kazandırmak ve bir ölçüde ürünü dayanıklı hale getirmektir. Mikroorganizmaların insanlar tarafından gerçek olarak farkedilmesinden sonra, özellikle son bir yüzyıl içinde baharatların bu canlılar üzerine etkisi çok sayıda araştırmaya konu teşkil etmiştir. Bu araştırmalar baharatların farklı mikroorganizmalara etkisi, etki şekilleri ve etkin bileşenlerle ilgilidir. Aşağıda bu konuda yapılan yayınlar, bu alt başlıklarda incelenecek ve son bölümde araştırmaya konu mikroorganizmaların tanıtımına yönelik kaynaklar incelenecektir.

Yirminci yüzyılın başından günümüze değin yapılan araştırmalar bazı baharat ve lezzetlendirici gıda katkılarının, özellikle sarımsak, soğan ve bayır turpunun antimikrobiyal etkili olduğunu göstermiştir. Çizelge 2.1.'de antimikrobiyal etkiye sahip lezzet verici bitkiler görülmektedir.

Çizelge 2.1. Antimikrobiyal etkiye sahip lezzet verici bitkiler (Beuchat ve Golden 1989)

Yenibahar	Kereviz	Zencefil	Hardal	Kakule	Kuru nane
Acıbadem	Tarçın	Limon	Soğan	Sarımsak	Biberiye
Melek otu	Karanfil	Meyan kökü	Portakal	Güvey otu	Adaçayı
Fesleğen	Kişniş	Ihlamur	Mercanköşk	Kara biber	Taze nane
Defne	Dereotu	Hindistan cevizi	Kırmızı biber	Kekik	Anason
Bergamot	Rezene	Mandalina	Maydanoz	Zerdeçal	Tarhun

Modern koruma ve saklama yöntemlerinin geliştirilmesi ile bir süre bu konudaki çalışmalar azalma eğilimine girmiş, fakat son zamanlarda yeniden hızlı bir artış dönemine geçilmiştir. Bazı baharat ve lezzet vericilerin gıdalara ilave edildiklerinde, birden fazla fonksiyonu yerine getirdikleri, aromayı geliştirmelerinin yanında, bakteriyostatik ve bakterisit etkileri sayesinde gıdanın raf ömrünü uzattıkları ve antioksidan etkileri ile de bayatlamayı önledikleri görülmüştür. Tümüyle doğal

maddeler olmaları ile yapay gıda katkılarının güvenilirliğinden şüphe duyan tüketiciye çekici gelmektedir (Shelef ve ark. 1980).

Uzun zamandan beri yiyecek ve içecekler aromaya verici olarak katılan bitkisel kökenli esansiyel yağlara içerdikleri antimikrobiyal bileşenlerden dolayı potansiyel gıda koruyucular gözü ile bakılmaktadır (Halender ve ark. 1998). Çizelge 2.2.'de bazı baharatların içerdikleri esansiyel yağ miktarları ve antimikrobiyal etkili bileşenleri verilmiştir.

Çizelge.2.2. Bazı baharatlar ve uçucu yağ içerikleri ile etkin bileşenleri (Shelef 1983)

BAHARAT	Uçucu Yağ İçeriği (%)	Antimikrobiyal etkili bileşikler
Sarımsak	0.3-0.5	Allisin
Hardal	0.5-1.0	Allilizotiyosiyonat
Tarçın	0.5-2.0	Sinnamik aldehit, öjenol, sinnamik asit
Karanfil	16-18	Öjenol
Adaçayı	0.7-2.0	Timol, öjenol
Mercanköşk	0.8-0.9	Timol, karvakrol

2.1. Baharatlardaki Aktif Antimikrobiyal Bileşikler

Baharatların koruyucu etkilerinin temelinde, onları bitki zararlılarından koruyan bileşenlerin yattığı belirtilmektedir. Baharat ve bazı bitkilerin koruyucu ve tedavi edici özelliklerinden sorumlu bileşenler olarak, kükürtlü bileşikler, terpenler, fenoller, glikozitler, aldehitler, esterler ve alkoller sayılabilir.

Kükürt bileşikleri arasında sülfidler ve tioller Alliaceae(soğangiller) familyasına ait bitkilerin koruyucu etkisinde önemli role sahiptirler (Deis 1999). Örneğin, sarımsağın dış kısmının zarar görmesi durumunda ortaya çıkan allisin, güçlü sarımsak kokusundan sorumlu en önemli bileşendir. Bu olay sırasında kokusuz, kükürt içeren bir aminoasit olan alliin, allinaz enzimi ile temas sonucu allisine dönüşmektedir. Allisin, sülfidril grubu taşıyan enzimler üzerine durdurucu etkiye sahiptir (¹). Sarımsak

¹ www.cast-science.org/anti-sum.htm

bileşiminde bulunan allisin, diallil disülfid, diallil trisülfid ve ajoen antibiyotik aktivite göstermektedir (²).

Antimikrobiyal etkiye sahip başka bir grubu oluşturan terpenler molekül yapı ve ağırlıkları esas alınarak, monoterpenler, sesquiterpenler, diterpenler ve triterpenler olarak gruplandırılmışlardır (Deis 1999).

Monoterpenlerin molekül yapılarında 10 C atomu bulunmaktadır. Bunlar baharatlarda oldukça yaygın olan bileşenler olup, nane ve maydanozda etkin öneme sahiptirler. Bu grubun en önemli ve tanınan temsilcileri **limonen**, **pinen**, **kampen**, **mirsen**, **dipenten** ve **terpinen**'dir (Deis 1999).

Sesquiterpenlerin yapısına 15 C atomu katılmıştır. Monoterpenlere göreceli olarak, baharatların bileşiminde daha az rastlanan bileşendir. Bazı bitki familyalarına özgün olarak bulunmaktadır. Özellikle tarçında ve zencefilgillerden zencefil, zerdeçal vb.'de bulunan etkin bir bileşen durumundadır (Deis 1999).

Diterpenlerin moleküllerinde 20, triterpenlerin moleküllerinde ise 30 C atomu bulunmaktadır. Bu iki grup terpenlere de baharatlarda az rastlanır. Oldukça acı, yani yakıcı tada sahiptirler. Örneğin, nanenin kendine özgü acılığından bu bileşenler sorumludur (Deis 1999).

Fenoller mikroorganizma gelişmesini önleyici etki bakımından oldukça büyük öneme sahiptirler. Bunlara örnek olarak, karanfil bileşeni öjenol, küçük hindistan cevizi bileşeni safrol ve vanilya bileşeni vanilin verilebilir. Ayrıca, timol, anetol, karvakrol ve izoborneol de bu gruba dahildirler. Öjenol, karvakrol, timol, izoborneol ve vanilinin yapılarında antimikrobiyal etkiyi artırıcı özelliğe sahip hidroksil grubu içerdikleri belirtilmiştir (Shelef 1983).

Baharatlarda antimikrobiyal etkiden sorumlu bileşiklerden bir başkası da glikozitlerdir. İki alt birimden oluşurlar. Bunlardan biri şeker molekülü, diğeri şeker olmayan ve aglikon olarak isimlendirilen kısımdır. Glikozitler genellikle uçucu değildirler; fakat aglikon kısmı kolayca yıkılıp uçucu duruma geçebilir. Buna en iyi örnek olarak hardal yağı glikozitleri verilebilir. Bunlar bayırturpunda olduğu gibi,

² www.nutritionsciencenews.com

ortama izotiyosiyonat yayarak gözlerde yanma ve yaşlanmaya neden olurlar (Deis 1999).

Deis (1999), baharatların bileşimine katılan diğer etkin bileşenleri aldehitler, esterler ve alkoller olarak sınıflamış ve bunları aşağıdaki şekilde açıklamıştır.

Antimikrobiyal etkiye sahip aldehit grubu bileşenlere örnek olarak sitral, sinnamik aldehit, benzaldehit ve sitronellal verilebilir.

Öjenil asetat, bornil asetat ve linalil asetat ise baharatlarda bulunan ve antimikrobiyal etkiye sahip ester yapıda bileşiklerdir.

Alkoller, dikkate değer antimikrobiyal ve antiviral özelliklere sahiptirler. Bunlara örnek olarak farnesol, sitronellool, linelool, mentol, terpinol ve benzil alkol verilebilir.

Bazı bitkilerde ise antimikrobiyal bileşik, antosiyaninler gibi renk bileşenleri arasında yer alabilirler. Ayrıca, biraya aroma verici olarak kullanılan şerbetçi otu çiçeklerinde de antimikrobiyal etki söz konusudur. Fitoaleksinler de bitkiler tarafından mikrobiyel saldırılara karşı üretilen geniş etkili antimikrobiyal maddelerdir ⁽²⁾. Bunlar çok farklı tipte kimyasal maddelerden oluşurlar ve bakterilerden çok, küflere karşı etkilidirler. Bakterilere karşı etki söz konusu olduğunda gram-negatiflerden çok, gram-pozitifler üzerine etkili oldukları açıklanmıştır (Russell ve Gould 1991).

Baharatların mikroorganizmalar üzerine etkileri Deis (1999) tarafından 6 maddede özetlenmiştir. Bunlar;

- Kullanılan baharata göre mikroorganizma direnci değişebildiği gibi, belirli bir mikroorganizmanın da değişik baharatlara karşı gösterdiği direnç farklı olabilmektedir.
- Bakteriler, küflere göre baharatlara karşı daha dirençlidirler.
- Sporlar üzerine etki, vejetatif hücrelerden farklı olmaktadır.
- Gram-negatif bakteriler baharatlara karşı gram-pozitiflere göre daha dirençlidirler.
- Baharatların gıdalara eklenen miktarları, genellikle mikrobiyal gelişmeyi önlemeye yetmemektedir.
- Baharatların bileşimindeki bazı bileşenler mikrobiyal gelişmeyi teşvik edebilirler.

² www.nutritionsciencenews.com

Antimikrobiyal açıdan aktif bileşenler diğer faktörlerle birleştirilerek engelleyici etki artırılabilir. Bu durum engel kuramı olarak adlandırılır. Ortamın su aktivitesi, asitliği, sıcaklığı, kimyasal bileşimi ve atmosfer koşulları gibi faktörler ayarlanarak mikroorganizmalara karşı etkin bir koruma gerçekleştirilebilir. Bu yolla gıda duyuşal özelliklerinden önemsenecek bir şey yitirmeden korunabildiği gibi, baharat katkısı ile istenilen renk, tat ve antioksidatif etki de sağlanmış olur. Bazı baharatlar oksidasyonu yavaşlatarak gıdaların raf ömrünün uzatılmasında etkili olurlar. Örneğin, biberiye, kekik ve adaçayı kuvvetli antioksidan etkiye sahip fenolik bileşikler içermektedirler.

2.2. Antimikrobiyal Etkiye Sahip Baharatlar ve Etki Mekanizmaları

Zaika (1988), baharatları engelleyici etkilerine göre, kuvvetli, orta ve zayıf olarak sınıflandırmış; tarçın ve karanfili kuvvetli, yenibaharı ise orta etkililer grubuna dahil etmiştir. Tarçın, karanfil ve yenibaharın antimikrobiyal etkileri içerdikleri uçucu yağların en önemli bileşenlerini oluşturan öjenol (2-metoksi-4 allil fenol) ve sinnamik aldehite bağlanmışdır. Tarçının % 0.5-1.0 oranında içerdiği uçucu yağların %65-75'i sinnamik aldehit, %8'i ise öjenoldür. Yenibahar ise % 4.5 oranında uçucu yağ içerir ve bunun % 80'i öjenol teşkil etmektedir. Karanfil tomurcukları ise % 93-95'i öjenol olan ortalama % 17 oranında esansiyel yağ içerir (Conner 1993).

Özellikle sarımsak ve soğan gibi *Allium* türleri antimikrobiyal etkileri üzerinde en çok çalışılan materyallerdir. Buna rağmen sarımsağın antimikrobiyal ve tedavi edici etkisine ait ilk bilimsel kanıtlar 1940'larda yayınlanmıştır. Cavallito ve Bailey ve Cavallito ve arkadaşları sarımsağın temel antimikrobiyal bileşeninin etanol özütlerini buharlı damıtma yolu ile izole etmişler, bu bileşeni **allisin** ya da **dialliltiosülfinik asit** olarak tanımlamışlardır. Allisin sarımsak ve soğana karakteristik koku ve tadını veren, oldukça acı, renksiz bir yağ şeklinde tanımlanmaktadır. Allisinin sıvı besiyerinde 1:85.000 derişiminde birçok gram-pozitif ve gram-negatif mikroorganizma üzerine bakterisit etkili olduğu belirtilmiştir (Conner 1993).

Sarımsak ve soğanda görülen yüksek antimikrobiyal etki, esansiyel yağların bileşimindeki allisin ve diğer süflitlerden kaynaklanmaktadır. Conner'a (1993) göre, Willis, 0.0005 M allisinin birçok sülfidril enziminin yanında, sülfidril grubu olmayan

birkaç enzimi de inhibe ettiğini; triozfosfat dehidrogenaz enziminin ise 0.00005 M allisin ile engellenebildiğini belirtmiştir. Yine aynı araştırmacı sülfidril enzimleri üzerine engelleyici etkinin -SO-, -S-S- yada -S- bağlarından değil, -SO-S- bağının varlığından kaynaklandığını gözlemlemiştir .

Kekik, keklik otu ve zater gibi baharatların yeterli oranda antimikrobiyal etkiye sahip oldukları belirtilmiş, kekik ve mercanköşk orta dereceli engelleyiciler olarak sınıflandırılmıştır. Antimikrobiyal etkinin bu baharatların içerdikleri uçucu bileşenlerden olan terpenler; karvakrol, *p*-simen ve timolden kaynaklandığı açıklanmıştır. Keklik otu esansiyel yağının % 50 oranında timol, kekik esansiyel yağının % 43 oranında timol ve % 36 oranında *p*-simen, zater esansiyel yağının ise % 30-45 oranında karvakrol ve % 30 oranında *p*-simen içerdikleri belirlenmiştir (Conner 1993).

Hindistan'da yetişen bitkilerden elde edilen özütler üzerinde yapılan araştırmalar sonucunda bazı baharat (esansiyel yağ) özütlerinin geniş bir biyolojik etki açılımına sahip oldukları; fakat diğer baharatların belirli gruplar, örneğin gram-pozitif ya da gram-negatif bakteriler veya yalnızca bakteriler ya da maya ve küfler üzerine etkili oldukları saptanmıştır. Esansiyel yağların, bitkisel özütlerin ve oleoresinlerin etki mekanizmalarının, mikrobiyel hücrede etki ettikleri hedef noktalarına göre değişmekte olduğu açıklanmıştır. Son zamanlarda baharatlar üzerinde yapılan araştırmalarla, terpen fraksiyonunun antimikrobiyal etkiye katkısı konusunda oldukça fazla tartışma yaşandığı ortaya çıkmıştır. Birkaç çalışma ile antimikrobiyal bileşiğin izolasyonu ve tanısı yapılmış, fakat baharatların mikroorganizmalar üzerine engelleyici etki mekanizması konusunda kaynağa rastlanamamıştır. Sonuçta, esansiyel yağların bileşenlerinden olan öjenol ve timolün yapıcı aktif fenolik antimikrobiyallere benzemeleri, etki mekanizmalarının da benzer olabileceği düşüncesi ortaya atılmıştır (Conner 1993).

Esansiyel yağlar ve oleoresinlerin, mayalarda etanol üretimi, solunum ve spor oluşumu üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada Conner ve ark., etkinin hücresel enerji tüketimi ile ilgili olduğunun saptandığını belirtmişlerdir (Conner 1993).

Yukarıda sayılanların dışında çok sayıda baharat antimikrobiyal etkiye sahiptir. Conner'a (1993) göre March, tatlı mercanköşk, defne, tatlı kırmızı biber, kişniş, anason, nane, karaman (frenk) kimyonu, kakule, kimyon, rezene, sap kerevizi, dereotu, hardal

ve bunların esansiyel yağları üzerinde yapılmış araştırmaları derlemiş; bunların çoğunun tek tür üzerinde etkili, bazılarının bir çalışmada etkili bir diğerinde ise etkisiz olduğunu, kullanılan derişimlerin çok yüksek fakat etkinin çok düşük olduğunu belirtmiştir. Besiyerinde % 0.3 oranındaki adaçayı ve biberiyenin, bakterisit etki değerinin % 0.5 olarak saptandığını; 20 ayrı türden gram-pozitif mikroorganizmanın gelişmesini önlediğini, engelleyici etkinin içerdikleri terpen bileşikleri olan borneol, sineol, pinen, kampen, kamfor (tüm biberiye türleri) ve tujon'dan (adaçayı) kaynaklandığını belirtmiştir.

2.3. Baharatların Antimikrobiyal Etkileri

Baharatlarla 19.yüzyılın sonu 20. yüzyılın başında yapılan çalışmalar, güncel yaşamda sıklıkla kullanılan baharatların mikroorganizma gelişmesini önleyici etkilerini ortaya koymuştur (Bullerman ve ark. 1977). Çizelge 2.3'de bazı baharatlar ve gelişmesini önledikleri mikroorganizmaların listesi verilmiştir.

Çizelge.2.3. Ögütülmüş baharatlar veya özütlerinin antimikrobiyal etkileri (Shelef 1983)

Baharat	Etkin Olduğu Mikroorganizma
Sarımsak	<i>Salmonella typhimurium</i> , <i>E.coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , Mikotoksin oluşturucu <i>Aspergillus</i> ve <i>Penicillium</i> 'lar
Soğan	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus parasiticus</i>
Tarçın	Mikotoksin oluşturucu <i>Aspergillus</i> ve <i>Penicillium</i> 'lar
Bayır turbu	<i>S. aureus</i>
Karabiber	<i>Clostridium botulinum</i>
Karanfil	Mikotoksin oluşturucu <i>Aspergillus</i> ve <i>Penicillium</i> 'lar, <i>P.cerevisiae</i> , <i>L. plantarum</i>
Hardal	Mikotoksin oluşturucu <i>Aspergillus</i> ve <i>Penicillium</i> 'lar
Yenibahar	Mikotoksin oluşturucu <i>Aspergillus</i> ve <i>Penicillium</i> 'lar
Mercanköşk	Mikotoksin oluşturucu <i>Aspergillus</i> ve <i>Penicillium</i> 'lar, <i>Salmonella</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i>
Biberiye	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i> , Mikotoksin oluşturucu <i>Aspergillus</i> ve <i>Penicillium</i> 'lar
Defne yaprağı	<i>Clostridium botulinum</i>
Adaçayı	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i>
Kekik	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> , Toksin oluşturucu <i>Aspergillus</i> (3 suş)
Nane	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>

Bu konu ile ilgili, 1880'lerde hazırlanmış olan ilk kaynakta; adını yeni fermente olmaya başlamış üzüm şirasından aldığı düşünülen hardalın, Romalılar tarafından meyve sularını fermentasyon yeteneğindeki mayalardan korumak amacıyla kullanıldığı belirtilmiştir (Shelef 1983).

1887 yılında Chamberland, tarçın yağının antraks etkeni *Bacillus* sporları üzerine öldürücü etkili olduğunu bulmuştur. 1910 yılında ise Grove, domates suyunu, öğütülmüş tarçın ve karanfil özütleri ile korumayı başarmıştır. 1911'de Hoffman ve Evans, 1933'de ise Corran ve Edgar, gıdaların korunmasına yönelik yaptıkları çalışmalarla, baharatların ve bunların uçucu yağlarının çimlenmeyi önleyici etkilerini ortaya koymuşlardır. 1920'de Campbell tarafından yapılan araştırma sonucunda % 0.1 benzoatın etkisiz kaldığı cider'a % 0.1 den daha az oranda katılan hardal-benzoat karışımı ile korumanın sağlandığı belirtilmiştir. 1929 yılında Prasad ve Joshi meyveleri, öğütülmüş tarçın özütü ve tuz kullanarak korumayı önermiştir. 1944 yılında ise Webb ve Tanner, tarçın, karanfil ve yenibaharın sulu özütlerinin sıvı kültürlerde maya gelişimini önlediğini, buna karşın düşük baharat derişimlerinde mayaların ortama adapte olup gelişmeyi sürdürdüklerini, hatta bazı durumlarda düşük konsantrasyonların gelişmeyi artırdığını belirtmişlerdir. 1967'de ise Frazier, tarçın yağının maya ve bakteriler üzerine durdurucu etkili olduğunu; yüksek konsantrasyonlarda küf gelişimine izin verdiğini, fakat eşeysiz spor oluşumunu önlediğini belirtmiştir. Aynı bilim adamı uçucu yağların ait oldukları öğütülmüş baharata göre daha etkili olduğunu, ancak gıdalarda kullanılan miktarların bakteriyostatik etkisinin çok az yada hiç olmadığını bildirmiştir. Bunlara rağmen baharatların diğer koruyucularla birlikte, gıdalarda istenmeyen mikroorganizmaların gelişmesinin önlenmesinde kullanılabileceğini açıklamıştır (Bullerman ve ark. 1977).

2.4. Baharatların Değişik Gruptan Mikroorganizmalar Üzerine Etkileri

2.4.1. Baharatların Laktik Asit Bakterileri Üzerine Etkileri

Laktik asit bakterileri, diğer gram-pozitif bakterilere göre antimikrobiyal etkiye sahip baharatlara karşı daha az duyarlıdır. Hatta, bazı baharatlar laktik asit bakterileri üzerine teşvik edici etkiye sahiptir ve bu da artan gelişme ve asit artışı ile gözlenebilmektedir. Et ürünlerinde kullanılan laktik starterlerin fermentasyon yetenekleri üzerine bazı baharatların etkileri araştırılmış ve sonuçta baharatlar tarafından gelişmesi en fazla teşvik edilen laktik asit bakterisinin *Lactobacillus plantarum* olduğu belirtilmiştir. Bu konuda yapılan bir araştırma sonucunda, taze sosiste *E.coli*'nin gelişmesinin durdurulabilmesi için gerekli biber oranı % 0.08-0.2 arasında iken, *Lactobacillus*'lar için ise engelleyici oran % 0.3 olarak bulunmuştur (Shelef 1983).

Zaika ve Kissenger (1981), yaptıkları çalışmada 19 baharatı *Lactobacillus plantarum* ve *Pediococcus cerevisiae*'dan oluşan ticari bir karışık starterde denemişler ve sonuçta asit oluşumunu teşvik ettiğini belirtmişlerdir. Fakat giderek artırılan dozlarla yapılan denemede 19 baharattan bir kısmının engelleyici etkili olabildiği gözlemlenmiştir.

2.4.2. Baharatların Mayalar Üzerine Etkisi

Zaika ve Kissenger'in(1981) açıklamalarına göre, Corran ve Edgar maya fermentasyonu üzerine baharatların etkilerini araştırdıkları çalışmalarında; denemeye aldıkları baharatlardan, kekik, defne, mercanköşk, zater ve biberiye ilaveli besiyerlerinde, glikoz miktarındaki azalış hızının, baharat içermeyen kontrole göre daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. Yine bu araştırmacılara göre, Wright ve arkadaşları 1954 yılında yaptıkları çalışmalarında, maya fermentasyonunda gaz oluşumu üzerine düşük konsantrasyonlarda bazı baharatların teşvik edici etkisi olduğunu, fakat maya hücrelerinin çoğalmasını hızlandırmadıklarını gözlemlemişler; ayrıca baharatların teşvik edici etkilerinin eter ile özütleme, otoklavlama ve uzun süreli kaynatma sonunda bile değişmeden kaldığını belirlemişlerdir.

Baharatların mayalar üzerine etkisinin saptanması amacıyla yapılan bir araştırmada, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Hansenula anomala*, *Kloeckera apiculata*, *Pichia membranaefaciens*, *Rhodotorula glutinis* ve *Saccharomyces cerevisiae* üzerine biberiye, defne, hardal, kekik, kırmızıbiber, nane ve tarhun otunun etkisi incelenmiştir. Sonuç olarak bu baharatların önemli maya inhibitörleri olmadıkları saptanmıştır. Fakat fazla miktarlarda kullanılan biberiye ve kekik ile etkili sonuçlar alındığı ifade edilmiştir. Denenen mayalar arasında *Saccharomyces cerevisiae* ve *Hansenula anomala*'nın baharatlara karşı daha duyarlı, *Candida* türleri ve *Pichia membranaefaciens*'in ise daha az duyarlı oldukları belirlenmiştir (Kıvanç ve Akgül 1988).

Başka bir araştırmada, karabaş otundan elde edilen, aseton, kloroform, etil asetat ve etanol özütleri 10 maya türü üzerinde denenmiştir. Deneme sonucunda özütlerin, *Kluveromyces fragilis*, *Candida albicans*, *Candida utilis*, *Torula* ve *Torulopsis* türleri üzerine farklı düzeylerde engelleyici etki gösterdikleri belirtilmiştir (Dülger ve Uğurlu 1998).

1973 yılında yaptıkları araştırmada elde ettikleri sonuçlara göre Tynecka ve Gos, sarımsak suyunun *Candida albicans* üzerine potansiyel etkili olduğunu belirlemişler, hatta sarımsağın fungal deri hastalıklarında tedavi amaçlı kullanılabileceği önerisini getirmişlerdir (Conner 1993).

Kısa sürede tüketilecek gıdalarda baharat karışımlarının maya gelişmesini engellemesinin mümkün olabileceği; fakat uzun süre depolama gerektiren gıdalar için uygun olmadığı, bu konuda daha kapsamlı araştırmalar yapılması gerektiği kaynaklarda yer almıştır. Örneğın, gıda maddelerinde kullanımları yaygın, fakat etkileri az olan baharatların miktarlarını biraz daha artırmak, bunların uçucu aroma bileşenlerini kullanmak veya baharatları daha az miktarlarda yapay koruyucularla birlikte denemek araştırılması gereken konular olarak önerilmiştir (Kıvanç ve Akgül 1988).

2.4.3. Baharatların Küfler Üzerine Etkileri

1980 yılında Tokyo'da yapılan bir araştırmada, sıkça tüketilen 29 baharatın, 3 *Aspergillus* türü (*A.flavus*, *A.ochraceus* ve *A.versicolor*) üzerine engelleyici etkileri incelenmiştir. Bu baharatlardan karanfil, anason ve yenibahar denemede kullanılan üç türün gelişmesini tümüyle engellerken; kekik gelişmeyi kısmen engellemiş fakat toksin oluşumunu neredeyse tamamıyla durdurmuştur. Karaman kimyonu, kereviz ve adaçayı yaprakları *A.ochraceus* ve *A.versicolor*'un gelişmesini ve toksin oluşturmalarını genelde kısmen önlerken, karaman kimyonu *A.ochraceus*'un okratoksin A oluşturma yeteneğini tümünden engellemiştir. Dereotu tohumu, zerdeçal, mercanköşk, fesleğen yaprağı, anason tohumu, kimyon ve kişniş, *A.ochraceus*'un gelişmesini kısmen, fakat okratoksin A üretimini tamamıyla; *A.flavus* ve *A.versicolor*'un gelişmelerini ve toksin üretimlerini aynı ölçüde olmasa da engellemiştir (Hitokoto ve ark. 1980).

Diğer bir araştırmada, tarçın ve karanfil uçucu yağlarının *A. parasiticus*'un gelişmesi ve toksin üretimi üzerine etkileri araştırılmıştır. Sonuç olarak bu yağların yeterli miktarlarda kullanılması durumunda, *A. parasiticus*'un gelişimini ve aflatoksin üretimini durdurdukları görülmüştür. Bu etkinin uçucu yağların temel bileşenleri olan sinamik aldehit ve öjenolden kaynaklandığı ifade edilmiştir (Bullerman ve ark. 1977).

Yine 17 baharat yağının denendiği başka bir araştırmanın sonuçları Çizelge 2.4'de verilmiştir. Çizelge 2.4 ile bileşiklerin, *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Fusarium* türleri üzerlerine etkileri gelişmenin engellendiği alan olarak mm² cinsinden verilmiştir. Çizelge 2.4 incelendiğinde, 17 bileşik içerisinde en etkili olanların, izo-öjenol, sinamik aldehit, karvakrol, öjenol ve timol olduğu, bunlara karşı en dayanıklı mikroorganizmanın *Penicillium verrucosum var. cyclopium*, en duyarlı olanın ise *Penicillium viridicatum* olduğu belirtilmiştir. İzo-öjenolün, *Fusarium moniliforme*, *Aspergillus versicolor* ve *Penicillium viridicatum* üzerine, sinamik aldehitin ise *Aspergillus ochraceus* üzerine etkili olduğu anlaşılmaktadır. Karvakrol ve öjenol'ün antifungal etkilerinin oldukça güçlü olduğu, karvakrol'un *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus ochraceus* ve *Aspergillus flavus* üzerine, öjenol'ün ise *Aspergillus versicolor* üzerine etkili olduğu saptanmıştır. Timol'ün antifungal etkisi fazla olmasa

Çizelge 2.4. Baharat kaynaklı 17 bileşiğin *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Fusarium* türleri üzerine etkileri (Engelleme alanı, mm²) (Pauli ve Knobloch 1987).

Bileşik	<i>A. ochraceus</i>	<i>A. flavus</i>	<i>A. niger</i>	<i>A. parasiticus</i>	<i>A. versicolor</i>	<i>P. viridicatum</i>	<i>P. expansum</i>	<i>P. roqueforti</i>	<i>P. verrucosum</i> <i>var. cyclospium</i>	<i>F. graminearum</i>	<i>F. moniliforme</i>
Nerolidol	177	64	64	113	95	133	113	79	133	154	95
α-Bisabolol	154	50	95	95	133	177	95	79	154	79	133
Farnesol	79	64	79	113	133	227	113	79	177	133	50
Anetol	50	50	50	113	133	201	154	133	95	177	95
Metil-kavikol	95	95	50	95	95	201	154	133	95	133	133
Safrol	64	95	95	64	133	201	133	95	133	154	154
Asetil-öjenol	154	95	113	113	177	346	201	113	201	177	133
Guayakol	177	113	133	177	201	491	346	64	201	254	95
Fenol	277	154	154	177	227	314	284	227	201	177	133
Metil-izoöjenol	227	79	201	113	284	346	154	254	227	314	133
Metil-öjenol	254	177	284	177	314	346	284	201	227	227	201
Allisin	201	177	113	227	177	201	227	254	177	661	452
Timol	433	380	551	433	531	471	531	433	241	330	452
Öjenol	641	452	531	531	855	551	471	406	254	452	433
Karvakrol	804	779	638	531	804	730	511	491	241	531	615
Sinnamikaldehit	935	661	640	594	684	754	572	433	363	452	593
İzo-öjenol	661	615	615	661	804	754	615	531	284	615	855

da, *A. niger*, *A. versicolor* ve *Penicillium expansum* üzerine engelleyici olduğu açıklanmıştır (Pauli ve Knobloch 1987).

2.4.4. Baharatların Patojen Bakteriler Üzerine Etkileri

Ülkemizde yapılan bir çalışma ile, kekik, nane, defne yaprağı ve bunların etanol özütleri gıda zehirlenmesine neden olan 3 bakteri türü (*Salmonella typhimurium*, *Vibrio parahaemolyticus* ve *Staphylococcus aureus*) üzerinde araştırılmıştır. Sonuç olarak besiyerine % 0.1 oranında ilave edilen kekik, *Vibrio parahaemolyticus* ve *Staphylococcus aureus* gelişmesini tamamıyla durdurmuş, fakat *Salmonella typhimurium* üzerine etkili olamamıştır. *Vibrio parahaemolyticus* ve *Staphylococcus aureus*'un naneye karşı da duyarlı oldukları, fakat *Salmonella typhimurium*'un daha az duyarlılık gösterdiği gözlenmiştir. Benzer sonuçlar, defne yaprağı ile yapılan denemelerde de görülmüştür. Alkol özütleri içerisinde en etkili olanın kekikten elde edilen olduğu, bunu defne yaprağı ve nanenin izlediği belirlenmiştir. *Vibrio parahaemolyticus*'un ise alkol özütlerine karşı, diğerlerine göre daha duyarlı olduğu belirtilmiştir (Aktuğ ve Karapınar 1986).

Aynı mikroorganizmalar üzerinde yapılan benzer bir çalışmada ise baharat uçucu yağlarından timol, öjenol, mentol ve anetol ile çalışılmıştır. Bunlar arasında en etkili olarak öjenol saptanmıştır. Öjenol, üç mikroorganizma üzerine de etkili olmuş ve duyarlılıklarına göre *Vibrio parahaemolyticus* > *Salmonella typhimurium* > *Staphylococcus aureus* şeklinde bir sıralama ortaya çıkmıştır. Anetole karşı en fazla duyarlılık gösteren mikroorganizma *Salmonella typhimurium* olup; onu sırasıyla *Staphylococcus aureus* ve *Vibrio parahaemolyticus* izlemiştir. Timol, *Staphylococcus aureus* ve *Vibrio parahaemolyticus* üzerine aynı etkiyi göstermiş, fakat *Salmonella typhimurium*'a etki için daha yüksek derişimde kullanılması gerekmiştir. Bu dört bileşik arasında en az etkili olanın mentol olduğu, ancak onun da denenen bu üç mikroorganizmanın gelişmesini engellediği saptanmıştır. Çalışma sonunda elde edilen bulgulara göre, baharat bileşenlerinin gıdalarda mikrobiyal gelişmeyi önleyici bazı kimyasal koruyuculara karşı seçenek olabilecekleri görüşüne varılmıştır (Karapınar ve Aktuğ 1987).

Conner'ın (1993) verdiği bilgilere göre; bir araştırmada timol ve karvakrol >1:2000 seyreltiklerinin *Bacillus subtilis*, *Salmonella enteridis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus morganii* ve *Escherichia coli* üzerinde engelleyici etkili olduğu saptanmıştır. Aynı yazara göre, Maruzella ve Henry'nin mercanköşk yağının bakterilere karşı engelleyici etkisini belirten ilk araştırmacılar olup; Julseth ve Diebel, *Salmonella* ile bulaşık durumdaki keklik otu \geq % 5 oranında ön zenginleştirme besiyerine aşılandığında bu mikroorganizmanın gelişemediğini belirtmişler, buna karşın ithal ve yerli keklik otları üzerindeki diğer mikroorganizmaların (mezofilik, aerob ve fakültatif anaerob, 10^3 - 10^5 cfu/g) aynı şekilde engellenemediğini gözlemlemişlerdir. Benzer şekilde, Beuchat, kekik, keklik otu ve bunların esansiyel yağlarını *Vibrio parahaemolyticus* üzerinde denemiş, iki baharatın da % 0.5 derişiminde etkili olduğunu, esansiyel yağlarının ise en uygun gelişme sıcaklığında ve 100 mg/L derişimde 5 saat süre ile gelişmeyi durdurduğunu, fakat daha sonra ortamdaki esansiyel yağ varlığına rağmen gelişmenin devam ettiğini belirtmiştir. Bu sonuç, araştırmacı tarafından etkin bileşenin uçucu olduğundan ortamdan uzaklaştığına ya da mikroorganizmanın uyum kazanmış olabileceğine bağlanmıştır. Farag ve arkadaşları kekik yağının gram-negatif ve gram-pozitif bakteriler üzerine etkili olduğunu, etkili en düşük derişimin her iki grup bakteri için sırasıyla 0.75-1.25 mg/mL ve 0.125-0.50 mg/mL olarak belirlendiğini açıklamışlardır(Conner 1993).

Yine Conner'a (1993) göre, Fabian ve arkadaşları denedikleri 9 baharat, içerisinde antibakteriyal etkili olanların sadece tarçın ve karanfil olduğunu belirtmişlerdir. Tarçının 1:50 seyreltmede zayıf engelleyici etki göstermesine rağmen, karanfil 1:100 derişiminde *Bacillus subtilis*'i, 1:800 derişiminde ise *Staphylococcus aureus*'u tamamıyla engellemiştir. Engelleyici etki türe ve gram-boyanma durumuna göre değişmiştir. Damutık su içerisinde *B. subtilis* sporları ile karıştırılan öğütülmüş tarçın ve karanfil, sporların sıcaklığa duyarlılığını artırmış (80°C'de 10 dak.) ve spor sayısında 0.5-1.0 log. düşüş saptanmıştır.

Bunların dışında biberiye, adaçayı ve zerdeçal da antimikrobiyal etki sergilemektedir. Farbood ve arkadaşları besiyerinde % 0.1 düzeyindeki biberiye özütünün *Salmonella typhimurium* ve *Staphylococcus aureus* gelişmesini yeterli düzeyde engellediğini belirtmişlerdir. Zerdeçalın barsaklardaki patojen bakteriler

üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışma ile bu baharatın yağ fraksiyonunun *B. cereus*, *S. aureus* ve *E. coli* üzerine etkili olduğu saptanmıştır. Johnson ve Vaughn'ın %1 ve %5 derişiminde kurutulmuş sarımsak ve soğanın *Salmonella typhimurium* ve *Escherichia coli* üzerinde ölçülebilir derecede bakterisit etkili olduğunu, fakat öldürücü etkinin %5 ve %10 derişimlerinde görüldüğünü saptadıkları belirtilmiştir. Bunlara ek olarak sarımsak ve soğan suyu ile çeşitli çözücülerle elde edilen özütlerinin *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Bacillus subtilis* ve *Pseudomonas pyocyaneus* üzerine oldukça yüksek engelleyici etki gösterdiği belirtilmiştir (Conner 1993).

Kansas Eyalet Üniversitesi'nde yapılan bir araştırmada, kıymaya aşılana *E.coli* O157:H7 üzerine karanfilin etkisi araştırılmış, sonuç olarak oldukça yüksek engelleyici etki belirlenmiştir. Bu araştırmada ayrıca, tarçın, sarımsak, mercanköşk ve adaçayının da azımsanmayacak etki gösterdikleri saptanmıştır. Kıymaya % 7,5 oranında katılan sarımsak ve tarçının ortama aşılana *E.coli* O157:H7'nin % 99'unu öldürdüğü bildirilmiş, fakat bu değer lezzet açısından oldukça yüksek bulunmuştur. Bunun üzerine % 2,5 tarçın ile yinelenen denemede, aynı mikroorganizma üzerine % 90 öldürücü etki sağlandığı sonucuna varılmıştır ⁽³⁾. Yenilerde yapılan bir başka araştırmada buhar haldeki esanslar kullanılmış ve limon esansı buharlarının meningokokları 15 dakikada, *Thyphus bacillus*'u bir saatten daha kısa bir sürede, pneumokokları 3 saate varan sürelerde, *Staphylococcus aureus*'u 2 saatte ve hemolitik streptokokları ise 3-12 saatte etkisiz hale getirdiği; uçucu yağın doğrudan uygulanmasında ise *Thyphus bacillus* ve *Staphylococcus aureus*'u 5 dakikada, difteri etmeni bakteriyi 20 dakikada öldürdüğü açıklanmıştır ⁽⁴⁾.

Son yıllarda Amerika'da yapılan bir araştırmada, tarçın ve mercanköşkün bakteri öldürücü özellikleri penisilin ve ampisilin ile karşılaştırılmış, uçucu yağların öldürücü etkisinin antibiyotiklerden çok daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, antibiyotik miktarı artırıldığında etkinin değişmediği, buna karşın artan uçucu yağ miktarı ile öldürücü etkinin de arttığı vurgulanmıştır ⁽⁴⁾. Araştırmacılar elde ettikleri bulgulara dayanarak, bakteri ve virüslerin uçucu yağlara karşı direnç kazanmalarının, antibiyotiklere olduğundan daha zor olduğu sonucuna varmışlar; bunu da bitkilerin

³ www.foodproductdesign.com/archieve/1999/0899cs.html

⁴ www.therapure.com/yleo/healthwatch.html

antibiyotiklere göre daha karmaşık bir kimyasal yapıya sahip olmasına bağlanmışlardır. Örnek olarak sarımsak incelendiğinde, bileşiminde 33 kükürt bileşiği, 17 amino asit, germanyum, kalsiyum, bakır, demir, potasyum, magnezyum, selenyum, çinko gibi elementlerle, A, B₁ ve C vitaminlerine rastlanmış, böylesine karmaşık bir yapıya karşı bakterinin direnç kazanmasının oldukça güç olacağı sonucuna varılmıştır ⁽²⁾. Baharat uçucu yağlarının bu etkilerini dikkate alan Amerikalı bilim adamları, hastanelerde yoğun bakım birimleri ve hasta odalarının havasının dezenfeksiyonunda bu ürünlerden yararlanılabileceğini ifade etmişlerdir ⁽⁴⁾.

2.5. Araştırma Materyali Patojenlerle İlgili Kaynak Bilgileri

Her yıl Amerika'da 76 milyon kişi gıda kaynaklı hastalıklara yakalanmaktadır. 2000 yılı boyunca laboratuvarlarca doğrulanan 12.631 adet gıda kaynaklı vakanın 4237'si salmonellozis, 631'i *E. coli* O157:H7, 101'i listeriozis, 131'i yersiniozis enfeksiyonudur. Serotipi belirlenen 3686 *Salmonella* izolatından 862'si (%23) serotip Typhimurium, 565'i (%15) serotip Enteridis, 399'u (%11) serotip Newport ve 248'i (%7) serotip Heidelberg olarak verilmiştir (Anonim 2001).

2.5.1. *Salmonella* Typhimurium

Salmonella Typhimurium, *Enterobacteriaceae* familyasına dahil olup, gram-negatif, sporsuz, fakültatif anaerob, hareketli, çomak şeklinde hücrelere sahip bir bakteridir (Le Minor 1986).

Salmonella enfeksiyonlarına çoğunlukla hayvan yada insan dışkı veya salgıları ile bulaşmış gıda, su veya sütlerin tüketimi neden olmaktadır. İnsanlarda tifo dışındaki salmonella enfeksiyonlarına neden olan *Salmonella* serotipleri, kanatlılar, inek, koyun, domuz, evcil ev hayvanları, eşek, kertenkele ve yılanlarda bulunan birincil patojenlerdir. Gelişmiş ülkelerde tifo görülme sıklığının azalmasına rağmen, sporadik vakalar görülebilmekte, Amerika'da yılda 400 vaka rapor edilmektedir. Buna zıt olarak yine

² www.nutritionsciencenews.com

⁴ www.therapure.com/yleo/healthwatch.html

Amerika'da yılda görülen tifo dışındaki salmonellozis vakalarının sayısı 50.000 olarak verilmiştir (Koneman ve ark. 1997).

Amerikan Hastalık Kontrol Merkezi verilerine göre, *Salmonella* serotipleri içerisinde en yüksek izolasyon oranına S. Typhimurium sahiptir. İnsan ve insan dışındaki kaynaklardan izole edilen *Salmonella* serotipleri ve izolasyon oranları Çizelge 2.5'de verilmiştir (Hook 1990).

Çizelge.2.5. İnsan ve insan dışındaki kaynaklardan izole edilen *Salmonella* serotipleri ve izolasyon oranları (Hook 1990)

İnsan kaynaklarından izole edilen <i>Salmonella</i> serotipleri ve izolasyon oranları (1986)			İnsan dışındaki kaynaklardan izole edilen <i>Salmonella</i> serotipleri ve izolasyon oranları (1985)		
Serotip	İzolot sayısı	Toplamdaki % oranı	Serotip	İzolot sayısı	Toplamdaki % oranı
S.Typhimurium	10.888	25.9	S.Typhimurium	1.956	26.4
S.Enteridis	5.967	14.2	S.Cholerasuis	563	7.6
S.Heidelberg	5.595	13.3	S.Heidelberg	432	5.8
S.Newport	2.431	5.8	S.Agona	259	3.5
S.Hadar	1.552	3.7	S.Montevideo	258	3.5
S.Infantis	1.104	2.6	S.Anatum	244	3.3
S.Agona	912	2.2	S.Saintpaul	220	3.0
S.Montevideo	775	1.8	S.Enteridis	197	2.7
S.Muenchen	694	1.7	S.Sandiego	186	2.5
S.Braendrup	616	1.5	S.Newport	165	2.2
Ara toplam	30.534	72.7	Ara toplam	4.480	60.4
Diğer serotipler	11.494	27.3	Diğer serotipler	2934	39.6
Tüm serotiplerin toplamı	42.028	100.0	Tüm serotiplerin toplamı	7.414	100.0

Tipik gıda zehirlenmesi olan S.Typhimurium enfeksiyonlarının klinik belirtileri karın ağrısı, ateş, baş ağrısı, bulantı, kusma ve ishaldir. İshal orta şiddetli veya çok sulu şekilde seyredebilir. Tifo ve paratifonun aksine dışkı kanlı değildir. Hastada su yetersizliği yaşanır. Belirtiler bulaşık gıdanın tüketiminden 5-72 saat (genellikle 12-36 saat) sonra ortaya çıkar. Kan kültürleri çoğunlukla negatiftir. Ancak, dışkı ve kusmuktan patojen izole edilebilir ve sayısı 10^6 - 10^7 adet/g arasında değişir. Bu tip *Salmonella* bulaşmalarında ölüm oranı %1'in altında olup özellikle bebek ve yaşlılarda ölüme yol açar. Bulaşma dozu gıdanın çeşidine, tüketicinin yaşına ve fizyolojik

durumuna bağlı olarak değişiklik gösterir. Klinik belirtilerin ortaya çıkması için 10^8 - 10^9 hücrenin alınması gerektiği belirtilse de, yapılan çalışmalar birçok vakada bulaşma dozunun bu sayının oldukça altında olduğunu göstermiştir (Karapınar ve Aktuğ Gönül 1998).

Salmonella her yerde yaygın olarak bulunan bir bakteri olup, birincil kaynağı hasta veya sağlıklı insan ve omurgalı hayvanların bağırsaklarıdır. Dışkı ile birlikte çevreye atılan *Salmonella* hücreleri yıllarca canlılığını korur. İnsan ve hayvanlar *Salmonella*'nın en önemli iki kaynağını oluşturur. Bu iki kaynağa ait dışkı veya lağım suları yoluyla çevresel kirlenme ve bu yolla su ve gıda kaynaklarının bulaşması söz konusu olduğu gibi, hayvansal gıdaların enfekte hayvanlardan doğrudan bulaşması da söz konusudur (Karapınar ve Aktuğ Gönül 1998).

2.5.2. *Escherichia coli*

E.coli, gram negatif, fakültatif anaerob ve çomak şeklinde hücrelere sahiptir. Klinik olarak izole edilenlerin bir kısmı peritrik kamçı ile hareketli, bir kısmı ise hareketsizdir (Eisenstein 1990 ve Orskov 1986).

E.coli, insan ve hayvan bağırsak kanalının doğal konukçusu ve sağlıklı yetişkinler için zararsız ve normal bir ortaktır. Bağırsak kanalı dışında içme suları ve gıdaların fekal kirliliğinin belirteci olarak kabul edilir. *E.coli*, fakültatif patojen veya oportünist bir bakteridir. Doğal direnci zayıflatmasının yanında, bebeklerde ve yaşlılarda idrar yolları, karın zarı (periton), cerrahi yaralar, safra kanalı, beyin, akciğer ve kan enfeksiyonlarının işgalci bulaşma etkeni olabilirler. İshale neden olan belirli suşları aşırı yaygındır. Yüzeysel kirlenmiş veya bulaşık gıdalarla taşınabilen bu suşlara, enteroinvasif *E.coli* (EIEC), enterotoksik *E.coli* (ETEC), enteropatojen *E.coli* (EHEC), enterohemorajik *E.coli* (EHEC), enteroagregatif *E.coli* (EAEC) grupları dahildirler. Bunlar aşağıda ayrıntılı olarak verilmiştir (Krämer 1997).

Enteroinvasif *E.coli* (EIEC): EIEC suşları dizanteri benzeri ishalleri neden olurlar. *Shigella*'lar gibi ince bağırsağın mukoza zarı hücrelerine nüfuz etme, burada çoğalma ve hücreyi öldürme yeteneğine sahiptirler. EIEC suşları *Shigella* gibi baskın

olarak hareketsiz, gaz oluşturmeyen ve laktozu 48 saat içinde fermente edemeyen özelliktedirler.

EIEC suşlarının tehlikeli oluşu önemli ölçüde 120-140 kDa'luk bir plazmidin varlığına bağlıdır. Plazmid saldırı (işgal) için ön koşul olan çok sayıda hücre duvarı proteinini kodlar. Örneğin, buna bakterinin konukçu hücre üst yüzeyine tutunduğu ipliksi fibriller de dahildir.

Enterotoksik *E. coli* (ETEC): ETEC suşlarının en önemli patojenite etkeni sıcaklığa dayanıklı ve/veya dayanıksız enterotoksinler oluşturma yeteneğidir. ETEC'nin neden olduğu diyare sulu sürgün ile belirgindir, hafif ateş ve mide bulantısı bu belirtilere eşlik eder. Ağır olaylarda, aşırı su kaybı ile kolera benzeri ishali anımsatır. ETEC bulaşması genelde fekal kirlenmeye uğramış gıda ve içme suyu ile gerçekleşir, çok az olarak yüzeysel temas kirlenmesi ile olabilir. ETEC suşları seyahat ishallerinin önde gelen etkenidirler. Seyahat ishallerinin % 40-70'inde ETEC suşlarına rastlanmıştır.

Enteropatojen *E.coli* (EPEC): EPEC tipik doku zararına neden olur. EPEC tutunmasından sonra belirgin olarak ince bağırsak epitel hücrelerine nüfuz etmeksizin ince bağırsak dokusunun mikrovillilerini tahrip eder. Özellikle bebek enteritlerine neden olan O26:H11, O86:H24 ve O125:H19 sero varyetelerinden korkulur. *E.coli* suşlarının yayılması yüzeysel temas (çocuk yuvalarında) veya besinlerin fekal kirlenmesi (şişe sütü, gıdalar) ile gerçekleşir. EPEC diyaresinin tanısı, etkenin kültüre alınması, biyokimyasal ve serolojik tanılanması ile olanaklıdır. Diğer bir tanılama olanağı EPEC suşunun EAF plazmidi ile melezlenmiş DNA-gen sondasının yapılmasıdır.

Enterogresiv *E.coli* (EAEC): EAEC kalın bağırsakta kolonileşir ve zarara yol açar. EAEC, EPEC' e benzer hastalık belirtilerine neden olur ve öncelikle gelişmiş ülkelerde gençlerde bağırsak rahatsızlıklarına neden olduğu ilişkilendirilmiştir. EAEC suşları 3 ayrı toksin oluşturur. Bunlar, enterotoksin (1), immunolojik olarak *E.coli* hemolisiniyle örtüşen bir toksin (2) ve ıvecen bağırsak rahatsızlıklarına neden olan (3) toksinlerdir.

Enterohemorrajik *E.coli* (EHEC): Bu grup verotoksin oluşturan *E.coli* (VTEC) Shigela benzeri toksin oluşturucu *E.coli* (SLEC) ve Shiga-toksin oluşturucu *E.coli* (STEC) ile eş anlamlıdır.

EHEC suşları ekstrem bulaşıcıdır. EHEC serovaryete O157:H7'nin 100'ün altında canlı hücrenin bulunduğu durumda bile hastalığa neden olduğu belirtilir. Çoğu diğer *E.coli* suşlarının tersine EHEC suşları çevre koşullarına aşırı dayanıklıdırlar ve düşük pH ve S_A değerlerini karşılayabilirler. Bu grubun patojen etkisinden;

- 1- Çok sayıda fajca kodlanan dokuya etkili sitotoksin,
- 2- Bağırsak hücresine tutunmayı sağlayan kromozomca kodlanmış adherans faktörü yanında,
- 3- Plazmidce kodlanmış EHEC hemolisini sorumludur.

Sitotoksin maymun böbrek hücresi kültürüne (vero hücreleri) etkisi esas alınarak verotoksin (VT₁ , VT₂ ve VT₃ alt tipleri) veya yapısal biyolojik yönden *Shigella dysenteriae* Tip 1'in Shiga-toksinine benzerliği esas alınarak Shiga-like toksin (*Shigella* benzeri toksin=SLT)olarak da tanımlanır. 150'nin üzerinde *E.coli* varyetesi baskın olarak *E.coli* O157:H7) ve diğer *Enterobacteriaceae* (*E.cloacea*, *C.freundii*) günümüze dek VT oluşturucular olarak tanımlanmışlardır.

EHEC çok değişik hastalık belirtilerine neden olmaktadır. Buna hemorrajik olmayan ve yaşamı tehdit eden ıvecen hemolitik-üremik sendromu (HUS) ve trombotik-trombositopenik purpura (TTP) olan hemorrajik kolit olayları da dahildir. Özellikle, genelde merkezi böbrek zararına yol açan, her yaş grubunda görülebilen, ancak 6 yaş altı çocuklarda sık rastlanan HUS korkutucudur. Olayların % 10-30'unda böbreklerin görev yapamaz duruma gelmesiyle hastalığın başlamasını takiben hastanın ölümüyle sonuçlanmaktadır. EHEC ile enfekte çocukların %5-10'unda hastalığın başlamasından bir hafta sonra, yani diyarenin kesilmesini takiben HUS olayı gerçekleşir.

EHEC suşları büyük sıklıkla sağlıklı sığırların ve koyun, keçi gibi diğer geniş getirenlerin bağırsak ve dışkısında bulunmuştur. Diğer hayvan türlerinde oldukça seyrek rastlanır. İnsanlar için en önemli bulaşma kaynağı çiğ veya yeterince pişmemiş sığır ürünleridir. Bu bağlantıya uygun olarak son yıllarda açıklanan epidemik vakalarda sığır eti ürünleri ile çiğ süt ve ürünleri bulaşma kaynağı olarak belirlenmiştir. Bebekler ve çocuklar için bulaşma kaynağı, EHEC suşlarını belirtisiz taşıyan aile büyükleri ile temas ve yüzeysel kirlenmedir.

EHEC suşlarının tanısı zordur. Diğer *E.coli* suşlarının tersine β -glukuronidaz oluşturamazlar ve sorbiti değerlendiremezler. Bu nedenle izolasyonları içim seçici besiyerine gereksinim vardır. EHEC O157'nin gıda homojenizatları veya ön kültürlerinden özgün zenginleştirmesi için O157 antikoru ile kaplanmış manyetik kürecikler ile seperasyon uygulanabilir. Serovaryete belirlenmesinden sonra gen sondaları ile verotoksin geni veya vero hücrelere toksitesi belirlenir.

2.5.3. *Listeria monocytogenes*

1980'lerden önce *Listeria monocytogenes*'in neden olduğu listeriozisin sığır ve koyunlarda yavru atma ile beyin zarı iltihabına neden olduğu için sadece veterinerleri ilgilendiren bir hastalık olduğu düşünülmüştür. Fakat daha sonrasında elde edilen bulgular veteriner listeriozisinin gıda kaynaklı olduğunu göstermiştir. Doğada yaygın olarak bulunması, uygunsuz yaşam koşullarında canlılığını uzun süre koruyabilmesi ve buzdolabı koşullarında gelişmesini sürdürebilmesi *Listeria*'nın önemli bir gıda kaynaklı patojen olarak kabul edilmesine neden olmuştur (Lovett ve Twedt 1988).

Listeria, fakültatif anaerob ve mikroaerofil, çomak veya kokobasil, bazen Çin alfabeti harfleri gibi görülen gram-pozitif, spor oluşturmeyen psikrotrof bir bakteridir. Altı adede kadar peritrik kamçısı bulunmakla birlikte, bakterinin hareketliliği gelişme sıcaklığına bağlıdır ve 20-25°C'de hareketlidir (Doğan 2000, Seeliger ve Jones 1986).

Taksonomik olarak önceleri *Coryneform* grup bakteriler içinde yer almış olmakla birlikte, 1986 yılından bu yana *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Brochothrix* cinsleri ile bir arada *Clostridium* alt dalında yer alır (Doğan 2000).

Listeria monocytogenes, su, tuzlu su, atık su, toz, toprak, silaj, gübre, çürümekte olan sebzeler, hayvan yemleri, hayvansal kaynaklı çiğ gıdalar, taze ve donmuş tavuk eti, kırmızı et ve ürünleri, balık, çiğ süttten elde edilmiş süt ürünleri (süt, beyaz peynir, dondurma), çiğ sebze ve meyveler, hem hasta hem de sağlıklı hayvanların dışkılarından izole edilmiştir (Koneman ve ark.1997). Bununla birlikte *Listeria*'nın kaynağı olarak toprak ve çürüyen sebzeler gösterilemez. Çürüyen sebzelerde *Listeria* saprofit olarak bulunur. *Listeria* 42 tür memeli hayvan, 22 tür kanatlı ile balık, kabuklu ve böceklerden izole edilmiştir. Dolayısıyla bitkisel ve hayvansal gıdalarda *Listeria* bulunması kaçınılmazdır (Doğan 2000).

Listeriozis etmeni olan *L.monocytogenes* son yüzyılın en önemli gıda kaynaklı patojenleri arasındadır. **β -Listeriolyisin** adı verilen bir hemolisin üretimine bağlı olarak patojenite gösterir. Bu hemolizinin üretimi ile lipaz üretimi arasında ilişki olduğu ve sadece virulent suşların lipolitik olduğu gösterilmiştir. Oluşturduğu hastalığın genel klinik görüntüsü menenjit ve/veya septisemiye benzer. Sağlıklı kişilerde nadiren görülürken, cenin ve yeni doğmuş bebeklerde, hamilelerde, özellikle bağışıklık sistemi hastalarında ve yaşlılarda ölüme kadar giden rahatsızlıklara neden olabilir. Hastalığın kuluçka süresi birkaç günden, 2-3 aya kadar değişebilir. İlk kez Birinci Dünya Savaşı sırasında menenjit şikayeti olan bir askerde belirlenmiştir. 1950’li yıllarda, yılda birkaç vaka görülürken, günümüzde bu sayı yılda yüzlerce vakaya ulaşmıştır. Listeriozis halk sağlığını yakından ilgilendirir. Hastalık diğer gıda kaynaklı patojenlerden farklı olarak ishal şeklinde değil menenjit, ensefalitis, septisemi ile ölü veya erken doğum gibi atipik şekillerde görülür. Sağlıklı erişkinlerde oldukça nadir ve genel nüfusa oranlandığında oldukça az vaka ile görülmekle birlikte, merkezi sinir sistemine ulaştığında % 20-50’ye varan ölüm oranı ile oldukça ciddi bir rahatsızlıktır. Hamilelerde belirtileri grip benzeri bakteriyel hastalık şeklinde gelişir, tedavi edilmez ise fetusa bulaşır ve ölü veya erken doğumlara neden olur. Yaşlılar ve özellikle bağışıklık sistemi hastaları listeriozisten daha fazla etkilenirler. Ergin hastaların % 30 kadarının bağışıklık sistemi hastası olduğu belirlenmiştir (Doğan 2000). *Listeria monocytogenes* bulaşmalarının yaklaşık %23-%70’i ölümlle sonuçlanabilmektedir. Listeriozis vakalarındaki ölüm oranı diğer gıda kaynaklı hastalıklara göre kayda değer derecede yüksektir. Ölüm oranı değişik klinik sendromlara göre değişmektedir (Koneman ve ark.1997).

1985 yılında ABD ve İsviçre’de *L.monocytogenes* bulaşmış yumuşak peynir ürünlerinin tüketilmesine bağlı ölümlerin görülmesi bu bakteriye önem verilmesini sağlamıştır (Doğan 2000). Listeriozisin Avrupa’da yıllık görülme sıklığı milyonda 0.1-11.3 arasında değişmektedir. Amerika’da ise bu oran 1992 yılı için milyonda 7.4 vaka olarak bildirilmiştir. Bu verilere göre yılda yaklaşık olarak 1850 listeriozis vakası görüldüğü tahmin edilmektedir (Koneman ve ark.1997).

Enfekte hastalarda *Listeria monocytogenes* kaynağı olarak lahana yada lahana salatası, pastörize süt, yumuşak peynirler, yeterli pişmemiş tavuk eti, balık, midye,

mantar ve şarküteri tezgahlarında dilimlenmiş et ürünleri ve peynirler ile sebzeler gösterilmiştir (Koneman ve ark.1997).

Listeria monocytogenes spor oluşturmamasına rağmen, olumsuz çevre koşullarına uzun süre dayanabilme yeteneğine ve psikrotrof özelliğe sahiptir. Bu özellikleri nedeni ile gıdalar sadece hammaddeden değil, üretim zincirinin çeşitli aşamalarından da *L. monocytogenes* ile bulaşabilirler (Tükel ve Doğan 2000).

Listeria monocytogenes açısından en riskli gıdalar tüketime hazır ve soğukta uzun süre depolanmış gıdalar ile, 100 kob/g'dan fazla sayıda *Listeria monocytogenes*'le bulaşmış gıdalardır (Tükel ve Doğan 2000).

2.5.4. *Yersinia enterocolitica*

Enterobacteriaceae familyası üyesi olan *Yersinia enterocolitica*, gram-negatif, fakültatif anaerob, sporsuz bir bakteridir. Genç kültürler mikroskopta kokobasil şeklinde görülmekte, yaşlanma ile birlikte çomak şekline dönüşmektedirler. Psikrotrof bir bakteri olmasına rağmen, 0-44°C gibi çok geniş bir aralıkta gelişme gösteren *Yersinia enterocolitica*'nın -2°C'de gelişebilen suşları da vardır (Tükel ve Doğan 2000). *Yersinia enterocolitica* toprak, göller ve su depolarında yaygın olarak bulunmaktadır (Koneman ve ark.1997). *Yersinia enterocolitica*'nın sık olarak izole edildiği gıdalar arasında çiğ etler, süt, süttozu, dondurma, peynirler, krema, çiğ sebzeler, yetersiz işlem görmüş su, balık ve istiridyeler bulunmaktadır. Ayrıca, nadiren de olsa pastacılık ürünleri, yumurta, sosis ve pişmiş gıdalardan da izole edilmiştir (Tükel ve Doğan 2000). *Y. enterocolitica*'nın +4°C'de gelişebilme yeteneği, buzdolabında saklanan etlerin de iyi birer bulaşma kaynağı olabileceğini düşündürmektedir. Amerika'da çeşitli eyaletlerde görülen salgınlara, pastörize ve çikolatalı süt yanında fasulye filizlerinin de neden olduğu saptanmıştır. Mikroorganizma, göller, akarsular ve içme sularından izole edilmesine rağmen, su tüketiminden kaynaklanan sadece birkaç bulaşmaya rastlanmıştır (Butler 1990). Ayrıca, memeli hayvanların yanı sıra, kanatlılar, kurbağa, balık, sinek gibi pek çok hayvanın bağırsak sisteminde de bulunmuştur (Tükel ve Doğan 2000). Domuzlar *Y.enterocolitica*'nın virulent suşlarının deposu olarak kabul edilseler de, domuz eti tüketiminden kaynaklanan yersiniozis salgınına rastlanılmamıştır. Japonya'da yapılan bir araştırma ise farelerin *Yersinia*'nın virulent suşlarının

taşınmasında etkili olduğunu göstermiştir (Doyle 1988). Bulaşık hayvanlardan insanlara mikroorganizma geçişinin evcil köpekler yoluyla olduğu düşünülmektedir (Butler 1990).

Özellikle yedi yaşından küçük erkek çocuklarda, kız çocuklarına ve yetişkinlere oranla daha sık *Yersinia enterocolitica* bulaşmalarına rastlanmaktadır. Bazı kaynaklarda cinsiyet ayrımı yapılmadan beş yaşın altındaki çocuklarda daha sık görüldüğü, çocukların yetişkinlere oranla 4 kez daha fazla risk altında oldukları belirtilmektedir (Tükel ve Doğan 2000, Evans ve Feldman 1982). Montreal'de çocuklarda görülen gastroenteritis vakaları üzerinde yapılan bir araştırma sonucunda *Yersinia enterocolitica*'nın (% 2.8) *Salmonella*'dan (% 4.4) sonra en sık rastlanılan patojen olduğu görülmüştür (Evans ve Feldman 1982). Yersiniozis, çoğu defa hafif bir ateş ve mide ağrısı ile birlikte diyare ve/veya kusma ile kendini belli eder. Ayrıca, apandisit benzeri karın krampları ve yüksek ateş de belirleyici semptomlardır. Dışkı suludan mukoide kadar değişkenlik gösterir, % 10'dan daha az hastada bariz kanlı dışkı görülür. Genelde hastalık, bulaşık gıdanın tüketiminden 24-48 saat sonra ortaya çıkar. Ancak bu süre 11 güne kadar da uzayabilmektedir. Hastalık karakteristik olarak birkaç günde sona ermekle birlikte, 3-4 haftaya, hatta kronik enterokolit durumunda birkaç aya kadar uzayabilir (Tükel ve Doğan 2000).

Düşük sıcaklık derecelerine dayanıklı olduğundan enfeksiyonlar özellikle kış aylarında ortaya çıkmaktadır. Buzdolabı koşullarında saklama genelde gıda kaynaklı patojenlerin gelişiminin önlenmesinde önemli bir yol olsa da *Yersinia* kontrolü için pek de etkili bir yöntem değildir (Doyle 1988).

Enfeksiyonun başlıca kaynağı bulaşık su ve gıdalar olmasına karşın, çok az olarak hastanelerde insandan insana ya da kan nakli sırasında bulaşabilir (Tükel ve Doğan 2000). Çoğu vakada sindirim kanalı vücuda giriş de taşıyıcı rol oynamaktadır. Enfektif doz hakkında kesin bilgi olmamakla birlikte 10^9 kadar olduğu tahmin edilmektedir. 4-7 gün kadar süren bir kuluçka zamanından sonra nadiren kalın bağırsağın üst kısımlarında, fakat genellikle son kısımda mukozada ülserlere, mezenterik lenf düğümlerinde ise genişlemelere neden olmaktadır. Birçok vakada, apandis histolojik açıdan normaldir yada hafif iltihaplanma görülür.

2.5.5. *Enterobacter aerogenes*

Enterobacter aerogenes, *Enterobacteriaceae* familyasına dahil, gram-negatif, hareketli, fakültatif anaerob olup, düzgün çomak şekline sahiptir.

Tüm *Enterobacter* türleri gibi *E. aerogenes* de doğada özellikle suda, atık sularda, toprakta, sebzelerde ve süt ürünlerinde yaygın olarak bulunur. İnsan ve hayvan dışkısında bulunmasına rağmen, enterik bir patojen olmadığı belirtilmektedir. Solunum yolları, genital sistem ve idrar yollarının yanı sıra, irin, kan ve omurilik sıvısından izole edilmiş fırsatçı bir mikroorganizmadır (Richard 1986, Koneman ve ark. 1997). Solunum sistemi, idrar yolları ile ilgili olarak ya da yanık ve kesiklerin tedavisi için antibiyotik uygulaması yapılan hastalarda bu mikroorganizmaya sıklıkla rastlanmaktadır (Eisenstein 1990).



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Araştırma materyali olarak 11 farklı baharat, kekik, nane, kimyon, hardal, anason, rezene, sarımsak, soğan, taze acı biber, pul biber (isot) ve kantaron kullanılmıştır. Baharatlar Bursa bölgesindeki çeşitli aktarlar ve marketlerden veya pazarlardan satın alınmış veya araziden (kantaron) toplanmıştır.

Araştırma kapsamında insan bağırsak kaynaklı, hastalık yapıcı 5 ayrı bakteri türü ile çalışılmıştır. Bu bakteriler;

- *Escherichia coli* ATCC 35218,
- *Salmonella typhimurium* ATCC 14028,
- *Listeria monocytogenes* ATCC 7644,
- *Yersinia enterocolitica* ATCC 9610 ve
- *Enterobacter aerogenes* CCM 5445'dir.

Bu bakterilerden ilk 4'ü Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Bölümü'nden, sonuncusu ise Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden temin edilmiştir.

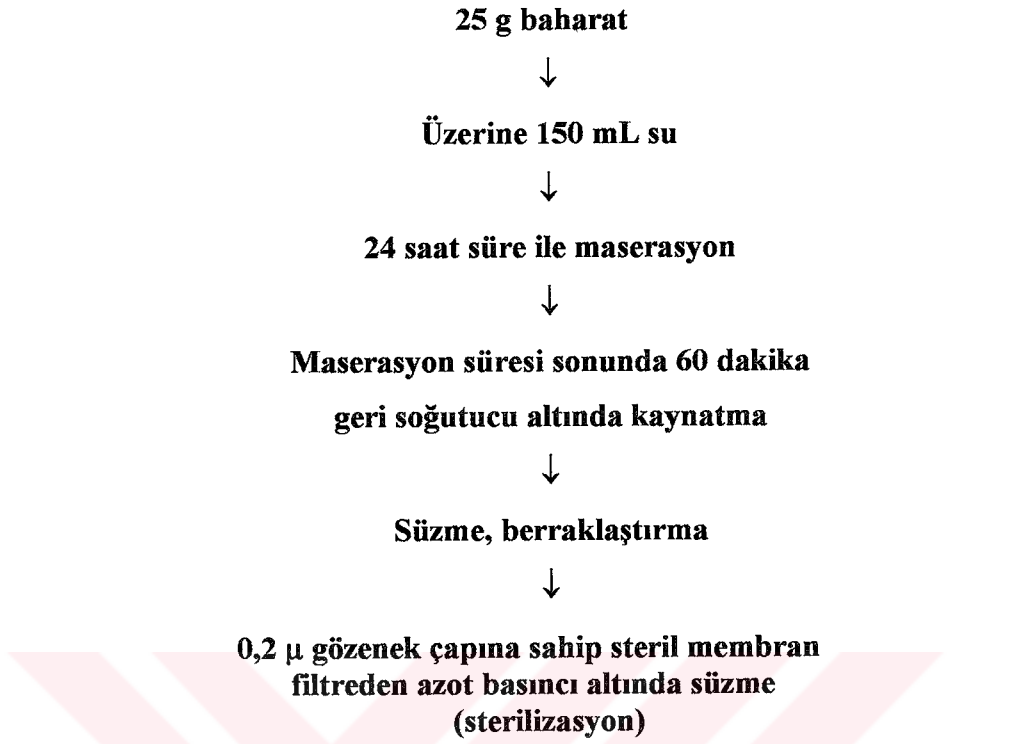
Kültürler Nutrient Agar (NA) yatık besiyeri üzerinde +4°C'de korunmuş, 2 haftada bir yenilenerek, araştırma süresince muhafaza edilmiştir.

Test besiyeri olarak, *E. coli*, *S. typhimurium* ve *E. aerogenes* için Eosin Methylen Blue (EMB) Agar, *L. monocytogenes* için Listeria Selective Agar, *Y. enterocolitica* için ise Yersinia Selective Agar kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Baharat Özütlerinin Hazırlanması

Baharat özütlerinin elde edilişi akış diyagramları şeklinde verilmiştir (Şekil 3.1-3.5). Denemelerin tümünde bu yöntemle taze hazırlanmış sulu özütler kullanılmıştır.



Şekil 3.1. Kekik, nane, kimyon, hardal, anason, rezene, pul biber, kantaron
özütlerinin elde edilmiş akış şeması

**120 g kabukları soyulmuş sarımsak
blendırda ezildi**



Üzerine 60 mL su ilave edildi



Bez torbadan süzüldü



Berraklaştırmak amacıyla filtre edildi



**0,2 µ gözenek çapına sahip steril membran
filtreden azot basıncı altında süzme
(sterilizasyon)**

Şekil 3.2. Sıcaklık uygulamasız olarak sarımsak
özütünün elde edilmiş işlemleri

260 g taze kırmızı olgunlukta arnavut biberi



Blendırda parçalama



1 gün süre ile oda sıcaklığında bekletme



Bez torbadan süzme



**5 dakika süre ile kaynatma ve çöktürme
(Tortu dibe çöktü)**



**Toz aspest kullanarak katlı filtreden süzme
(berraklaştırma)**



**0,2 µ gözenek çapına sahip steril membran
filtreden azot basıncı altında süzme
(sterilizasyon)**

Şekil 3.3. Acıbiber özütünün elde ediliş akış şeması

**250 g kabukları soyulmuş soğan
blendırda ezildi**



Bez torbadan süzöldü



Berraklaştırmak amacıyla filtre edildi



**0,2 µ gözenek çapına sahip steril membran
filtreden azot basıncı altında süzme
(sterilizasyon)**

Şekil.3.4. Soğan özütünün elde ediliş akış şeması

mikroorganizma sayısı nefelometre (Crystalspec-Becton Dickinson and Co. USA.) kullanılarak belirlenmiştir. Eğer gerekiyorsa uygun seyreltmeler yapılarak mikroorganizma hücre sayısı 10^7 adet/mL olacak şekilde ayarlanmıştır. Bu şekilde hazırlanan süspansiyondan boş steril tüplere 0,5 mL alınmış, üzerine değişen derişimlerdeki baharat özütlerinden 0,5'er mL ilave edildikten sonra 37°C'de inkübatörde gelişmeye bırakılmıştır. 24., 48. ve 72. saatlerin sonunda her mikroorganizmaya özgü besiyerlerine sürme yöntemi ile ekim yapıp, 37°C'de 24 saat sonunda gelişme olup olmadığı saptanmaya çalışılmıştır. Bunlara ek olarak baharat özütü ve 24 saatlik kültürden aynı besiyerlerine kontrol ekimleri yapılmıştır.

3.2.3.2. Disk Difüzyon Yöntemi

Stok kültürden alınan test mikroorganizmaları 10 mL sıvı besiyeri içeren tüplere aşılandıktan sonra 37°C'de 24 saat süre ile gelişmeye bırakılmıştır. Süre sonunda gerekli seyreltmeler yapılarak her mikroorganizmaya özgü besiyerlerine dökme plak yöntemi ile ekim yapılarak sayımları yapılmıştır. Bu amaçla *E. coli*, *S. typhimurium* ve *E. aerogenes* için Eosin Methylen Blue (EMB) Agar, *L. monocytogenes* için Listeria Selective Agar, *Y. enterocolitica* için ise Yersinia Selective Agar kullanılmıştır.

Sayım amaçlı ekimi takiben 24 saatlik kültürden 0,1 mL alınıp, Mueller Hinton Agar steril besiyeri dökülmüş petrilere aşılanmış, drigalski spatülü yardımı ile tüm besiyeri yüzeyine yayılmıştır. Ekimden hemen önce baharat özütleri emdirilmiş antibiyotik diskler engelleme alanları birbiri ile karışmayacak şekilde mikroorganizma yayılmış besiyeri üzerine yerleştirilmiştir. Bu şekilde hazırlanan petri kapları 24 saat süre ile 37°C'de gelişmeye bırakılmıştır. Süre sonunda özütlerin etkisi ile oluşan etki alanlarının çapları (mm) ölçülmüş ve etki alanı belirgin olan örneklerden fotoğraflar çekilmiştir.

4. BULGULAR

Yöntemlerde de belirtildiği gibi, araştırmada baharatların bağırsak kökenli patojenlere etkisini belirlemede iki ayrı uygulama gerçekleştirilmiştir. Bunlarla elde edilen bulgular aşağıda ayrı alt başlıklar halinde açıklanmıştır.

4.1. Tüp Seyreltme Yöntemi Bulguları

Yapılan çalışma sonucunda, farklı baharatların, değişik bakteri türlerine etkileri değişkenlik göstermiştir. Örneğin, sarımsak denemeye alınan tüm patojenlere engelleyici etki yaparken, diğer baharatların etkileri bazı türlerle sınırlı kalmıştır. Benzer şekilde etkin derişimlerde de önemli farklar saptanmıştır. Bu durum dikkate alınarak bulguların deneme mikroorganizmaları için ayrı ayrı incelenmesinin yararlı olacağı görüşüne varılmıştır. Aşağıdaki bölümlerde deney mikroorganizmaları esas alınarak elde edilen bulguların açıklaması yapılmıştır.

4.1.1. *Salmonella typhimurium* ATCC 14028

Tüp seyreltme yöntemiyle *S. typhimurium* üzerine baharatların etkisini belirlemek üzere yapılan çalışmalarda, yalnızca sarımsaktan doğal haliyle elde edilen özütün bu türe etkili olduğu; pişirilmiş sarımsak özütü de dahil diğer baharatların engelleyici etki göstermedikleri saptanmıştır. Doğal sarımsak özütü ile elde edilen bulgular Çizelge 4.1.'de verilmiştir. Çizelge 4.1.'de verilen 325 mg/mL derişimi soyulmuş ve ezilerek püre haline getirilmiş sarımsak ağırlığının yarısı kadar su ilavesi ile elde edilen özütün, deney hücre konsantrasyonuna seyreltilmiş bakteri süspansiyonu ile 1:1 oranında karıştırıldığında toplam hacimdeki derişimi ifade etmektedir. Diğer derişimlere bu ana özütü steril damıtık su ile gereğince seyreltme ve seyreltiği bakteri süspansiyonu ile 1:1 oranında karıştırma sonucunda ulaşılmıştır.

Çizelge 4.1. *S. typhimurium*'a sarımsağın engelleyici etkisi

Baharat Cinsi	En düşük engelleyici doz mg/mL		
	24 saat	48 saat	72 saat
Sarımsak	325	162,5	54,1

Belirli hücre konsantrasyonuna seyreltilmiş bakteri süspansiyonu, Çizelge 4.1'de verilen derişimlerdeki sarımsak ile, yine çizelgede verilen süre boyunca bekletilmiş ve daha sonra EMBA besiyerine yapılan yüzeye ekimi takiben 24 saat 37°C'de gelişmeye bırakılan petriyer gelişme olup olmayışına göre değerlendirilmiştir. Aslında Çizelge 4.1'de verilen miktarlar dışındaki ara derişimler de denenmiş, ancak 325-162.5 mg/mL arası miktarlar 24 saat, 162.5-54.1 mg/mL arası miktarlar 48 saat ve 54.1 mg/mL'nin altı 72 saat sonunda gelişmeyi tümünden engelleyemediği için en düşük engelleyici dozlar çizelgeye alınmıştır.

Sarımsağın sıcaklık uygulaması ile elde edilen özüt ile, araştırma materyali olarak kullanılan diğer baharatların *S.typhimurium* üzerine engelleyici etkileri belirlenmemiştir.

4.1.2. *Escherichia coli* ATCC 35218

E. coli üzerine sarımsak yanında kekik ve nanenin de gelişmeyi engelleyici etkileri saptanmıştır. Yani *E. coli*, *S.typhimurium*'a göre baharatlara daha duyarlıdır. Bu özellik 24 saatlik etki süresinde, *S.typhimurium*'a uygulanan yarı sarımsak derişiminde bile yaşama yeteneğini kaybetmesi ile de kanıtlanmıştır. *E. coli*'nin engellendiği etkin baharatlara karşı durumu Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. *E.coli* üzerine değişik baharatların etkileri

Baharat cinsi	En düşük engelleyici doz mg/mL		
	24 saat	48 saat	72 saat
Kekik	52.5	-	-
Nane	-	-	70
Sarımsak	162.5	108.5	54.1

Çizelge 4.2'den anlaşılacağı gibi kekik *E. coli*'nin gelişmesini engelleyici özelliğe sahiptir. Ancak, buradaki etki kekik miktarına bağlı olup, yalnızca 52.5 mg/mL'lik dozda, 24 saatte ölüm gerçekleşmiştir. Miktarın azaltılmasıyla sürdürülen

deneylerde, süre uzatımına rağmen tümüyle engelleyici etki belirlenememiş ve etki süreleri sonundaki ekimlerde gelişmeler izlenmiştir.

Nane ile, kekikte elde edilen bulgulara ters sayılabilecek değerler elde edilmiştir. Yalnızca 70 mg/mL'lik derişimde ve ancak 72 saatlik etki sonunda engelleyici etki izlenmiştir. Bu da nanenin *E. coli* üzerine etkisinin zayıf olduğunu göstermektedir.

Sarımsak *E. coli* için de engelleyici etkilidir. Bu etki *S. typhimurium*'da olduğundan daha belirgin olup, 162.5 mg/mL miktarda 24 saatlik etki süresi sonunda hiçbir gelişme olmamıştır. Ancak, sarımsak miktarı azaldıkça etki süresinin uzatılması gerekmiş ve 54.1 mg/ml'nin altındaki miktarlarda 72 saatlik etki süresi bile yetersiz kalmıştır.

4.1.3. *Enterobacter aerogenes* CCM 5445

E. aerogenes üzerine sarımsak, kekik ve nanenin yanısıra, hardal, kantaron ve taze acıbiberin de engelleyici etkisi saptanmıştır. Yani, *E. aerogenes*, *S. typhimurium* ve *E. coli*'ye göreceli olarak daha çok sayıda baharata karşı duyarlı bulunmuştur. *E. aerogenes*'in etkili baharatlara karşı durumu Çizelge 4.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.3. *E.aerogenes*'e çeşitli baharatların etkileri

Baharat cinsi	En düşük engelleyici doz mg/mL		
	24 Saat	48 Saat	72 Saat
Kekik	70	42	-
Nane	42	-	-
Hardal	-	52.5	42
Sarımsak	108.3	-	54.1
Kantaron	70	52.5	-
Taze acıbiber	374	-	-

Yapılan denemeler sonucunda kekiğin *E.coli*'de olduğu gibi *E.aerogenes* üzerine de engelleyici etkisi olduğu, 70 mg/mL derişimde, 24 saat sonunda gelişmeyi tümünden engellediği belirlenmiştir. Özüt derişimi düşürülerek sürdürülen denemeler sonunda engelleyici etki ancak 48 saat sonunda gözlemlenebilmiştir. 48 saat sonunda etkili en düşük dozun 42 mg/mL olduğu saptanmıştır. Daha düşük derişimlerde ise 72 saat sonunda bile gelişme gözlenmiştir.

Nane ile yapılan denemede, 24 saat sonunda tümüyle engelleyici etki için gerekli özüt derişimi 42 mg/mL olarak belirlenmiş, bu değerin aynı etkileşim süresinde kekik için gerekenden az olduğu belirlenmiştir. Daha düşük derişimlerle denemeye devam edildiğinde ise uzayan süreye rağmen gelişmenin engellenemediği gözlenmiştir. Bu değerler göz önünde bulundurulduğunda *E. aerogenes*'in, *E. coli*'ye göreceli olarak naneye karşı daha duyarlı olduğu saptanmıştır.

Hardal ile yapılan deneme sonuçlarına bakıldığında, hardal özütünün hiç seyreltilmeden 1:1 oranında bakteri süspansiyonu ile karıştırılması ve gelişmeye bırakılması sonunda yapılan ekimlerde 24 saat sonunda gelişmenin engellenemediği gözlenmiş, ancak 48 saat sonunda ölüm belirlenebilmiştir. 48 saat sonunda tümten engelleyici etki sağlayan en düşük derişimin 52.5 mg/mL olduğu, daha düşük derişimlerde ise etki süresinin 72 saate uzadığı saptanmıştır. 72 saatlik etkileşim süresi sonunda en düşük engelleyici dozun 42 mg/mL olduğu saptanmıştır.

E. aerogenes gelişmesini 24 saat içerisinde tümten engellemek için gerekli sarımsak miktarı Çizelge 4.3'de de görüldüğü gibi *S. typhimurium* ve *E. coli* için gerekenden daha düşük bulunmuş, 108.3 mg/mL özüt derişimi ile *E. aerogenes* gelişmesi tümten önlenebilmiştir. Bu değerin altındaki derişimlerde ancak 72 saat sonunda engelleyici etki gözlemlenebilmiştir. 72 saat sonunda engelleyici etki sağlayan en düşük sarımsak özütü derişiminin 54.1 mg/mL olduğu saptanmıştır.

E. aerogenes gelişmesini tümten engelleyici etkiye sahip baharatlardan biri de kantarondur. Çizelge 4.3'de de görüldüğü gibi 24 saat sonunda *E. aerogenes* gelişmesini tümten engelleyebilecek en düşük kantaron derişimi 70 mg/mL olarak saptanmıştır. Kantaron derişimi düşürüldüğünde 24 saat sonunda ölüm görülmemiş, etki süresinin uzaması gerekliliği doğmuştur. 48 saat sonunda ölüm gözlemlenebilen en düşük derişim 52.5 mg/mL'dir. Daha düşük kantaron derişimlerinde ise 72 saatin sonuna kadar beklenmesine rağmen engelleyici etki görülmemiştir. Kantaron *S. typhimurium* ve *E. coli* üzerine engelleyici etki göstermemiş olmasına rağmen, Çizelge 4.3'de de görülmekte olduğu gibi diğer iki mikroorganizma üzerine etkili kekik ile aynı derişimde aynı etkiyi gösterebilmiştir.

S. typhimurium ve *E. coli* üzerine engelleyici etkide olmayan fakat *E. aerogenes* gelişmesini durduran bir diğer baharat ise taze acıbiberdir. Taze acıbiber özütü 375

mg/mL yani % 37.5 gibi oldukça yüksek bir değerle bu mikroorganizmanın gelişimini durdurmuştur. Bu değerin altına inildiğinde ise süre uzamasına rağmen engelleyici etki gözlemlenememiştir.

4.1.4. *Listeria monocytogenes* ATCC 7644

L. monocytogenes üzerine deneme kapsamındaki baharatlardan kekik, nane, hardal, sarımsak, kantaron ve kimyon özütlerinin etkili olduğu gözlemlenmiş, bunların zamana bağlı olarak etkili oldukları en düşük derişimleri Çizelge 4.4’de verilmiştir.

Çizelge 4.4. *L. monocytogenes*’e çeşitli baharatların etkileri

Baharat cinsi	En düşük engelleyici doz mg/mL		
	24 Saat	48 Saat	72 Saat
Kekik	17.5	-	7
Nane	42	-	35
Hardal	-	35	-
Sarımsak	81.25	32.5	-
Kantaron	17.5	7	-
Kimyon	-	-	70

E. coli ve *E. aerogenes* üzerine de engelleyici etkiye sahip olan kekiğin, *L. monocytogenes* gelişmesini de önlediği gözlemlenmiştir. *L. monocytogenes*’in 24 saat içinde ölümü için gereken kekik özütü derişimi 17.5 mg/mL olarak saptanmış, bu değerin *E. coli* ve *E. aerogenes* için gerekenlerden düşük olduğu, *L. monocytogenes*’in bu iki mikroorganizmaya göreceli olarak kekiğe karşı daha duyarlı olduğu görülmüştür. 17.5 mg/mL’nin altındaki derişimlerle yapılan denemelerde 48 saatin sonunda Listeria Selektif Agar’a yapılan ekimler sonucunda gelişme görülmüş, ancak 72 saatin sonunda ölüm olayı gözlemlenebilmiştir. 72 saatlik etkileşim süresi sonunda *L. monocytogenes* gelişmesini tümünden önleyen derişim değerinin 7 mg/mL olduğu bulunmuştur. Yüzde olarak ifade edildiğinde, kekiğin % 0,7 gibi düşük bir derişimde *L. monocytogenes*’in gelişmesini tümünden önlediği belirlenmiştir.

Nane, *E.coli* ve *E. aerogenes* üzerine olduğu gibi *L. monocytogenes* üzerine de engelleyici etki göstermiştir. Kekik özütünde gözlenen durumun benzeri nane özütü için de geçerli olduğu saptanmıştır.Yapılan seri denemeler sonucunda *L. monocytogenes* gelişmesini 24 saatlik etkileşim süresi sonunda engelleyebilen en düşük nane özütü

derişiminin 42 mg/mL olduğu belirlenmiştir. Bu değerin altındaki derişimler denendiğinde ise kekikte gözlemlenen durum ortaya çıkmış, 48 saat sonunda değil, ancak 72 saat sonunda ölüm gözlemlenebilmiştir. 72 saatlik etkileşim süresi sonunda *L. monocytogenes* gelişmesini tümünden engelleyebilen en düşük nane özütü derişiminin 35 mg/mL olduğu saptanmıştır.

Hardal, *E. aerogenes*'de olduğu gibi, *L. monocytogenes* üzerine de ancak 48 saatlik etkileşim süresi sonunda engelleyici etki gösterebilmiştir. Hardaldan elde edilen özüt hiç seyreltilmeden 1:1 oranında deneme konsantrasyonundaki bakteri süspansiyonu ile karıştırılıp, 37°C'de gelişmeye bırakıldığında, 24 saat sonunda gelişmenin halen devam ettiği, ancak 48 saat sonunda ölümün gerçekleştiği saptanmıştır. 48 saatlik etkileşim süresi sonunda gelişmeyi tümünden engelleyen en düşük hardal derişiminin 35 mg/mL olduğu gözlemlenmiş, daha düşük derişimlerde 72 saat sonunda bile engelleyici etki saptanamamıştır.

Daha önce adı geçen tüm bakteriler üzerine engelleyici etkiye sahip sarımsağın *L. monocytogenes* üzerine de etkili olduğu gözlemlenmiştir. Çizelge 4.1-4.4 incelendiğinde *L. monocytogenes*'in engellenmesi için gerekli sarımsak derişiminin, *S. typhimurium*, *E. coli* ve *E. aerogenes* için gerekenden daha düşük olduğu görülmektedir. Çizelge 4.4'de de görüldüğü gibi, 24 saat sonunda gelişmeyi engelleyici en düşük sarımsak derişiminin 81.25 mg/mL olduğu belirlenmiştir. Daha düşük derişimlerde 24 saat sonunda yapılan ekimlerde gelişme görülmüş, ancak 48 saat sonunda ölüm saptanabilmiştir. 48 saat sonunda engelleyici etkiye sahip en düşük doz 32.5 mg/mL olarak bulunmuştur. 32.5 mg/mL'nin altındaki değerlerde ise etkileşim süresi 72 saate uzamasına rağmen ölüm gözlemlenememiştir.

L. monocytogenes üzerine engelleyici etkiye sahip diğer bir baharat ise kantarondur. Çizelge 4.4'de görüldüğü gibi 24 saatlik etkileşim süresi sonunda gelişmeyi engelleyen en düşük dozun 17.5 mg/mL olduğu saptanmıştır. Çizelge 4.3 incelendiğinde bu değerin *E. aerogenes* için gereken miktarın oldukça altında olduğu görülmektedir. Bu değerin altındaki derişimlerin ise ancak 48 saat sonunda etkili olduğu; 48 saat sonunda engelleyici etkiye sahip en düşük dozun ise 7 mg/mL olduğu belirlenmiştir. Daha düşük dozlarda ise 72 saatin sonunda bile engelleyici etki gözlemlenememiştir.

Yapılan denemeler sonucunda kimyonun da *L. monocytogenes* üzerine engelleyici özelliğe sahip olduğu görülmüştür. Kimyonun sulu özütü seyreltilmeden yapılan denemede ancak 72 saat sonunda engelleyici etki saptanabilmektedir. Çizelge 4.4 incelendiğinde bu değer 70 mg/mL olduğu görülmektedir.

4.1.5. *Yersinia enterocolitica* ATCC 9610

Yapılan denemeler sonucunda *Y. enterocolitica*'nın deneme kapsamındaki 8 baharattan (kekik, nane, hardal, sarımsak, taze acı biber, kimyon, rezene ve anason) etkilendiği saptanmıştır. Bu baharatların engelleyici etkiye sahip en düşük dozlarını zamana bağlı değerleri Çizelge 4.5'de görülmektedir.

Çizelge 4.5. *Y. enterocolitica*'ya çeşitli baharatların etkisi

Baharat cinsi	En düşük engelleyici doz mg/mL		
	24 Saat	48 Saat	72 Saat
Kekik	-	70	35
Nane	-	70	23
Hardal	-	23	-
Sarımsak	54.1	-	-
Taze acı biber	-	-	170
Kimyon	-	70	35
Rezene	-	70	35
Anason	-	-	23

Kekiğin *E. coli*, *E. aerogenes* ve *L. monocytogenes*'e ek olarak *Y. enterocolitica* üzerine de engelleyici etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Çizelge 4.2-4.5 incelendiğinde, kekiğin değişen özüt derişimleriyle adı geçen bu üç mikroorganizmayı 24 saat sonunda etkilediği, fakat bu durumun *Y. enterocolitica* için geçerli olmadığı görülür. Kekiğin sulu özütünün hiç seyreltilmeden 1:1 oranında bakteri süspansiyonu ile karıştırılması sonucunda bile en erken 48 saat sonunda engelleme gözlemlenebilmiştir. 48 saat sonunda bu etki en düşük 70 mg/mL derişimle sağlanabilmektedir. Derişimler düşürülerek sürdürülen denemelerde 72 saat sonunda ölüme neden olabilen en düşük derişimin ise 35 mg/mL olduğu belirlenmiştir. Bu verilere dayanarak; *Y. enterocolitica*'nın, *E. coli*, *E. aerogenes* ve *L. monocytogenes*'e göreceli olarak kekiğe karşı daha dayanıklı olduğu söylenebilmektedir.

Y. enterocolitica'ya etkili olan baharatlardan biri de nane'dir. Nandede de kekiğe benzer bir durum gözlenmiş olup, ilk 24 saat sonunda engelleyici etki saptanamamıştır. Nane özütü seyreltilmeden yapılan deneme sonucunda bile engelleyici etki ancak 48 saat sonunda görülmüştür. 48 saat sonundaki en düşük engelleyici derişim Çizelge 4.5'de de görüldüğü gibi 70 mg/mL olarak belirlenmiştir. Bu dozun altındaki derişimlerde sürdürülen denemelerde ancak 72 saatlik etkileşim süresi sonunda ölüm gözlemlenebilmiş, en düşük etki dozu olarak da 23 mg/mL saptanmıştır.

Hardalın *Y. enterocolitica* üzerine etkisi incelendiğinde, elde edilen bulgular sonucunda, hardalın *Y. enterocolitica*'ya da, *E. aerogenes* ve *L. monocytogenes*'e benzer bir etkide bulunduğu gözlemlenmiştir. Çizelge 4.3-4.5 incelendiğinde, hardal özütünün seyreltilmeden bile denendiğinde bu üç mikroorganizmayı da 24 saatlik etkileşim süresi sonunda engelleyemediği saptanmıştır. Engelleyici etki en erken 48 saat sonunda gözlemlenmiştir. 48 saat sonundaki en düşük engelleyici derişimin 23 mg/mL olduğu belirlenmiş, daha düşük dozların 72 saat sonunda da etkisiz olduğu saptanmıştır.

Deneme kapsamındaki tüm mikroorganizmalara olduğu gibi, sarımsağın *Y. enterocolitica* üzerine de etkili olduğu gözlemlenmiştir. Yapılan denemeler sonucunda, Çizelge 4.5.'de de görüldüğü gibi 24 saatlik etkileşim süresi sonunda en düşük engelleyici dozun 54.1 mg/mL olduğu belirlenmiştir. Çizelge 4.1-4.5 incelendiğinde bu değer diğer tüm mikroorganizmalar için gerekenden daha düşük olduğu, sonuç olarak da *Y. enterocolitica*'nın sarımsağa karşı deneme kapsamındaki en duyarlı mikroorganizma olduğu söylenebilmektedir. 54.1 mg/mL'nin altındaki derişimlerde ise ne 48 saat, ne de 72 saat sonunda engelleyici etki saptanamamıştır.

Y. enterocolitica üzerine etkili baharatlardan biri de taze acıbiberdir. Taze acıbiberden elde edilen sulu özüt hiç seyreltilmeden yapılan denemede Yersinia Selektif Agar'a yapılan ekimler sonucunda ancak 72 saat sonunda ölüm gözlemlenebilmiştir. Derişim düşürülerek devam edilen denemelerde, en düşük engelleyici doz olarak 170 mg/mL değeri bulunmuştur. Çizelge 4.3.'de de görüldüğü gibi taze acıbiber özütü *E. aerogenes* üzerine 24 saat sonunda 375 mg/mL derişimde etkili olmuştur. Sonuç olarak *Y. enterocolitica* üzerine etkili taze acıbiber miktarı, *E. aerogenes* üzerine etkili olandan çok daha düşük, fakat etkileşim süresi daha uzun olarak saptanmıştır.

4.2. Disk Difüzyon Yöntemi Uygulamalarına Ait Bulgular

Araştırmanın önemli ve güvenilir çalışmalarını teşkil eden tüp seyreltme yöntemiyle, baharatların bağırsak kökenli patojen etkili bazı bakterilere karşı etkileri belirlendikten sonra, bu etkiyi görsel olarak da belirlemek amacıyla yapılan disk yöntemi uygulamasına geçilmiş ve sarımsak, nane ve kekikte belirli sonuçlara ulaşılmıştır. Bu baharatlarla elde edilen değerler Çizelge 4.6-4.8’de verilmiştir. Diğer baharatlarda engelleme bölgesinin zayıf kalması ve sağlıklı ölçüm yapılamaması nedeniyle gelişmeler çizelgeye dönüştürülemedi.

Çizelge 4.6. Sarımsağın araştırma materyali bakterilere karşı etkiler

Deneş bakterisi ve aşılama konsantrasyonu	İnhibisyon Zonu (mm)					
	5 µL 3,35 mg	10 µL 6,7 mg	15 µL 10,05 mg	20 µL 13,4 mg	25 µL 16,75 mg	30 µL 20,10mg
<i>S. typhimurium</i> 38 x10 ⁷ adet/mL	8	9	11	12	14	14
<i>E.coli</i> 30 x10 ⁷ adet/mL	8	11	13	13	13	15
<i>E. aerogenes</i> 18 x10 ⁷ adet/mL	8	8	9	11	11	11
<i>L. monocytogenes</i> 15 x10 ⁷ adet/mL	-	-	-	7	7	7
<i>Y. enterocolitica</i> 8 x10 ⁷ adet/mL	8	12	12	15	15	16

Çizelge 4.6’da görüldüğü gibi sarımsağın deneş mikroorganizmaları üzerine geniş bir engelleyici etkisi olduğı görsel olarak da saptanmıştır. Çizelgeye göre bu etki derişime ve bakteri türüne göre değışmektedir. En fazla etki *Y. enterocolitica* üzerine olup, bunu hemen aynı düzeydeki etki ile *S. typhimurim* ve *E. coli* üzerine olan etkiler izlemiştir. *E. aerogenes*’e olan etki de oldukça yüksek bulunmuştur. Ancak, *L. monocytogenes*’e sarımsağın etkisi 13.4 mg ve daha fazla sarımsak soğurmuş olan disklerde belirmişse de, artan miktara göre artış göstermeden ve 7 mm gibi düşük değerde kalmıştır. Halbuki, gelişmeyi engelleyici etki diğers tüm deneş türlerinde, en düşük miktarlar olan 3.35 mg’da izlenmiş ve 8 mm ile daha geniş bir alanda ortaya çıkmıştır. Bu durum Şekil 4.1.’de fotoğrafla da gösterilmiştir.



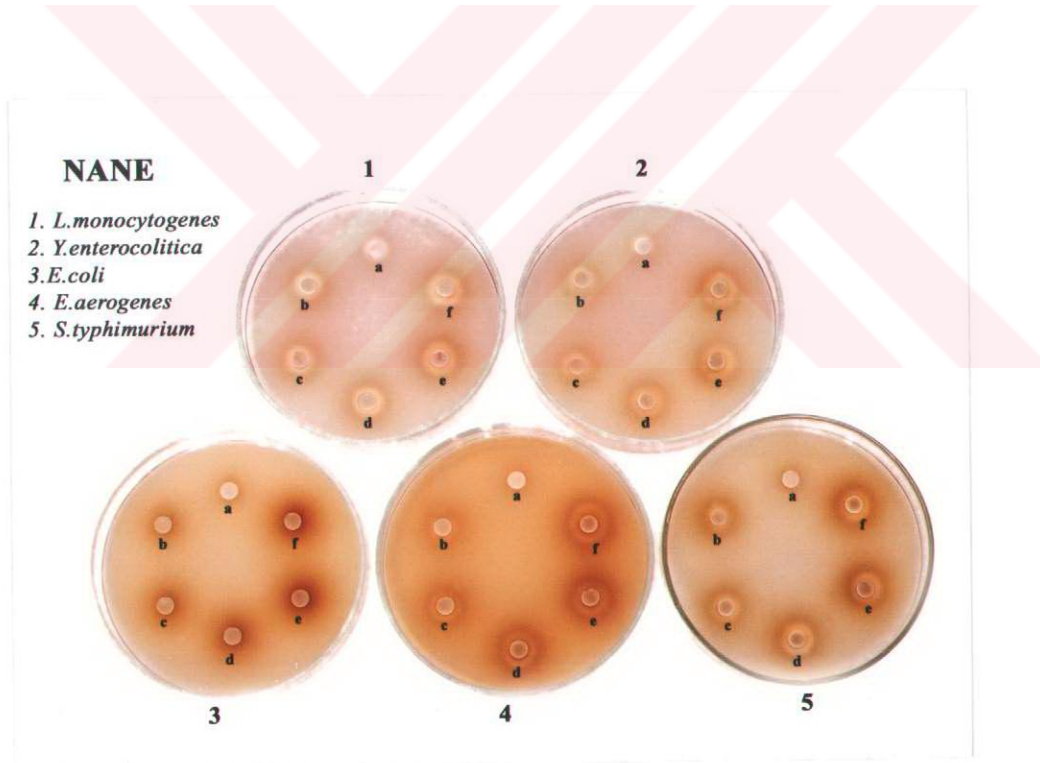
Şekil 4.1. Sarımsağın bağırsak kaynaklı patojenler üzerine, disk yöntemiyle görülebilir engelleyici etkisi(a: 5 µL, b: 10 µL, c: 15 µL, d: 20 µL, e: 25 µL, f: 30 µL).

Nanenin araştırma materyali bakterilere karşı gelişmeyi engelleyici etkisi Çizelge 4.7.'de sayısal değerlerle verilmiştir.

Çizelge 4.7. Nanenin araştırma materyali bakterilere karşı etkisi.

Deney bakterisi ve aşılama konsantrasyonu	İnhibisyon Zonu (mm)					
	5 µL 0,7 mg	10 µL 1,4 mg	15 µL 2,1 mg	20 µL 2,8 mg	25 µL 3,5 mg	30 µL 4,2 mg
<i>S. typhimurium</i> 35 x10 ⁷ adet/mL	-	6,5	7	8	8	8
<i>E.coli</i> 2,7 x10 ⁷ adet/mL	-	-	-	-	-	-
<i>E. aerogenes</i> 3,7 x10 ⁷ adet/mL	-	6,5	7	8	9	10
<i>L. monocytogenes</i> 12,2x10 ⁷ adet/mL	7	8	8	8	9	9
<i>Y. enterocolitica</i> 1,4 x10 ⁷ adet/mL	8	9	9	9,5	10	10

Nanenin en fazla etkili olduğu bağırsak kaynaklı patojen *Y. enterocolitica*'dır. Etki 0.7 mg'da 8 mm'lik alanla başlamış, 4.2 mg miktarında 10 mm'ye ulaşmıştır. Nanenin ikinci derecede etkili olduğu bakteri *L. monocytogenes*'dir. Buradaki etki de *Y. enterocolitica*'daki etkiye çok yakındır. Sarımsaktan çok az etkilenen bu türün, naneden bu denli etkilenmesi, yiyeceklerde farklı baharatlardan eş zamanlı yararlanmanın önemini artırmaktadır. Nane *S. typhimurium* ve *E. aerogenes* üzerine de önemli engelleyici etkiye sahip görünürken, *E. coli*'ye etkin olmaması da dikkati çeken bir bulgu olmuştur. Nanenin bağırsak patojeni bakterilere gelişmeyi engelleyici etkisi Şekil 4.2'de görsel olarak verilmiştir.



Şekil 4.2. Nanenin bağırsak kaynaklı patojenler üzerine disk yöntemiyle görülebilir etkisi(a: 5 µL, b: 10 µL, c: 15 µL, d: 20 µL, e: 25 µL, f: 30 µL).

Disk yöntemi uygulanarak kekik ile bağırsak kaynaklı patojenlerin engellenebilmesi yönündeki belirlemeler Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Kekik’in araştırma materyali bakteriler üzerine etkisi.

Deney bakterisi ve aşılama konsantrasyonu	İnhibisyon Zonu (mm)					
	5 µL 0,7 mg	10 µL 1,4 mg	15 µL 2,1 mg	20 µL 2,8 mg	25 µL 3,5 mg	30 µL 4,2 mg
<i>S. typhimurium</i> 35x10 ⁷ adet/mL	-	-	-	7	7	7
<i>E.coli</i> 37x10 ⁷ adet/mL	-	-	-	-	-	-
<i>E. aerogenes</i> 7x10 ⁷ adet/mL	-	7	8	10	10	11
<i>L. monocytogenes</i> 68 x10 ⁷ adet/mL	-	-	-	-	-	-
<i>Y. enterocolitica</i> 8 x10 ⁷ adet/mL	-	-	-	10	11	11

Çizelge 4.8’den anlaşılacağı gibi kekik, denemeye alınan beş bakteri türünden yalnızca üçüne, belirli miktarların üzerine çıkılırsa durdurucu etkiye sahiptir. Örneğin, bu etki *E. aerogenes* türünde 1.4 mg’da başlarken, *S. typhimurium* ve *Y. enterocolitica*’da 2.8 mg’da başlamaktadır. *E. coli* ve *L. monocytogenes* denenen miktarlarda kekikten etkilenmemektedirler. Gelişmesi engellenen türlerden en az etki gören *S. typhimurium* olmuş; *E. aerogenes* ve *Y. enterocolitica*, 2.8 mg’ın üzerindeki dozlarda yaklaşık aynı düzeyde engellenerek, 4.2 mg’da 11 mm’lik engelleme alanı ölçülmüştür. Şekil 4.3’te bu bulgular görsel olarak fotoğrafla da verilmiştir.



Şekil 4.3. Kekiğin bağırsak kaynaklı patojenler üzerine, disk yöntemiyle görülebilir etkisi (a: 5 μ L, b: 10 μ L, c: 15 μ L, d: 20 μ L, e: 25 μ L, f: 30 μ L).

5. TARTIŞMA

Araştırmada elde edilen bulgulara göre baharatların bağırsak kaynaklı patojenlere engelleyici etkisi uygulanan yönteme göre de farklılık göstermektedir. Örneğin, tüp seyreltme yönteminde yalnızca sarımsaktan etkilenen *S. typhimurium* türünün, disk yöntemine göre nane ve kekikten de etkilendiği belirlenmiştir. Bu durum diğer bakteri türleri ile yapılan deneylerde de yaşanmış, bazı baharatların dar bir alanda engelleme bölgeleri oluşturmalarına rağmen, sıvı kültürde daha belirgin bir engelleyici etkiye sahip oldukları; geniş engelleme bölgeleri oluşturan bazılarında ise gelişmeyi engelleyici etki için yüksek dozlara gereksinim duyulduğu gözlemlenmiştir. Bu durum Kim ve ark. (1995a) tarafından da saptanmış ve yapılan yorumda; kağıt disk yönteminin çok sayıda antimikrobiyal etkili bileşenin etkisini saptamada pratik bir yöntem olarak kabul edilmiştir. Fakat, engelleme bölge alanına bakılarak bir maddenin antimikrobiyal etkisi hakkında karar vermenin doğru olamayacağı belirtilmiştir. Çünkü araştırmacılara göre engelleme bölgesi etken maddenin çözünürlüğü ve agarlı besiyerindeki difüzyon oranına göre değişiklik gösterebilmektedir. Bunlara ek olarak etken maddenin uçuculuğunun da disklere uygulanan dozu ve bu yolla elde edilecek sonuçları etkileyebileceği dile getirilmiştir.

Denemeler sonucunda sarımsağın birçok kaynakta belirtildiği gibi deneme kapsamındaki tüm mikroorganizmalar üzerine değişen derişimlerde bakterisit etkili olduğu görülmüş ve böylece kaynak bilgileri ile araştırma sonuçlarının örtüştüğü anlaşılmıştır (Arora ve Kaur 1999; Beuchat ve Golden 1989; Conner 1993; Hefnawy ve ark. 1993; Shelef 1983; Sherman ve Billing 1999).

Arora ve Kaur (1999) yaptıkları araştırmada, Mueller Hinton agar içeren petrilerde açılan 8 mm çaplı kuyucuklar içine 0,1 mL sarımsak özütü koymuşlar, sonuçta *E. aerogenes* için 15 mm, *E. coli* için ise 19 mm engelleme bölgesi gözlemlenmişlerdir. Araştırmacılar kullanılan özütteki sarımsak miktarını belirtmemişlerse de, deneyde kullanılan özüt hacmi fazla olduğu için engelleme alanına ait ölçüm değeri de, bu araştırma sonuçlarına göre daha yüksek verilmiştir. Bu da kullanılan miktarın fazlalığı ile açıklanabilir.

Araştırma kapsamında sıcaklık uygulamasına tabi tutulmuş sarımsağın engelleyici etkisi de saptanmaya çalışılmıştır. Sonuç olarak pişirilmiş sarımsaktan elde edilen özütün, deney mikroorganizmalarından hiç birine engelleyici etki göstermediği saptanmıştır. Engelleyici bileşenlerin Arora ve Kaur (1999)'un da belirttiği gibi ısıtma ile tamamen etkisizleştiğini belirtmek mümkündür ve bu konuda da adı geçen araştırmacıların sonuçları ile uyumlu bulgulara erişilmiştir.

Kekik ve nane özütlerinin ise deneme kapsamındaki 4 mikroorganizma '*E.coli*, *E. aerogenes*, *L. monocytogenes* ve *Y. enterocolitica*' üzerine etkili olduğu görülmüştür. Doğrudan bu baharatların sulu özütleri ile olmasa da, diğer bazı araştırmacılar esansiyel yağlar veya esansiyel yağ bileşenleri ile yapılan çalışmalarda benzer sonuçlar bulmuşlardır.

Örneğin, iki farklı nane türünden elde edilen 4 farklı esansiyel yağın antibakteriyel etkisinin disk difüzyon yöntemi ile belirlendiği bir çalışmada, 5 µL esansiyel yağ soğurması sağlanmış disklerin çevresinde oluşan alanların çapları disk çapı hariç *E.coli* (NCIMB 12210) için 6-10, *E.coli* (NCIMB 8879) için 9-14, *S. typhimurium* (NCIMB 10248) için 7-11 mm arasında bulunmuştur (Sivropoulou ve ark.1995).

Bunlardan özellikle *S. typhimurium* için elde edilen sonuçlar, bu çalışmada belirlenen değerlerle bir uyum göstermemektedir. Bunun nedenini farklı suş ve farklı nane türlerinin kullanılmasında aramak gerekmektedir.

Çeşitli esansiyel yağ bileşenlerinin antimikrobiyal etkilerinin denediği birçok araştırmacının sonuçlarına bakıldığında kekik esansiyel yağı bileşenlerinin kuvvetli antibakteriyel etki gösterdiği görülmüştür. Gerçekten de kekik esansiyel yağı temel bileşenlerinden olan timol ve karvakrolun *E. coli*, *S. typhimurium* ve *L. monocytogenes* üzerine etkisi için kaynaklarda verilen bilgiler, araştırma sonuçlarıyla paralellik göstermiştir (Akgül 1993; Baytop 1999; Halender ve ark. 1998; Kim ve ark. 1995a ve 1995b; Sivropoulou ve ark. 1996).

Diğer baharat özütlerinin çoğunun da antibakteriyel etkiye sahip olduğu görülmüş, ancak bunlarla gerçekçi bir tartışma yapabilecek kaynak yayınlara ulaşamamıştır.

Araştırmada, farklı bakterilerin baharatlara karşı durumları kendi aralarında tartışılacak olursa, tüp seyreltme yöntemi bulgularına göre en az etkilenen bakterinin *S. typhimurium* olduğu söylenebilir. Çünkü yalnızca sarımsaktan olumsuz etkilenmiştir. İkinci sırada *E. coli* gelmiş ve sarımsakla birlikte, kekik ve nane de bu türü belirli miktarlarla da olsa engellemiştir. *E. aerogenes* ve *L. monocytogenes* arasındaki önemli ayrıcalık, birinci türe taze acı biber, ikinciye ise bunun yerine kimyonun engelleyici etki yapmasıdır. Doğal olarak etkili diğer baharatların etkin miktarları da her iki bakteri için farklıdır. Örneğin, her iki bakteriye de engelleyici etkili olan baharatlardan kekik, nane, hardal, sarımsak ve kantaron *L. monocytogenes* üzerine, *E. aerogenes*'e göreceli olarak çok daha az miktarları ile gelişmeyi engelleyici etki gösterebilmiştir (Çizelge 4.3 ve 4.4). Bu durum özellikle kekik ve kantaronda çarpıcı olarak açığa çıkmaktadır.

Araştırma bulgularından dikkat çekici biri de disk difüzyon yöntemiyle elde edilenlerdir. Bu yöntem esas alındığında baharatlardan en az etkilenen bakterinin *E. coli* olduğu kanısı doğmaktadır. Ancak bunun yanıltıcı olabileceği daha önce açıklanmıştır. Böylece, engelleyici maddelerin bağırsak kaynaklı patojenler üzerine etkisinin incelenmesinde tüp seyreltme yönteminin daha güvenilir sonuç verdiği bu araştırma ile de belirlenmiştir.

Araştırmada kullanılan baharat miktarından hareketle, gıdalara normalde ilave edilen baharatların tek başına patojenlerin gelişmesinin engellenmesi için yeterli olamayacağını belirtmek gerekir. Çünkü *S. typhimurium*'u 24 saatte etkisizleştirmek için 325 mg/mL maddeye gerek olduğu saptanmıştır. Bu miktar 1L (yaklaşık 1 kg) için dikkate alınırsa % 32.5 gibi bir katkı oranına erişilir. Bu da yiyecekler için çok fazladır. Aynı maddeyi 48 saat için % 16.25, 72 saat için % 5.41 olarak hesaplamak gerekir. Sonucu değer bile oldukça fazladır. Ancak diğer bakteri türlerinde ve diğer bazı baharatlarda normal katkı oranları ile başarı sağlanabileceği de anlaşılmaktadır. Örneğin, kekik ve kimyon % 1.75'lik katkı oranı vermektedir. Buda bazı gıdalarda normal kullanımı ifade eder. Etki süresini uzatmakla bu değer de altına inilebilir.

Ayrıca, değişik baharatların, araştırma materyali patojenlere etkileri de farklıdır. Tek baharat yerine, bunlardan bir kaçının birlikte kullanılması engelleyici etkiyi artırarak, daha düşük dozlarda amaca ulaşılmasını sağlayabilir. Günlük yaşamda bazı gıdaların hazırlanmasında bu uygulama yapılmaktadır.

6. SONUÇ

Bu araştırmada elde edilen sonuçları maddeler halinde sıralamak gerekirse, aşağıdaki hususları belirtmek yanlış olmaz.

- 1- Baharatlar, bağırsak kaynaklı olup, insanlarda daha çok bağırsak rahatsızlıkları olmak üzere hastalıklara neden olabilen *S. typhimurium*, *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica*, *E. coli* ve *E. aerogenes*'e az-çok engelleyici etkilidir. Bu etki bakteri türüne, baharat cins ve miktarına göre değişmektedir.
- 2- Baharatların, patojenlere etkisini belirlemek amacıyla uygulanan tüp seyreltme yöntemi ile disk difüzyon yönteminde elde edilen bulgular tam bir uyum göstermemektedir. Örneğin, tüp seyreltme yöntemine göre yalnızca sarımsaktan olumsuz etkilendiği belirlenen *S. typhimurium*, disk difüzyon yöntemine göre kekik ve nane ile de olumsuz etkilendiği izlenimini vermiştir. Bu ikinci yönteme göre baharatlardan en az etkilenen bakteri *E. coli* olmuştur.
- 3- Araştırmada patojenlerin engellenmesini gerçekleştiren bazı baharat miktarları, gıdalar için hesaplandığında yüksek değerler ortaya çıkmakta ve gıdaya katılabilecek miktarın çok üzerinde değer vermektedir. Ancak, en azından duyarlılığı fazla olan patojenler için bazı baharatlar kullanılabilir miktarlarda yeterli olabilecek değerler vermiştir. Örneğin, *L. monocytogenes* için kekik ve kimyonda olduğu gibi. Ayrıca gıdalarda baharatlar tek tek değil de karışık olarak kullanılmaktadır. Bu uygulama daha az miktarla, yeterli etkiyi sağlayabilir. Buna göre gıdalara baharat ilavesinin yalnızca tat ve lezzet yönünden değil, sağlığa zararlı bağırsak patojenlerinin engellenmesi bakımından da yararlı olduğu anlaşılmaktadır. Ancak, başkaca zorunluluk yoksa, baharatla hazırlanan gıdaları, diğer koşulların da uygun olmasına özen göstererek en az 24 saat dinlendirmeye almakta yarar vardır.
- 4- Baharatlar arasında yer alan sarımsağın bağırsak patojenleri üzerine durdurucu etkisi, sıcaklık uygulanmamış, yani çiğ haldeki ürünün kullanımı ile olanaklıdır. Bu nedenle pişirme sırasında yemeğe lezzet kazandırması

için kullanılan sarımsağın bu yönde bir etkisi beklenilmemelidir. Eğer bağırsak florası üzerinde düzenleyici etki isteniyorsa sarımsağın çiğ olarak tüketilmesinde yarar vardır.

- 5- Baharatlardan hasta veya sağlıklı insanların bağırsaklarında patojenlerin baskılanması ve mikrofloranın düzenlenmesi yönünde yararlanılması isteniyorsa bunların yemeklere katılması yanında, özütlerinin doğrudan tüketilmesinde de yarar vardır. Örneğin, nane, kekik, kantaron ve anason çayı içimi ile bu amaca ulaşılabilir. Bağırsak enfeksiyonlarında bu değerlendirme şeklide düşünülebilir. Özellikle ağır ishal vakalarında kaybedilen sıvının hiç değilse bu şekilde karşılanması yararlı olacaktır. Bölgelere göre değişmekle birlikte, halkımızın ishal veya karın ağrısı ile beliren rahatsızlıklarda, nane, kekik, kantaron, anason v.b. baharat çaylarını ilaç gibi kullanma gelmeleri bu gerçeğin deneysel uygulaması olarak kabul edilebilir.

7. KAYNAKLAR

- Aktuğ, Ş.E. ve M. Karapınar. 1986. Sensitivity of Some Food-Poisoning Bacteria to Thyme, Mint and Bay Leaves. *International Journal of Food Microbiology* 3: 349-354.
- Akgül, A. 1993. Baharat Bilimi ve Teknolojisi. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları. No:15. Ankara, s.375-384.
- Anonim 2001. Preliminary Food Net Data on the Incidence of Foodborne Illnesses. Selected Sites, United States 2000. Center for Disease Control Morbidity and Mortality Weekly Report 50 (13): 241-6.
- Arora, D. ve J. Kaur. 1999. Antimicrobial activity of Spices. *International Journal of Antimicrobial Agents* 12: 257-262.
- Baytop, T. 1999. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi Geçmişte ve Bugün (2. Baskı). Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. İstanbul, 459 s.
- Beuchat, L.R. ve D.A. Golden. 1989. Antimicrobials Occurring Naturally in Foods. *Food Technology* 43:134-144.
- Bullerman, L.B., F.Y. Lieu, S.A. Seier. 1977. Inhibition of Growth and Aflatoxin Production by Cinnamon and Clove Oils. Cinnamic Aldehyde and Eugenol. *Journal of Food Science* 42 (4): 1107-1109.
- Butler, T. 1990. *Yersinia* Species (Includig Plague). In: G.L. Mandel, R.G. Douglas and J.E. Bennet (Editors), *Principles and Practice of Infectious Disease*. 3th Edition. Churchill Livingstone Inc. p. 1749-1755.
- Conner, D.E. 1993. Naturally Occurring Compounds. In: P.M. Davidson and A.L. Branen (Editors), *Antimicrobials in Foods*, Dekker, p. 441-468. New York.
- Deis, R.D. 1999. The Secret World of Spices. *Food Product Design* 5:1-7
- Delaquis, P.J., S.M. Ward, R.A. Holley, M.C. Cliff ve G. Mazza. 1999. Microbiological, Chemical and Sensory Properties of Pre-cooked Roast Beef Preserved with Horse Radish Essential Oil. *Journal of Food Science* 64 (3): 519-524.
- Doğan, H.B. 2000. *Listeria monocytogenes*. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Sim Matbaacılık Ltd. Şti. Ankara s. 373-386.

- Doyle, M.P. 1988. *Yersinia enterocolitica*. Bacteria Associated with Foodborne Diseases. Food Technology 42(4): 181-200.
- Dülger, B. ve E. Uğurlu. 1998. *Lavandula stoechas* L. (Karabaş)'ın Antimikrobiyal Aktivitesi. C.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi 20 (2): 99-105.
- Eisenstein, B.I. 1990. Enterobacteriaceae. In: G.L. Mandel, R.G. Douglas and J.E. Bennet (Editors), Principles and Practice of Infectious Disease. 3th Edition. Churchill Livingstone Inc. p.1659-1669.
- Evans, A.S., H.A. Feldman. 1982. Bacterial Infections of Humans Epidemiology and Control. Plenum Medical Book Co., New York and London. p. 95-97
- Giese, J. 1994. Spices and Seasoning Blends: A Taste For All Seasons. Food Technology 48 (4): 89-98.
- Grohs, B.M. ve B. Kunz. 2000. Use of Spice Mixtures for the Stabilisation of Fresh Portioned Pork. Food Control 11: 433-436.
- Halender, I.M., H.L. Alakomi, K. Latva-Kala, T. Mattala-Sandholm, I. Poly, E.J. Smid, L.G.M. Gorris and A. von Wright. 1998. Characterization of the Action of Selected Essential Oil Components on Gram-Negative Bacteria. Journal of Agricultural Food Chemistry 46 (9): 3590-3595.
- Hefnawy, Y., S.I. Moustafa, E.H. Marth. 1993. Sensitivity of *Listeria monocytogenes* to Selected Spices. Journal of Food Protection 56 (10): 876-878.
- Hitokoto, H., S. Morozumi, T. Wauke, S. Sakai, H. Kurata. 1980. Inhibitory Effects of Spices on Growth and Toxin Production of Toxigenic Fungi. Applied and Environmental Microbiology 39: 818-822.
- Hook, E.W. 1990. *Salmonella* Species (Including Typhoid Fever). In: G.L. Mandel, R.G. Douglas and J.E. Bennet (Editors), Principles and Practice of Infectious Disease. 3th Edition. Churchill Livingstone Inc. p. 1701-1715.
- Karanika, M.S., M. Komaitis, G. Aggelis. 2001. Effect of Aqueous Extracts of Some Plants of Lamiaceae Family on the Growth of *Yarrowia lipolitica*. International Journal of Food Microbiology 64: 175-181.
- Karapınar, M. ve Ş. E. Aktuğ. 1987. Inhibition of Foodborne Patogens by Thymol, Eugenol, Menthol and Anethole. International Journal of Food Microbiology 4: 161-166.

- Karapınar, M. ve Ş. Aktuğ Gönül. 1998. Gıda Kaynaklı Mikrobiyal Hastalıklar. "Alınmıştır. Gıda Mikrobiyolojisi, Ed. A. Ünlütürk ve F. Turantaş", Mengi Tan Basımevi, İzmir. 605 s.
- Kıvanç, M. ve A. Akgül. 1988. Mayaların Gelişmesi Üzerine Baharatların Etkisi. Gıda 13 (2): 145-152.
- Kim, J., M.R. Marshall ve C. Wei. 1995a. Antimicrobial Activity of Some Essential Oil Components Against Five Foodborne Pathogens. Journal of Agricultural Food Chemistry 43 (11): 2839-2845.
- Kim, J., M.R. Marshall, J.A. Cornell, J.F. Preston, C.I. Wei. 1995b. Antibacterial Activity of Carvacrol, Citral and Geraniol against *Salmonella typhimurium* in Culture Medium and on Fish Cubes. Journal of Food Science 40(6):1364-1368.
- Krämer, J. 1997. Lebensmittel Mikrobiologie. 3. Auflage. Verlag Eugen Ulmer Stuttgart. 428 p.
- Koneman, E.W., S.D. Allen, W.M. Janda, P.C. Schreckenberger, W.C. Winn. 1997. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Fifth Edition. Lippincott Philadelphia-New York. 1550 p.
- Le Minor, L. 1986. Genus *Salmonella*. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol.2. Edit. Sneath, P.H.A., N. Mair., E.M. Sharpe., J.G. Holt. Williams &Wilkins, Baltimore USA. p.427-437.
- Lovett, J. ve M. Twedt. 1988. *Listeria*. Bacteria Associated with Foodborne Diseases. Food Technology 42(4): 181-200.
- Orskov, F. 1986. Genus *Escherichia*. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol.2. Edit. Sneath, P.H.A., N. Mair., E.M. Sharpe., J.G. Holt. Williams &Wilkins, p. 422-423, Baltimore USA.
- Pauli, A. ve K. Knobloch. 1987. Inhibitory Effects of Essential Oil Components on Growth of Food-Contaminating Fungi. Lebensm. Unters. Forsch. 185: 10-13.
- Richard, C. 1986. Genus *Enterobacter*. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol.2. Edit. Sneath, P.H.A., N. Mair., E.M. Sharpe., J.G. Holt. Williams &Wilkins, p.465-469, Baltimore USA.
- Russel, N.J. ve G.W. Gould. 1991. Food Preservatives. An AVI Book Published by Van Nostrand Reinhold Co. NewYork. 290 p.

- Seeliger, H.P.R. ve D. Jones. 1986. Genus *Listeria*. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol.2. Edit. Sneath, P.H.A., N. Mair., E.M. Sharpe., J.G. Holt. Williams &Wilkins, p.1235-1245, Baltimore USA.
- Shelef, L.A., O.A. Naglik, D.W. Bogen. 1980. Sensitivity of Some Common Food-Borne Bacteria to the Sage, Rosemary and Allspice. Journal of Food Science 45:1042-1045.
- Shelef, L.A. 1983. Antimicrobial Effects of Spices. Journal of Food Safety 6, 29-44.
- Sherman, P.W. ve J. Billing. 1999. Darwinian Gastronomy: Why We Use Spices. Bioscience 49 (6): 453-464.
- Sivropoulou,A., S. Kokkini, T. Lanaras, M. Arsenakis. 1995. Antimicrobial Activity of Mint Essential Oils. Journal of Agricultural Food Chemistry 43 (9): 2384-2388.
- Sivropoulou, A., E. Papanikolaou, C. Nikolaou, S. Kokkini, T. Lanaras, M. Arsenakis. 1996. Antimicrobial and Cytotoxic Activities of *Origanum* Essential Oils. Journal of Agricultural Food Chemistry 44 (5): 1202-1205.
- Tükel, Ç. ve H.B. Doğan. 2000. *Yersinia enterocolitica*. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Sim Matbaacılık Ltd. Şti. s.413-420, Ankara.
- Zaika, L.L. 1988. Spices and Herbs: Their Antimicrobial Activity and its Determination. Journal of Food Safety 9: 97-102.
- Zaika, L.L. ve J.C. Kissenger. 1981. Inhibitory and Stimulatory Effects of Oregano on *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus cerevisiae*. Journal of Food Science 46 :1205-1210.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezimin hazırlanmasının tüm aşamalarında değerli yardımlarını esirgemeyen başta Sayın Hocam Prof.Dr.İsmet ŞAHİN olmak üzere, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakóltesi Mikrobiyoloji Bölümü Öğretim Üyeleri Sayın Prof.Dr.Suna GEDİKOĞLU ve Sayın Yrd.Doç.Dr.Cüneyt ÖZAKIN'a, bölümümüzün değerli öğretim üye ve elemanlarına, projemize maddi destek sağlayan Uludağ Üniversitesi Araştırma Fonu yetkilileri ve çalışanlarına, bugünlere gelmemde ellerinden gelen her türlü çabayı sarfeden aileme, teşekkür, saygı ve sevgilerimi sunarım.



ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında Bursa’da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimlerini Bursa’da tamamladı. 1994 yılında Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü’ne girmeye hak kazandı. 1998 yılında bu bölümden mezun oldu. Aynı yıl yüksek lisans eğitimine başladı ve araştırma görevlisi olarak atandı. Halen aynı bölümde görevine devam etmektedir.

