

*Orijinal araştırma-Original research*

## Ticari olarak satılan kekik ve nane uçucu yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri

*Antimicrobial activities of commercial essential oils of thyme and mint*

**Rahşan Ertürk, Cem Çelik, Rakibe Kaygusuz, Hüseyin Aydın**

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı (Bio. R. Ertürk, Bio. C. Çelik, Bio. R. Kaygusuz, Bio H. Aydın)  
Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi TR-58140 Sivas

### Özet

**Amaç.** Çalışmamızda ticari olarak satın alınan kekik ve nane uçucu yağlarının, klinik önem taşıyan bakteriler ve maya kökenleri üzerine olan antimikrobiyal etkilerinin karşılaştırmalı olarak araştırılması amaçlanmıştır. **Yöntem.** Kekik ve nane uçucu yağlarının 21 bakteri ve 7 maya kökeni üzerindeki antimikrobiyal etkinliği, disk difüzyon yöntemi kullanılarak test edilmiş ve araştırmanın verileri istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. **Bulgular.** Kekik yağı *Pseudomonas aeruginosa* hariç test edilen mikroorganizmalara karşı güçlü antimikrobiyal etkinlik göstermiştir. Nane yağı test edilen pek çok mikroorganizmaya karşı kekik yağından daha az antimikrobiyal etkinlik göstermiştir. Her iki yağında çalışmada kullanılan maya kökenlerine karşı oldukça etkili olduğu görülmüştür. **Sonuç.** Kekik uçucu yağı, nane yağına göre daha güçlü antimikrobiyal etkinliğe sahiptir. Kekik ve nanenin inhibisyon bölge çapları karşılaştırıldığında oluşan farklılık önemli bulunmuştur. Bitkisel uçucu yağlar antimikrobiyal etkileri sebebiyle, gıda, kozmetik endüstrisi ve tıbbi kullanımlarda alternatif olmaya adaydır.

**Anahtar sözcükler:** Kekik yağı, Nane yağı, Antimikrobiyal etki

### Abstract

**Aim.** We aimed to investigate and compare the antimicrobial effects of commercially bought thyme and mint volatile oils over the clinically important bacteria and the roots of yeast. **Method.** The antimicrobial activity of the thyme oil and mint oil over 21 bacteria and 7 yeast sources were tested by using the disc diffusion method. Then the data were evaluated statistically. **Results.** The thyme oil shows a strong antimicrobial activity against the tested microorganisms except for *Pseudomonas aeruginosa*. The mint oil shows less microbial activity against the microorganisms that are tested than the thyme oil. Both of these oils are quite effective against the yeast sources used in this study. **Conclusion.** The thyme oil has stronger antimicrobial activity than the mint oil. There is a significant difference between the thyme and the mint oil by means of their inhibition scales.. Herbal volatile oils are candidates to be alternatives in food and cosmetics industry and also in medical applications due to their antimicrobial effects.

**Key words:** Thyme oil, Mint oil, Antimicrobial effect

**Geliş tarihi/Received:** 8 Haziran 2010; **Kabul tarihi/Accepted:** 12 Ağustos 2010

### İletişim Adresi:

Bio. Cem Çelik Cumhuriyet Üniversitesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, TR-58140 Sivas, E-mail: ccelik@cumhuriyet.edu.tr

### Giriş

Son yıllarda antibiyotiklere karşı dirençli suşların oluşması önemli bir problem haline gelmiştir. Doğal bitki içeriklerinden elde edilen maddeleri kullanarak patojen mikroorganizmalara karşı etkili olan bitki türleri ve bu türlerin içerdikleri etken maddelerin tespit edilmesi, dünyada üzerinde yoğun bir şekilde çalışılan bir alan haline gelmiştir [1-2]. Uçucu yağlar, farklı bileşenleri içeren kompleks karışımlar olduklarından biyolojik etkileri yönünden de farklılıklar göstermektedirler. Etki dereceleri içerdikleri etken maddenin özelliğine bağlı olarak pek çok uçucu yağ farklı antimikrobiyal etkiler gösterebilmektedir [1].

Kekik (*Thymus vulgaris*) bitkisi Lamiaceae familyasında yer almakta olup, çimenlik tarla kıyılarında, orman kenarlarında, çayırlarda, güneş ve sıcak sevdiği için toprak sıcaklığının fazla olduğu kayalık ve dağlık bölgelerde yetişir. Kendine has bir kokusu olan kekik özellikle timol ve carvacrol adlı aktif maddeleri içerir. Kekik bitkisinin antimikrobiyal, sindirim uyarıcı, antispazmodik ve antioksidan etkileri olduğu bilinmektedir. Özellikle kekik uçucu yağında bulunan timol ve carvacrolun antimikrobiyal etkilerinin bulunduğu bilinmektedir [2, 3–7]. Yine Kekik yağında bulunan fenolik bileşikler mikroorganizmaların hücre zarında bulunan fosfolipit tabakasını uyararak, hücre içi yaşamsal yapıların geçirgenliğini artırır ya da mikroorganizmaların enzim sistemlerini bozarlar [8-9]. Nane (*Mentha species*) bitkisi Lamiaceae familyasına dahil olup ülkemizde eskiden beri bahçelerde, evlerin önünde ve tarlalarda yetiştirilmektedir. Tıbbi açıdan spazm ve gaz giderici, antimikrobiyal, serinletici ve diüretik etkilere sahiptir. Nane yağı ilaç, gıda ve kozmetik sanayiinde geniş bir uygulama alanı bulmuştur. Nane yağı zengin oranda pulegon içerir. Pulegon bir monoterpen, hepatotoksik ve pneumotoksiktir [4,10-11]. Çalışmamızda ticari olarak satın alınan kekik ve nane uçucu yağlarının disk difüzyon yöntemi kullanılarak, klinik önem taşıyan bakteriler ve *Candida* kökenleri üzerine olan antimikrobiyal etkilerinin karşılaştırmalı olarak araştırılması amaçlanmıştır.

## Gereç ve yöntem

### 1. Uçucu Yağlar

Çalışmada kullandığımız kekik ve nane uçucu yağları sırası ile Akova ve Kardelen firmalarından sağlandı. Kekik uçucu yağının % 56,36 carvacrol, % 8,2 p-cymene ve  $\alpha$ -terpinene, % 4,2 linalool, % 3,2 trans- caryophyllene içerdiği, nane uçucu yağının ise % 48,5 pulegon, % 20,9 p-menthon, % 5,8 isopulegon, % 4,8 verbenon ve % 2,4  $\beta$ -bourbonen içerdiği görüldü.

### 2. Bakteri ve Mantar suşları

Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar besin bozucu ve/veya zehirleyici, yaygın insan patojenleri gibi önemlerine göre seçilmiştir. Araştırmamızda 12 gram pozitif bakteri, 8 gram negatif bakteri, 1 mikobakteri ve 7 maya suşundan oluşan mikroorganizmalar Tablo 1'de gösterilmiştir.

**Tablo 1. Ticari olarak satın alınan kekik ve nane uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılmasında kullanılan mikroorganizmalar**

Gr (+) bakteriler		Gram(-) bakteriler	
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 29213	<i>Moraxella catarrhalis</i>	ATCC 49143
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC19615	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	ATCC 19002
<i>S. pneumoniae</i>	ATCC 49619	<i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC 13043
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29211	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>E. faecium</i>	ATCC 6057	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 13883
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 11778	<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 7002
<i>Listeria monocytogenes</i>	F 1483	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>L. monocytogenes</i>	F 1462	<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC14028
<i>L. ivanovii</i>	F 4084		
<i>L. innocua</i>	F 4078		
<i>L. welshimeri</i>	F 4083		
<i>L. seeligeri</i>	F 4088		
<b>Mikobakteriler</b>			
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	CMM 2067		
<b>Mantarlar</b>			
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231		
<i>C. albicans</i>	ATCC 14053		
<i>C. albicans</i>	ATCC 26555		
<i>C. albicans</i>	ATCC 90028		
<i>C. parapsilosis</i>	ATCC 22019		
<i>C. parapsilosis</i>	ATCC 90018		
<i>C. crusei</i>	ATCC 6258		

### 3. Antimikrobiyal etki.

Çalışmamızda ticari kekik ve nane uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitesini tespit edebilmek amacıyla disk difüzyon yöntemini kullandık. Bu yöntemin temeli standart mikroorganizmaların üreyebileceği agar plak besiyeri yüzeyine yayılarak yapılan ekim üzerine ticari olarak alınan kekik ve nane uçucu yağları emdirilmiş disklerin yerleştirilmesi, bir süre 37°C’de bekletildikten sonra disk etrafında oluşan inhibisyon bölgelerinin ölçülmesi ile mikroorganizmaların duyarlılıkları hakkında yargıya varma esasına dayanır [12]. Çalışma başlangıcında Whatman kağıdından (No:1) 6 mm çapında diskler hazırlanarak steril edildi. Steril bir ortamda her bir uçucu yağdan 15 µl kullanılacak olan disklere emdirildi. Stok standart mikroorganizmalardan Gram olumlu olanlar kanlı agara, gram olumsuz olanlar kanlı ve Eosin Metilen Blue (EMB) agara, maya kökenleri ise Saboraud dekstroz agara pasaj yapılarak çoğaltıldı. Besiyerlerinde 35,5–36,5°C’ de 24–48 saat içerisinde üreyen mikroorganizmalar buyyonlara alınarak, bakteri ve *Candida* kökenlerinin Mc Farland 0,5 eşeline uyan konsantrasyonları hazırlandı. Gram olumsuz ve Gram olumlu bakteriler Mueller-Hinton agar (% 5 koyun kanlı) besiyerine, *Candida* kökenleri ise Saboraud Dekstroz agar besiyerlerine steril eküvyon çubuklar kullanılarak ekildi. Bakteriler 35,5–36,5 °C’ de 24 saat, *Candida* kökenleri ise 35,5–36,5 °C’ de 48 saat inkübe edildi.

İnkübasyon sonrası diskler etrafında oluşan inhibisyon bölgeleri bir cetvel yardımı ile ölçülerek değerlendirilmeler yapıldı. Tüm deneyler iki kez tekrarlandı.

#### İstatiksel Değerlendirme

Çalışmamızın verileri SPSS (ver: 14,0) programına yüklenerek, verilerin değerlendirilmesinde iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi kullanılmış ve yanılma düzeyi 0,05 olarak alınmıştır.

### Bulgular

Ticari olarak satın alınan kekik ve nane uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitelerini araştırdığımız bu çalışmada yağların agar plak besiyerleri üzerinde oluşturdukları inhibisyon bölgeleri tespit edilmiş olup, inhibisyon bölgelerinin iki deney ortalamaları Tablo 2’de gösterilmiştir. Tablo 2’de görüldüğü gibi kekik uçucu yağının mikroorganizmalar üzerine olan antimikrobiyal aktivitesinin nane uçucu yağına oranla daha fazla olduğu anlaşılmaktadır. Tüm bakteriler birlikte düşünülerek kekik ve nane uçucu yağlarının inhibisyon bölge çapları karşılaştırıldığında kekik için değerler 24,27±3,99, nane için 16,55±6,17 olarak bulunmuştur. Ortalama değerler karşılaştırıldığında farklılık önemli bulunmuştur. (t =5,59 p =0,001 p<0,05). Buna göre inhibisyon bölge çapları karşılaştırıldığında kekik uçucu yağı, nane uçucu yağına göre daha etkilidir. Mikroorganizmalar tek tek değerlendirildiğinde de bu durum görülmektedir.

### Tartışma

Çalışmamızda kullandığımız ticari kekik ve nane uçucu yağlarının, standart mikroorganizma suşlarına karşı antimikrobiyal etkileri disk difüzyon yöntemi kullanılarak tespit edilmiş ve her iki uçucu yağında bir çok mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal etkilerinin bulunduğu görülmüştür. Özellikle kekik uçucu yağının *Pseudomonas aeruginosa* dışındaki test edilen diğer mikroorganizmaların tamamına güçlü antimikrobiyal etki gösterdiği görülmüştür.

Nane uçucu yağı, kullandığımız *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Salmonella typhimurium* bakteri suşlarına karşı herhangi bir antimikrobiyal etki göstermezken, diğer mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal etkiler göstermiştir. Çalışmamızda kullandığımız ticari kekik ve nane uçucu yağlarından elde ettiğimiz inhibisyon bölgesi ölçümlerine göre, *Candida* türleri en hassas mikroorganizmalar olarak görülmektedir.

**Tablo 2. Kekik ve nane uçucu yağlarının agar plak besiyerleri üzerinde oluşturdukları inhibisyon bölgelerinin iki deney sonuç ortalamaları**

Mikroorganizmalar		Kekik	Nane
		mm	mm
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 29213	29±1	14±1
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC 19615	27	21±1
<i>S. pneumoniae</i>	ATCC 49619	33±1	24±1
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29211	20±1	0(AD)
<i>E. faecium</i>	ATCC 6057	23±1	10
<i>Moraxella catarrhalis</i>	ATCC 49143	21±1	12±1
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 11778	25±1	16±1
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	ATCC 19002	28	21±1
<i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC 13043	18±1	11
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	20	0(AD)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 13883	19±1	9
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 7002	23	11
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	0(AD)	0(AD)
<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC14028	21	0(AD)
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	CMM 2067	>50	12±1
<i>Listeria monocytogenes</i>	F 1483	25	14
<i>L. monocytogenes</i>	F 1462	26±1	13±1
<i>L. ivanovii</i>	F 4084	>50	10
<i>L. innocua</i>	F 4078	24±1	13±1
<i>L. welshimeri</i>	F 4083	30	10
<i>L. seeligeri</i>	F 4088	26	14±1
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	>50	27±1
<i>C. albicans</i>	ATCC 14053	>50	>50
<i>C. albicans</i>	ATCC 26555	>50	>50
<i>C. albicans</i>	ATCC 90028	>50	28±1
<i>C. parapsilosis</i>	ATCC 22019	>50	>50
<i>C. parapsilosis</i>	ATCC 90018	>50	25
<i>C. crusei</i>	ATCC 6258	>50	>50

AD: Aktif değil

Kekik ve nane uçucu yağlarından elde edilen inhibisyon bölgesi ölçümlerine göre, kekik yağının test edilen mikroorganizmalara karşı nane uçucu yağına göre daha güçlü bir antimikrobiyal aktivite gösterdiği görülmüştür.

Aydın ve ark. [13]'ün Kafkas Üniversitesi'nde yaptıkları bir çalışmada kekik bitkisinin *Escherichia coli* O157: H7, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica* ve *Listeria monocytogenes* bakterileri üzerine güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiği, nane bitkisinin ise *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica* ve *Listeria monocytogenes* bakterileri üzerine antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Çalışmacıların aldıkları sonuçların bizim sonuçlarımızla uyumlu olduğu görülmektedir.

Nalbantbaşı ve ark. [14] 18 farklı bitkinin dört bakteri ve maya suşu (*Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida crusei*) üzerine etkilerini araştırdıkları bir çalışmada kekik ve nanenin bu mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal etkili olduklarını bildirmişlerdir.

Panizzi ve ark.[15] Akdeniz bölgesinden toplanan *Thymus vulgaris* bitkisinden elde edilen uçucu yağların biyotoksik etkiye sahip olduklarını bildirmişlerdir. Dorman ve ark. [16] kekik bitkisinin 25 farklı bakteri cinsine karşı antimikrobiyal aktivitesinin bulunduğunu göstermişlerdir. Yine kekik bitkisinin uçucu yağlarının 9 gram (-) ve gram (+) bakteri suşu üzerinde denendiği bir çalışmada Marino ve ark.[17] bütün test mikroorganizmalarına karşı bakteriyostatik etki gördüklerini bildirmişlerdir. Benzer bazı çalışmalarda O'Gara ve ark.[18] Kekik uçucu yağının *Listeria monocytogenes* ve bazı diğer bakteriler, Burt ve ark.[19] ise *Escherichia coli* bakterileri üzerine güçlü

bakterisidal etkiler gösterdiğini bildirmişlerdir.

Akgül ve ark.[20] nane uçucu yağının bazı bakteriler üzerine antimikrobiyal etkilerinin bulunduğunu çalışmalarında bildirmişlerdir. Pek çok araştırmacı değişik nane yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri üzerinde çalışmalar yapmıştır. Bu çalışmalar yağların kimyasal bileşimiyle antimikrobiyal aktiviteleri arasında sıkı bir ilişki olduğunu göstermiştir. Nane yağı içerdiği yüksek oranda pulegon nedeni ile yüksek oranda antikandidal etki göstermektedir [21–22]. Bununla birlikte pulegondan zengin olan nane test edilen mikroorganizmalara karşı göreceli olarak daha zayıf etki göstermiştir.

Çalışmamızda ticari kekik ve nane uçucu yağlarının, standart mikroorganizma suşlarına karşı antimikrobiyal etkileri disk difüzyon yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir. Her iki uçucu yağında birçok mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal etkilerinin bulunduğu görülmüştür.

Sonuç olarak araştırdığımız bu yağlar tek bir antimikrobiyal ajanın yetersiz kaldığı durumlarda tamamlayıcı topikal tedavi amaçlı kullanılabilir. Ancak en iyi sonuç için yağın bileşimi bilinmelidir.

### Kaynaklar

1. Toroğlu S, Çenet M. Tedavi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin kullanım alanları ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için kullanılan metodlar. *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi*, 2006; 9: 12-20.
2. Benli M, Yiğit N. Ülkemizde yaygın kullanımı olan kekik (*Thymus vulgaris*) bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi. *Orlab On-line Mikrobiyoloji Dergisi* 2005; 03:1-8.
3. Güler T, Dalkılıç B. Aromatik Bitkilerin Organik (Ekolojik) Hayvancılıkta Kullanım imkânı. *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları*. 2005; 13-7.
4. Bulut Y. Manavgat (Antalya) Yöresinin Faydalı Bitkileri. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek lisans tezi 2006; 67-9.
5. Coşkun F. Gıdalarda bulunan doğal koruyucular. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi* 2006; 27-33.
6. Alma MH, Mavi A, Yıldırım A, Digrak M, Hirata T.. Screening chemical composition and in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils from *Origanum syriacum* L.growing in Turkey. *Biol Pharm Bull*. 2003; 26: 1725-9.
7. Sivropoulou A, Papanikolaou E, Nikolaou C, Kokkini S, Lanaras T, Arsenakis M. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oils. *J Agric Food Chem*.1996; 44: 1202-5.
8. Helander IM, Alakomi HL, Latva-Kala K, Mattila-Sandhom T, Pol I, Smid EJ, Gorris LGM, von Wright A. Characterization of the action of selected essential oil components on gram negative bacteria. *J Agric Food Chem*. 1998; 46:3590-5.
9. Lambert R, Skandamis PN, Coote P, Nychas GJ. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J Appl Microbiol*. 2001; 91: 453-62.
10. Özgüven M, Kırıcı S. Farklı ekolojilerde Nane (*Mentha*) türlerinin verim ile uçucu yağ oran ve bileşenlerinin araştırılması. *Türk J Agric For*. 1999; 23:465-72.
11. Chan KK. Quantitation of monoterpene compounds with potential medicinal use in biological fluids. *J Chromatogr A*. 2001; 936: 47-57.
12. Bilgehan H. Antimikrobikler ve Mikroorganizmalar. *Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi III. Baskı*. 2002; 145-86.
13. Aydın DM. Bazı Tıbbi Bitki ve Baharatların Gıda Patojenleri Üzerine Antibakteriyel Etkisinin Araştırılması. *Kafkas Üniversitesi Vet. Fak. Derg*. 2008; 14:83-7.
14. Nalbantbaşı Z, Gölcü A. Kahramanmaraş Yöresine ait Şifalı Bitkilerin

- Antimikrobiyal Aktiviteleri. KSÜ Doğa Bil. Derg. 2009; 12:1-8.
15. Panizzi L, Flamini G, Cioni PL ve ark. Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. *J Ethnopharmacol.* 1993; 39:167-70.
  16. Dorman HJ, Deans SG. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J Appl Microbiol.* 2000; 88: 308-16.
  17. Marino m, Bersani C, Comi G. Antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus vulgaris* L. Measured using a bioimpedometric method. *J Food Prot.* 1999; 62:1017-23.
  18. O'Gara E, Hill DJ, Maslin DJ. Activities of garlic oil, garlic powder, and their diallyl constituents against *Helicobacter pylori*. *Appl Environ Microbiol.* 2000;66: 2269-73.
  19. Burt SA, Reinders RD. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. *Lett Appl Microbiol.* 2003; 36:162-7.
  20. Akgül A, Kıvanç M. Sensitivity four foodborne moulds to essential oils from Turkish spices, herbs, and citrus peel. *J Sci Food Agric.* 1989; 47: 129-32.
  21. Duru ME, Oztürk M, Uğur A, Ceylan O. The constituents of essential oil and in vitro antimicrobial activity of *Micromeria cilicica* from Turkey. *J Ethnopharmacol.* 2004; 94:43-8.
  22. Tepe B, Sokmen M, Sokmen A, Daferera D, Polissiou M. Antimicrobial and antioxidative activity of the essential oil and various extracts of *Cyclotrichium organifolium* (Labill.) Manden.&Scheng. *J Food Eng* 2005; 69: 335-42.