

UÇUCU YAĞLARIN OFTALMOLOJİDE KULLANILABİLİRLİĞİ ÜZERİNE BİR ÇALIŞMA

Dr. Gülay MANGA (x)

ÖZET :

Anahtar Kelimeler : Antimikrobiyal etki, Uçucu yağ.

Bitkilerin aroma maddeleri olan uçucu yağların antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır. Kimyon, mercan köşk, limon yaprağı ve limon meyvesi uçucu yağlarının *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus albus*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus viridans*, *Candida albicans* üzerine etkisi incelenmiştir. En etkili uçucu yağ mercan köşk, en etkisizi ise limon yaprağı uçucu yağı olmuştur. Uçucu yağlara en dirençli mikroorganizma *C. albicans*'tır. Bunu *E. coli* izlemiştir. Düşük bakteri yoğunluğunda uçucu yağların etkisi daha da artmıştır.

GİRİŞ :

Uçucu yağlar bitkilerin aroma maddeleri olup, antimikrobiyal özellikleri uzun yıllardan beri bilinmektedir (1-2). Çok sayıda uçucu yağ ve kimyasalların çeşitli bakterilere karşı antimikrobiyal özellikleri araştırılmıştır. Bazı araştırmacılar (1-5) uçucu yağların ve diğer bitki materyallerinin mikroorganizmalar üzerine etkilerini gözden geçirmişlerdir.

Matcht ve Kunkel (6) uçucu yağların antimikrobiyal özelliklerini tarif etmişlerdir. George ve Pandalai (7) tarçın ve karanfil uçucu yağlarının *Shigella dysenteriae*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhosa* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar stabil ve iritan olmayan formlarının sindirim sisteminin tedavisinde kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir.

1955'de Maruzella ve Linchtenstein (8) disk diffüzyon metodunu kullanarak uçucu yağların ve diğer bitki bileşiklerinin antibakteriyal aktivitesini invitro olarak çeşitli patojenik olmayan gram-pozitif ve gram-negatif bakterilerde denemişlerdir.

(x) Atatürk Üniv. Tıp Fak. Göz Hast. Anabilim Dalı Yard. Doç. Dr.

Bose ve ark. (9-10) bazı uçucu yağların bakterisidal etkisini araştırmışlardır. Uçucu yağların gram negatif bakterilere gram pozitif bakterilerden daha etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Sreenivasamurty ve Sactry (11) Hindistan'a ait özel bir bitkinin yağı (Asafoetida oil) ile beslenen farelerin bağırsak florasını antibiyotiklere benzer şekilde etkilediğini göstermişlerdir.

Diğer taraftan uçucu yağların fungisidal etkileri de uzun zamandan beri bilinmektedir(12). Upadhyay ve ark. (13) insan gözlerinden izole ettikleri küflere karşı sarımsağın etkisini araştırmışlardır.

Mikroorganizmaların tedavide kullanılan antibiyotiklere zamanla direnç kazanması tedaviyi güçleştirmekte ve/veya uzatmaktadır. Tedaviden arzu edilen sonucun alınabilmesi amacıyla yeni ilaç ve kimyasalların araştırılmasında son yıllarda bitkisel maddelere daha fazla önem verilmektedir.

Araştırmamızda gözde yerleşerek enfeksiyona neden olabilecek mikroorganizmalara Türkiye'de yetişen bitkilerden elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal etkisi daha ileri çalışmalara bir başlangıç olması amacıyla *invitro* olarak araştırılmıştır.

MATERYAL ve METODLAR :

Uçucu Yağlar: Mercan köşk, kimyon, limon yaprağı ve limon meyvesi uçucu yağları Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Ürünleri Teknolojisi bölümünden sağlanmıştır.

Bakteri Kültürleri: Test mikroorganizmalarından *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus albus*, *Streptococcus faecalis* ve *Streptococcus viridans* Bundessanstalt für Fleishforschung (Kulmbach, FRG)'den *Candida albicans* ise Refik Saydam Hıfzısıhha Enstitüsü (Ankara)'dan sağlanmıştır.

Kültürlerin Hazırlanması: Liyofilize kültürleri aktive etmek için patojen mikroorganizmalar triptikase soy buyyona ekilerek 37°C de 48 saat inkübe edilir. Diğer bakteriler ise nutrient buyyonda 35°C de 48 saat, *C. albicans* yeast extract-malt extract pepton-glucose buyyonda 37°C de 48 saat inkübe edildi.

Stok kültürler buzdolabında nutrient agarda ayda bir yenilenmek suretiyle muhafaza edildi. Kültürler test edileceği zaman triptik soy buyyona ve nutrient buyyona ekim yapılarak 18-24 saat 37°C inkübe edildi.

Antimikrobial Aktivite Testi: Uçucu yağlar kullanılmadan önce etanolde çözüldü. Etanolün herhangi bir antimikrobiyal etkisi yoktur. Uçucu yağların %1, %0,5, %0,3, % 0,2 % 0,1 ve % 0,05'lik konsantrasyonları hazırlanarak steril kanlı agar içine ilave edilerek karıştırıldı.

18-24 saatlik bakteri kültürlerinden 10^3 ve 10^6 hücre/plak olacak şekilde çift petri plağına ekim yapıldı. Ekim yapılan plaklara 15 ml. uçucu yağ bulunan agardan ilave edilerek karıştırıldı. Plaklar 37°C de 24-48 saat inkübe edildi. Mikroorganizmaların gelişmesi kontrolle mukayese edilerek gözle değerlendirildi.

Bütün işlemler çift tekrarı olarak yapılmıştır. Tablolardaki değerler ortalama değerlerdir.

BULGULAR :

Sonuçlar Tablo 1,2,3 ve 4'de verilmiştir. Tabloların incelenmesinden de görüleceği üzere mercan köşk, kimyon, limon yaprağı ve limon meyvesi uçucu yağlarının % 1'lik ve % 0,5'lik konsantrasyonları test edilen bütün mikroorganizmaların gelişmesini her iki mikroorganizma yoğunluğunda da engellemiştir. Bütün uçucu yağların % 0,05'lik konsantrasyonu mikroorganizmalara etkili olmamıştır. Diğer konsantrasyonlar ise değişen oranlarda etki göstermişlerdir. Düşük bakteri yoğunluğunda uçucu yağların etkisi daha fazla olmuştur. En etkili uçucu yağ mercan köşke ait olurken en düşük antimikrobiyal etkiyi limon yaprağı uçucu yağı göstermiştir. En dirençli mikroorganizma *C. albicans*'tır. Bunu *E. coli* izlemiştir.

Tablo 1: Mercan Köşk Uçucu Yağının Antimikrobiyal Etkisi

Mikroorganizma		Mercan köşk uçucu yağı konsantrasyonları (%)					
		1	0,5	0,3	0,2	0,1	0,05
<i>E. coli</i>	A ^a	— ^b	—	++	++	+++	+++
	B	—	—	—	+	++	+++
<i>S. aureus</i>	A	—	—	+	+	++	+++
	B	—	—	—	—	+	++
<i>S. albus</i>	A	—	—	+	+	++	+++
	B	—	—	—	—	+	++
<i>S. feacalis</i>	A	—	—	++	++	+++	+++
	B	—	—	—	+	++	+++
<i>S. viridans</i>	A	—	—	+	++	++	+++
	B	—	—	—	—	+	+++
<i>C. albicans</i>	A	—	—	++	+++	+++	+++
	B	—	—	+	++	++	+++

^aA, 10^6 hücre/plak; B, 10^3 hücre/plak.

^b—, gelişme yok; +, az gelişme, ++ gelişme var, +++ tamamen gelişmiş.

Tablo 2: Kimyon Uçucu Yağının Antimikrobiyal Etkisi.

Mikroorganizma		Kimyon uçucu yağı konsantrasyonları (%)					
		1	0,5	0,3	0,2	0,1	0,05
<i>E. coli</i>	A	—	—	++	+++	+++	+++
	B	—	—	+	+	++	+++
<i>S. aureus</i>	A	—	—	++	++	+++	+++
	B	—	—	+	+	++	+++
<i>S. albus</i>	A	—	—	++	+++	+++	+++
	B	—	—	—	+	++	++
<i>S. feacalis</i>	A	—	—	++	+++	+++	+++
	B	—	—	—	++	++	+++
<i>S. viridans</i>	A	—	—	++	++	+++	+++
	B	—	—	—	+	+	++
<i>C. albicans</i>	A	—	—	++	+++	+++	+++
	B	—	—	+	++	+++	+++

Tablo 3: Limon Meyvesi Uçucu Yağının Antimikrobiyal Etkisi.

Mikroorganizma		Limon meyvesi uçucu yağı konsantrasyonları (%)					
		1	0,5	0,3	0,2	0,1	0,05
<i>E. coli</i>	A	—	—	++	+++	+++	+++
	B	—	—	—	+	++	++
<i>S. aureus</i>	A	—	—	++	++	+++	+++
	B	—	—	—	+	++	++
<i>S. albus</i>	A	—	—	+	++	++	+++
	B	—	—	—	—	+	++
<i>S. feacalis</i>	A	—	—	+	++	++	+++
	B	—	—	—	—	+	+
<i>S. viridans</i>	A	—	—	+	+	++	+++
	B	—	—	—	—	—	+
<i>C. albicans</i>	A	—	—	+	++	++	+++
	B	—	—	—	+	+	++

Tablo 4: Limon Yaprağı Uçucu Yağının Antimikrobiyal Etkisi

Mikroorganizma		Limon yaprağı uçucu yağı konsantrasyonları (%)					
		1	0,5	0,3	0,2	0,1	0,05
<i>E. coli</i>	A	—	—	++	+++	+++	+++
	B	—	—	+	+	++	++
<i>S. aureus</i>	A	—	—	++	++	+++	+++
	B	—	—	+	+	++	+++
<i>S. albus</i>	A	—	—	+	++	+++	+++
	B	—	—	—	—	++	+++
<i>S. fecalis</i>	A	—	—	++	+++	+++	+++
	B	—	—	+	++	+++	+++
<i>S. viridans</i>	A	—	—	++	+++	+++	+++
	B	—	—	+	+	++	++
<i>C. albicans</i>	A	—	—	++	+++	+++	+++
	B	—	—	+	++	++	+++

TARTIŞMA :

Bu konuda yapılan benzer çalışmalarla bizim bulgularımız benzerlik göstermektedir. Kıvanç ve Akgül (14) *E. coli*, *S. albus* ve *S. aureus* üzerine mercan köşk ve limon meyvesi uçucu yağlarını en etkili uçucu yağlar olarak bildirmişlerdir. Yousef ve Tawil (15) *Bacillus subtilis*, *E. coli* ve *S. aureus* üzerine kimyon, limon, kekik ve biberiye uçucu yağlarının etkisini araştırmıştı. Kimyon uçucu yağının *S. aureus*'a bakteriyostatik etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Morris ve ark. (16) kimyon uçucu yağının 500-1000 ppm. konsantrasyonlarının *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans* ve *Diphtheroid*'in gelişmesini engellediğini, limon uçucu yağının ise 500 ppm'i, *S. aureus* ve *C. albicans*'ın gelişmesini engellerken, *E. coli*'nin gelişmesini 1000 ppm'den fazla limon uçucu yağının engellediğini bildirmişlerdir. Yine Narasimha Rao ve Nigam (17) limon uçucu yağının *V. cholerae* ve *S. aureus*'un gelişmesini engellerken, *E. coli*, *S. albus* ve B-hemolitik streptokokları dirençli rapor etmişlerdir.

Gram pozitif mikroorganizmalar gram negatif bakterilere göre uçucu yağlara daha dirençlidirler (8-10).

Rathe ve ark. (18), çörekotu uçucu yağının penisilin ve streptomisine oranla *Salmonella typhi*, *S. aureus* üzerine daha etkili olduğunu ileri sürmüşlerdir. Benzer çalışmalar Hindistan'da yetişen bitkilerin de antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur (19-21).

Bakteriyel inhibisyon mikroorganizma yüküne, şuşlarına, uçucu yağın kimyasal yapısına ve konsantrasyonuna bağılı olarak değışmektedir(2). Uçucu yağın bileşimi ise bitki türlerine, kimyasal yapısına ve iklim şartlarına göre farklılık göstermektedir(22). Böylece uçucu yağların antimikrobiyal aktivitesi çok fazla değışiklik göstermektedir.

Bu çalışmada, gözde yerleşebilen ve enfeksiyona neden olan mikroorganizmalara test edilen uçucu yağların yüksek dozları (% 1 ve % 0,5) etkili olurken düşük dozları değışen oranlarda etkili olmuştur. İnvitro olarak etkili bulunan dozların daha ileri çalışmalarla göz enfeksiyonlarında kullanılıp kullanılamıyacağı araştırılmalıdır. Bunların yanında uçucu yağların difüzyon kabiliyeti ve toksitesinin de tayini gereklidir. İlerideki çalışmalarımızda bu konuları ele almayı düşünmekteyiz.

SUMMARY :

The in vitro antimicrobial efficiency of some essential oils against the possible microorganisms of human eyes.

Four essential oils added to growth media at concentrations ranging from 0.05 % to 1.0 % were studied with respect to their inhibitory effects against five bacteria and one yeast at two inoculum levels. Of essential oil tested, oregano, cumin, lemon peel and lemon leaf were inhibitory at some concentrations. Oregano had the most inhibitory activity; while lemon leaf had little activity against all tested bacteria to a variable extent. Candida albicans was the most resistant organism followed by Escherichia coli. The inoculum level had little effect on the inhibition.

Key Words: Antimicrobial activity of essential oils, Bacteria, yeast, Spice and citrus essential oils.

KAYNAKLAR :

- 1- Koedam, A.: Antimikrobielle Wirksamkeit atherischer Öle. Eine Literatur arbeit 1960-1976. Riechst Arom. Körperpflegen. 1977, 27: 36-41.
- 2- Shelef, L.A.: Antimicrobial Effects of Spices in Foods. J. Food Safety. 1983, 6: 29-44.
- 3- Pruthi, J.S.: Spices and condiments: Chemistry, Microbiology, Technology. New York. Academic Press. 1980: 33-63.
- 4- Isacoff, H.: Aromatics as Bactericides. Cosmetics and Toiletries. 1981, 96: 69-76.
- 5- Jansen, A.M., Scheffer, J.J.C., Svendsen, A.B. : Antimicrobial Activities of Essential Oils. Pharm. Weekblad. Sci. Ed. 1987, 9: 193-197.

- 6- Matcht, D.I., Kunkel, W.M.: The Antiseptic Action of some Aromatic Fur-
nes. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1920: 18. 68-70.
- 7- George, M., Pandalia, K.M.: Antibacterial activity of a few common essential
oils. Proc. Symp. Essent. Oils. Aromat. Chem. 1958: 154.
- 8- Maruzzella, J.C., Lichtenstein, M.B.: The invitro antibacterial activity of oils.
J. Am. Pharm. Assoc. 1956, 45: 378-381.
- 9- Bose, S.M., Bhima Rao, C.N., Subramanyan, V.: Influence of Organic Mat-
ter on Bactericidal Efficiency of Indian-Essential Oils. J. Sci. Ind. Res. 1949,
8: 157.
- 10- Bose, S.M., Bhima Rao, C.N., Subramanyan, V.: Some Factors Affecting
the Bactericidal Prop.rty of Lemongrass oil emulsions. J. Sci. Ind. Res.
Sect. B. 1950: 9B: 12.
- 11- Sreenivasamurthy, V., and Sastry, L.V.L.: Some Observations on Effect
of Asafoetida Oil on Intestinal Microflora. Proc. Symp. Antibiot., 1958: 237.
- 12- James, M.S.: Modern Food Microbiology. New York. Van Nostrand Rein-
hold. 1973.
- 13- Upadhyay, M.P., Manandhar, K.L. and Shrestha, P.B.: Antifungal Activity
of Garlic Against Fungi Isolated from Human Eyes. J. Gen. Appl. Microbiol.,
1980, 26: 421-424.
- 14- Kivanc, M., Akgül, A.: Antibacterial activities of essential oils from Turkish
spices and citrus. J. Flav. Frag. 1986, 1: 175-179.
- 15- Yousef, R.T., Tawil, G.: Antimicrobial activity of volatile oils. Pharmazie,
1980, 35: 698-701.
- 16- Morris, J.A., Khettry, A., Seitz, E.W: Antimicrobial activity of aroma chemi-
cals and essential oils. J. American Oil Chem. Society., 1979, 56: 595-503.
- 17- Narasimha Rao, B.G.V., Nigam, J.J.: The In Vitro Antimicrobial Efficiency
of some Essential Oils. The flavour Industry, 1970, 1: 725-729.
- 18- Rathee, P.S., Mishra, S.H., Kaushal, R.: Antimicrobiyal Activity of Essential
Oil, fixed oil and unsaponifiable matter of *Nigella sativa* Linn. Indian J. Phar-
maceutical Sci. 1982, 44: 8-10.
- 19- Dayal, B., Purohit, R.M.: Antibacterial activity of some Indian essential oils.
Rivista Ital., 1975, 3: 505-507.
- 20- Kar, A., Jain, S.R.: Investigations on the Antibacterial Activity of some
Indian Indigenous Aromatic Plants. The Flav. Ind. 1971, 2: 111-113, 86.
- 21- Nadkarmi, K.M.: Indian Meteria Medica, 1976, 1: 854-856.
- 22- Lawrence, B.M.: Uncommon Essential Oils as Sources of Common Natural
Aroma Chemicals. Perf. Flav. 1985. 1985, 10: 45.