



KAKULE (*Elettaria cardamomum*) BİTKİSİNİN ANTİMİKROBİYEL AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

Merve ÖZPINAR^{1*}, Nazlı SARIKAHYA², Duygu KIŞLA¹

¹Ege Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir

²Ege Üniversitesi, Kimya Bölümü, İzmir

*merveozpinarr@gmail.com



Bu çalışmada, kakulenin etanol-su (60:40) ekstraktı elde edilerek, belirlenen test mikroorganizmaları için (*Penicillium nigricans*, *Aspergillus* spp., *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Escherichia coli* DSM 1103) minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerleri incelenmiştir. MİK değerleri *P. nigricans*, *Aspergillus* spp. ve *A. niger* için sırasıyla 150, 300 ve 300 mg/ml; *S. cerevisiae* ve *C. albicans* için 150 mg/ml olarak belirlenmiştir. Minimum fungisidal konsantrasyon (MFK) değeri *S. cerevisiae* için 300 mg/ml olarak belirlenmiş, *P. nigricans*, *Aspergillus* spp., *A. niger* ve *C. albicans* için MFK değeri gözlenmemiştir. *S. aureus* ATCC 6538P ve *E. coli* DSM 1103 için MİK değerleri sırasıyla 150 mg/ml ve 75 mg/ml; MBK değerleri 300 mg/ml ve 150 mg/ml olarak belirlenmiştir. Kakule ekstraktının, gıda güvenliğinin sağlanması ve kalite özelliklerinin korunması amacıyla kullanılmakta olan kimyasal koruyuculara alternatif olduğu düşünülmektedir.

I. GİRİŞ

Gıda güvenliği, gıda endüstrisinin temel amaçlarından biridir. Gıda kaynaklı patojen mikroorganizmaların insan sağlığı açısından oluşturdukları tehdidi ortadan kaldırmak amacıyla yeni teknolojiler kullanılırken, uzun yıllardır bilinen klasik yöntemlerden de sıkça yararlanılmaktadır. Günümüzde gıda kaynaklı patojenlerin gelişiminin önlenmesi ve kalitenin korunması için kullanılan kimyasal koruyuculara alternatif olarak esansiyel yağlar, bitki ekstraktları gibi doğal katkı maddelerinin kullanımına ilgi büyümektedir. Geleneksel bitki ve baharatların, antimikrobiyel bileşiklerin araştırılmasında iyi kaynaklar olduğu bilinmektedir. Kakule (*Elettaria cardamomum*), Zingiberaceae ailesinin üyesi olan, çok yıllık, saz benzeri bir bitkidir. Kakule tohumlarının mutfaklarda baharat olarak kullanılmasının yanında bu tohumlardan gıda, ilaç, kozmetik gibi sektörlerde de yararlanılmaktadır. Bu çalışmada kakulenin etanol-su ekstraktı elde edilerek, belirlenen test mikroorganizmaları için (*P. nigricans*, *Aspergillus* spp., *A. niger*, *S. cerevisiae*, *C. albicans*, *S. aureus* ATCC 6538P, *E. coli* DSM 1103) minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal ve fungisidal konsantrasyon (MBK, MFK) değerleri araştırılmıştır.

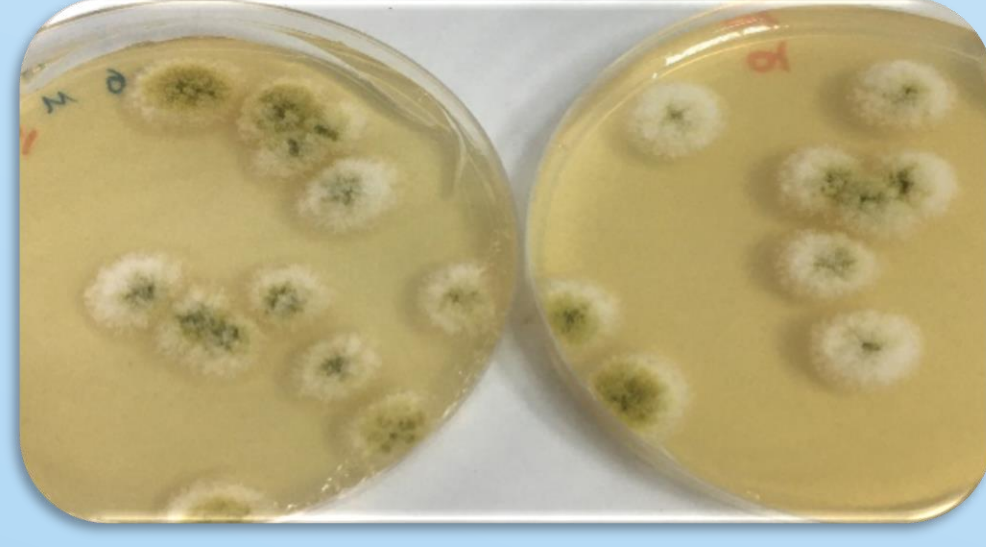
II. MATERYAL & YÖNTEM

1. MATERYAL

Kakule tohumları İzmir'de yerel bir marketten temin edilmiştir. Test mikroorganizmaları (*P. nigricans*, *A. niger*, *S. cerevisiae*, *C. albicans*, *S. aureus* ATCC 6538P, *E. coli* DSM 1103) Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarından temin edilmiştir. *Aspergillus* spp. piyasada satışa sunulan ambalajlı kek örneğinden izole edilmiştir.



Şekil 1. Kakule tohumu



Şekil 2. *Aspergillus* spp. izolatu

2. YÖNTEM

2.1. KAKULE EKSTRAKTININ ELDE EDİLMESİ

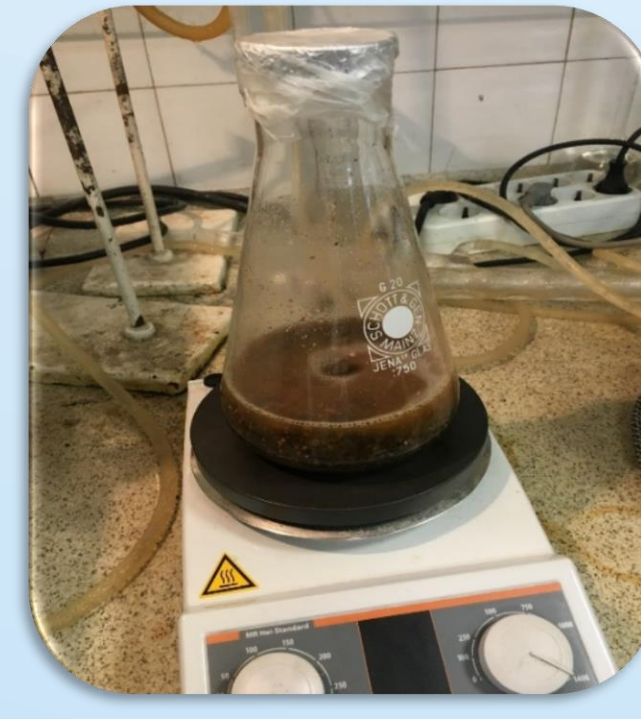
Ekstraktlar, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü'nde hazırlanmıştır.

- Kakule tohumları ayıklanıp havanda ezilerek küçük parçalar haline getirilmiştir.
- Üzerine 200 ml solvent (etanol-su (60:40)) ilavesi yapılmış ve manyetik karıştırıcıda oda sıcaklığında 8 saat boyunca bekletilmiştir.
- Karışım filtre edildikten sonra üzerine 200 ml solvent ilave edilip manyetik karıştırıcıya alınmıştır. İşlem 4 kez tekrar edilmiştir.
- Filtrasyon işleminden sonra, evaporatörde 40°C'yi geçmeyen sıcaklıkta uçurularak ekstrakt elde edilmiştir.

Ekstrakt liyofilize edilmiş ve kullanıma kadar -18°C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3. Öğütme



Şekil 4. Manyetik karıştırma



Şekil 5. Filtrasyon

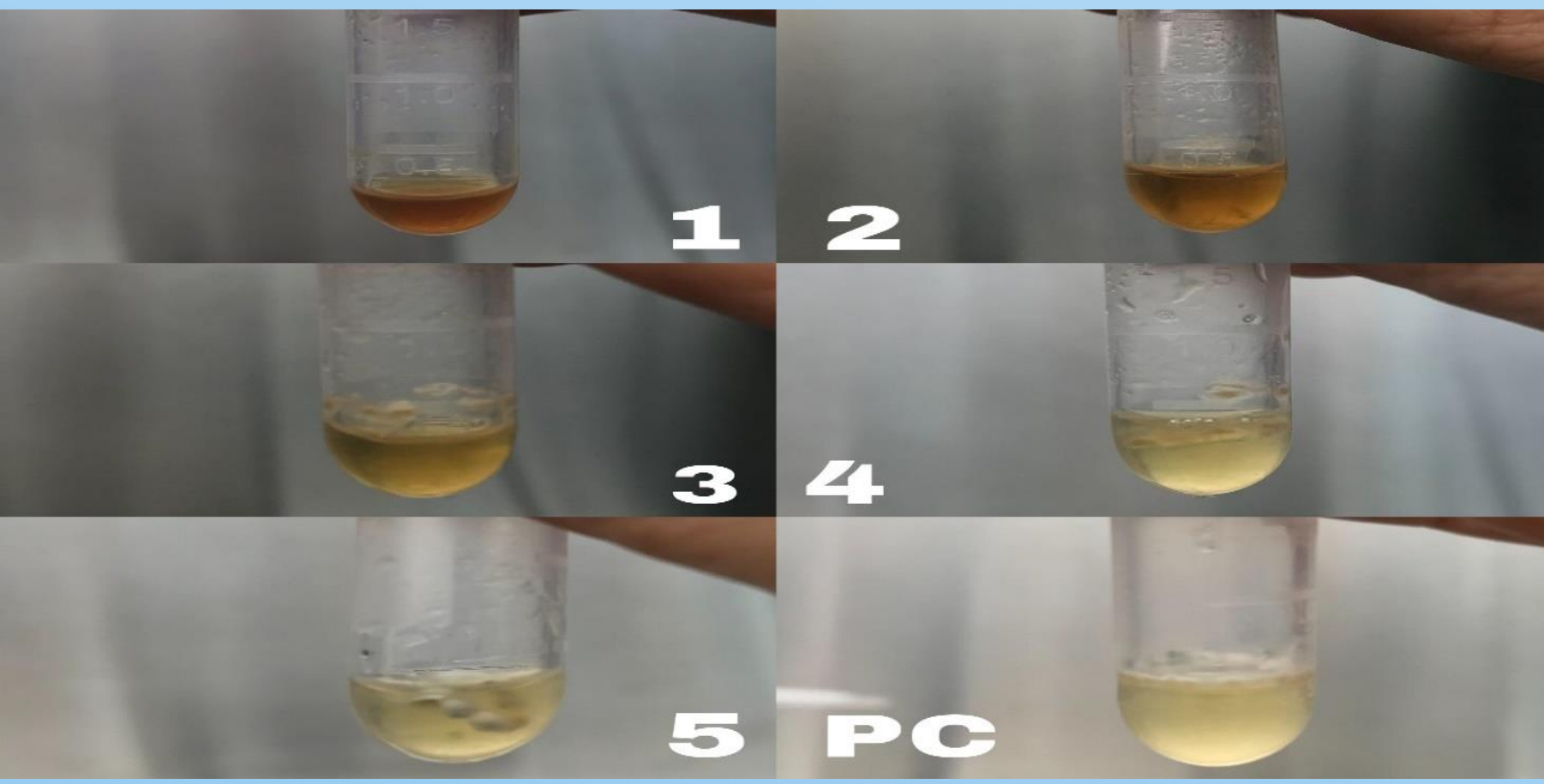


Şekil 6. Evaporasyon

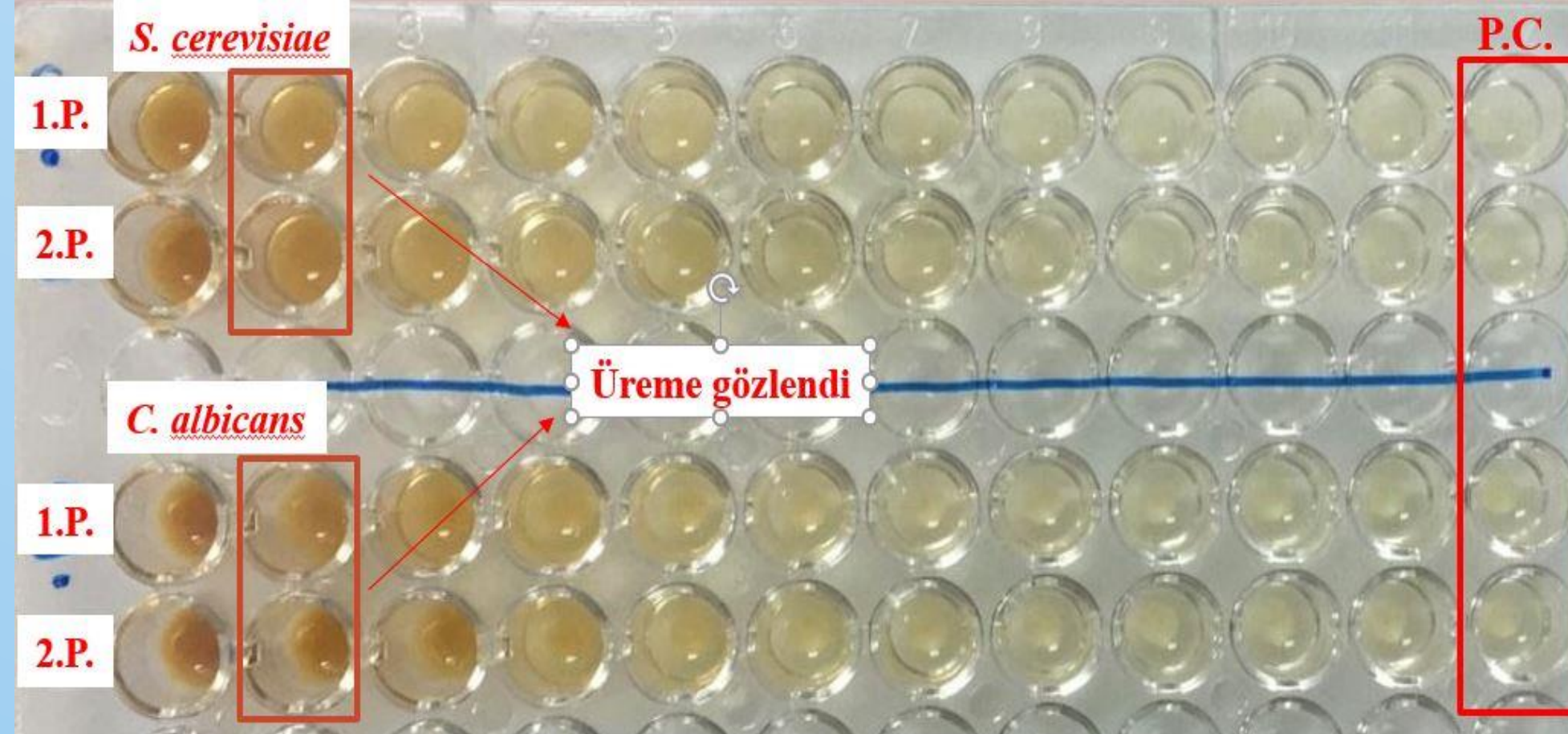
2.2. MİK, MBK VE MFK TESTLERİ

Liyofilize edilen kakule ekstraktı kendi çözücüsünde çözülerek şırınga membran filtrasyon (0,45 µm, Sartorius, Almanya) yöntemi ile sterilize edilmiştir. Bakteriler ve mayalar için kakule ekstraktının antimikrobiyel etkinliği mikrodilüsyon yöntemi (U tabanlı 96 kuyucuklu mikroplaterler ile) ile belirlenmiştir (CLSI, 2012). Küf kültürleri için makrodilüsyon metodu uygulanmıştır (Manso et al., 2013). Ekstrakt konsantrasyonları ilk kuyucukta/tüpte 300 mg/ml'ye ayarlanmıştır. Stok süspansiyonun konsantrasyonu bakteri ve mayalar için 0.5 McFarland standardına ayarlanmıştır. Küf kültürleri için Thoma lamı sayımı yapılmıştır. Test kültürlerinin konsantrasyonları bakteri, maya ve küf için sırasıyla 10⁴ kob/kuyucuk, 10⁴ kob/kuyucuk ve 10³ spor/tüp olacak şekilde ayarlanmıştır. MBK ve MFK değerlerinin belirlenmesi için, MİK değerinden bir önceki kuyucuk/tüplerden başlamak üzere, üreme gözlenmeyen tüm kuyucuk/tüplerden maya ve küfler için Malt Extract Agar (Merck, Almanya), bakteriler için Tryptic Soy Agar (Merck, Almanya) besiyerlerine çizim yapılmıştır.

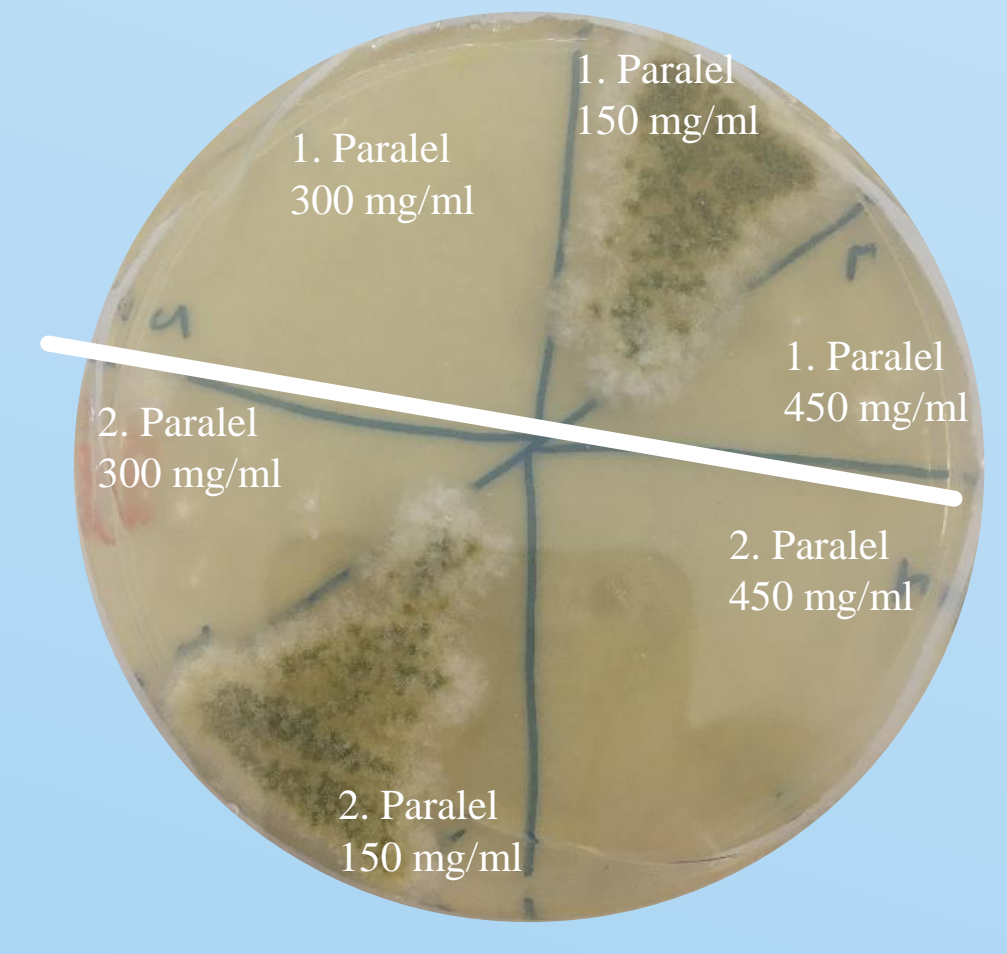
III. SONUÇLAR



Şekil 7. *P. nigricans* için MİK sonuçları



Şekil 8. *S. cerevisiae* ve *C. albicans* için MİK sonuçları



Şekil 9. *P. nigricans* için MFK sonucu

Sonuç olarak, kakulenin etanol-su ekstresinin en yüksek inhibisyon aktivitesi bakteriler üzerinde gözlenmiş ve MİK değeri *E. coli* için 75 mg/ml ve *S. aureus* için 150 mg/ml olarak belirlenmiştir. En düşük MBK değeri *E. coli* için gözlenirken, en düşük MFK değeri *C. albicans* ve *P. nigricans* için 150 mg/ml olarak belirlenmiştir (Tablo 1.). Sonuçlar, kakulenin baharat olarak kullanımının yanı sıra uygun konsantrasyonlar ile doğal bir koruyucu olarak gıdalarda kullanılabileceğini göstermiştir.

Tablo 1. Kakule ekstraktının MİK, MBK ve MFK değerleri

Mikroorganizmalar	MİK / MBK-MFK Değerleri (mg/ml)
<i>E. coli</i> DSM 1103	75 / 150
<i>S. aureus</i> ATCC 6538P	150 / 300
<i>S. cerevisiae</i>	150 / 300
<i>C. albicans</i>	150 / -
<i>P. nigricans</i>	150 / -
<i>A. niger</i>	300 / -
<i>Aspergillus</i> spp.	300 / -

- : MFK değeri gözlenmedi

REFERANSLAR

- Abdullah., Asghar, A., Butt, M.S., Shahid, M., Huang, Q., 2017. Evaluating the antimicrobial potential of green cardamom essential oil focusing on quorum sensing inhibition of *Chromobacterium violaceum*. Journal of Food Science Technology. 54(8): 2306-2315.
- CLSI, 2012. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Ninth Edition. CLSI document M07-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Kaushik, P., Goyal, P., Chauhan, A., Chauhan, G., 2010. *In Vitro* Evaluation of Antibacterial Potential of Dry Fruit Extracts of *Elettaria cardamomum* Maton (Chhoti Elaichi). Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 9 (3): 287-292.
- Manso, S., Cacho-Nerin, F., Becerril, R., & Nerin, C., 2013. Combined analytical and microbiological tools to study the effect on *Aspergillus flavus* of cinnamon essential oil contained in food packaging. Food Control, 30, pp. 370-378.
- Pitt, J., Hocking, A. D., 2009. Fungi and Food Spoilage. 3rd Edition, Ch. 4, pp. 23-25. Springer Science+Business Media, New York.