

Tarçın ekstraktlarının bazı patojenler üzerine antibakteriyel etkilerinin *in vitro* incelenmesi

Determination of *in vitro* antibacterial effects of cinnamon extracts on some pathogens

Ayla ÜNVER ALÇAY¹ (ID), Aysun SAĞLAM² (ID), Nagihan ÇAĞLAR³ (ID), Kamil BOSTAN³ (ID)

ÖZET

Amaç: Gıda kaynaklı enfeksiyonlar dünya çapında halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. Antibiyotiklerin keşfi enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde önemli bir mihenk taşı olmuştur. Ancak günümüzde antibiyotiklere dirençli enfeksiyonlar nedeniyle her yıl çok sayıda insan yaşamını yitirmektedir. Antibiyotiklere karşı direnç yeni antibakteriyellerin geliştirilmesini zorunlu kılmıştır. Günümüzde gıda koruyucu doğal antimikrobiallere talep de artarak devam etmektedir. Ayrıca COVID-19 pandemisiyle birlikte antimikrobiyal etkinliği olan fonksiyonel gıda takviyelerine yoğun ilgi olmaktadır. Bu çalışmada, mutfakta geniş bir kullanım alanına sahip olan ve sayısız sağlık yararı nedeniyle fonksiyonel gıdalara dahil edilen tarçın baharatının çeşitli çözücülerle (etanol, metanol, kloroform ve su) hazırlanan ekstraktlarının bazı gıda ve suyla bulaşan patojen bakteriler üzerine antimikrobiyal etkinliğinin *in vitro* çalışmalarla belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışmada; tarçının metanol, etanol, kloroform ve su ekstraktlarının bazı önemli gıda ve suyla bulaşan patojen bakteriler (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella Typhi*) üzerine *in vitro* antimikrobiyal aktiviteleri agar kuyu difüzyon

ABSTRACT

Objective: Foodborne illnesses are still a major public health concern across the world. Antibiotics have been a critical component in the treatment of infectious illnesses since their discovery. However, antibiotic-resistant diseases claim the lives of countless individuals every year. Antibiotic resistance requires the development of new antibiotics. Nowadays, the demand for natural antimicrobials as a food preservative is on the rise. Furthermore, with the COVID-19 pandemic, functional food supplements with antibacterial action are gaining popularity. The focus of this research was to identify the *in vitro* antimicrobial activity of cinnamon spice, which has many culinary utilizes and is used in functional foods due to its multiple health benefits, extracts prepared with various solvents (ethanol, methanol, chloroform, and water) against some food and water-borne pathogens.

Methods: Cinnamon methanol, ethanol, chloroform, and water extracts were tested for *in vitro* antimicrobial activity against a variety of food and water-borne pathogens (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella Typhi*)

¹İstanbul Aydın Üniversitesi, ABMYO, Gıda Teknolojisi Programı, İstanbul

²İstanbul Aydın Üniversitesi, ABMYO, Gıda Kalite Kontrolü ve Analizi Programı, İstanbul

³İstanbul Aydın Üniversitesi, Güzel Sanatlar Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, İstanbul



İletişim / Corresponding Author : Ayla ÜNVER ALÇAY
Beşyol, İnönü Cd. No: 38, Küçükçekmece / İstanbul - Türkiye
E-posta / E-mail : aylaalçay@aydin.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 16.06.2022
Kabul Tarihi / Accepted : 10.01.2023

ve mikrodilüsyonla yapılan minimum inhibe edici konsantrasyon (MİK) yöntemleri ile belirlenmiştir.

Bulgular: Tarçından elde edilen etanol ve metanol ekstraktlarının incelenen bakterilere karşı değişen derecelerde antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu gözlenmiş, MİK değerlerinin sırasıyla 1,65 ila 6,82 mg/mL, 1,12 ila 9,16 mg/mL arasında değiştiği saptanmıştır. Tarçının etanol ve metanol ile elde edilen ekstraktları için minimum inhibisyon zonları (MİZ) ise sırasıyla 11,13-14,35 mm ve 12,20-15,55 mm aralığında belirlenmiştir. Tarçının kloroform ekstraktları ve sulu ekstraktları ile MİZ ve MİK saptanamadığı için istatistiksel değerlendirmede kapsam dışı bırakılmıştır. Yapılan istatistik değerlendirmede; etanol ve metanol ekstraktlarının MİZ sonuçları karşılaştırıldığında, antimikrobiyal etkinlik açısından farklılığın anlamlı olmadığı (*E. faecalis* hariç) belirlenmiş ve bu ekstraktların benzer derecede antimikrobiyal etkinlik gösterdiği saptanmıştır ($p<0,05$). *E. faecalis*'e karşı tarçının metanol kullanılarak elde edilen ekstraktının etanolla elde edilene kıyasla daha duyarlı olduğu belirlenmiştir.

Sonuç: Bu çalışmada; incelenen tarçının etanol ve metanol ekstraktlarının antibakteriyel aktivite sonuçlarının, tarçın ekstraktlarının daha önceki çalışmalarda belirlenen patojenler üzerindeki antibakteriyel aktivitesine yakın hatta daha yüksek olabileceği belirlenmiştir. Elde edilen verilerin, gıdaların formülasyonlarının hazırlanmasında yardımcı olacağı düşünülmektedir. Bu çalışmanın sonuçları, geçmişte tarçın ekstraktları ile yapılan antibakteriyel aktivite çalışmalarının verileri ile karşılaştırıldığında çok farklı sonuçlar elde edildiği gözlenmiştir. Bitkisel antimikrobiyallerin etkinliğinin belirlenmesinde, antibiyotiklerde olduğu gibi standardize yöntemlere ihtiyaç duyulduğu sonucuna da varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Tarçın ekstraktları, antimikrobiyal etki, gıda kaynaklı patojen bakteri, minimum inhibisyon konsantrasyonu

using agar well diffusion and minimum inhibitory concentration (MIC) methods.

Results: MIC values for ethanol and methanol extracts from cinnamon ranged from 1.65 to 6.82 mg/mL and 1.12 to 9.16 mg/mL, respectively. Inhibition zones for ethanol and methanol extracts were determined in the range of 11.13-14.35 mm and 12.20-15.55 mm, respectively. In order to assess these extracts as food preservatives, more research on food model systems is required. Since MIZ and MIC were not determined cinnamon chloroform extracts and aqueous extracts, they were excluded from the statistical evaluation. In the statistical evaluation, when MIZ results were compared for the antimicrobial effects of ethanol and methanol extracts, it was determined that the difference was not significant (except for *E. faecalis*) ($p<0.05$). It was determined that the cinnamon extract obtained using methanol was more sensitive to *E. faecalis* than the cinnamon extract obtained with ethanol.

Conclusion: It was determined that the antibacterial activity results of cinnamon ethanol and methanol extracts examined in this study may be close to or even higher than the antibacterial activity of cinnamon extracts on pathogens determined in previous studies. It is thought that the data obtained will help in the preparation of food formulations. When the results of this study were compared with the data of antibacterial activity studies conducted with cinnamon extracts in the past, it was observed that very different results were obtained by different researchers. It has been concluded that standardized methods are needed to determine the efficacy of herbal antimicrobials, as for antibiotics to determine antimicrobial efficacy.

Key Words: Cinnamon extracts, antimicrobial effect, foodborne pathogen, minimum inhibition concentration

GİRİŞ

Tarçın, dünya mutfağında ve geleneksel tıpta geniş bir kullanıma sahip olan *Lauraceae* familyası *Cinnamomum* cinsinden her daim yeşil bir tropikal ağacın iç kabuğundan elde edilen, oldukça aromatik bir baharattır. *Cinnamomum zeylanicum*, *Cinnamomum loureirii*, *Cinnamomum burmanni* ve *Cinnamomum aromaticum* en çok bilinen tarçın türleridir. Antimikrobiyal, anti-inflamatuar, antialerjik, antitümör, antilipemik, antidiyabetik, ateş düşürücü, antiülserojenik, antihipertansif, mide koruyucu ve immünomodülatör gibi birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir (1). Türkiye’de tarçın obezite ve kilo kaybı için halk tarafından aktardan alınarak kullanılan ilk beş bitkiden birincisidir (2).

Gıda kaynaklı patojen mikroorganizmalar tüm dünyada sorun olmaya devam etmekte, bozulmaya yol açarak ve raf ömrünü kısaltarak önemli gıda kayıplarına yol açmaktadırlar. *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes* başlıca gıda kaynaklı patojen bakterilerdir. Patojenik mikroorganizmalar veya bozulma yapan mikroorganizmalara karşı önlem almak için gıda endüstrisi genellikle koruyucu maddeler kullanır. Son yıllarda, tüketici bazında, doğal koruyucu maddelerin geliştirilmesine yönelik talep artmıştır. Doğal ve güvenli gıda koruyucu maddeler olarak bitki ekstraktlarının kullanımı önemli seçeneklerdir (3). Bitkisel ekstraktlar; su, alkol, klorofom veya hekzan gibi çözücüler kullanılarak bitkilerin taze veya kurutulmuş yapraklar, çiçekler, meyve çekirdekleri veya odunsu kısımlarının belirli ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen sıvı, toz ya da viskoz bitki özlerine verilen isimdir. Farklı gıda ürünlerinde, çeşitli yöntemlerle elde edilen bitki ekstraktlarıyla gıda koruma yöntemleri geliştirmek için araştırmalar yapılmaktadır (4). Bitki ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri, pek çok bitki uçucu yağında bulunan terpenoidler (carvacrol, carvone, thymol, terpinen-4-ol) ve phenylpropanoidler (cinnamaldehyde, eugenol, anethol) gibi ikincil bitki bileşenlerinden

kaynaklanmaktadır. Mazimba ve ark. (5), *Cinnamomum verum*’un metanol ekstraktlarının fitokimyasal analizini yapmışlar; alkaloidler, flavanoidler, tanenler, fenoller ve saponinlerin varlığını saptamışlardır. Tarçın kabuk uçucu yağının temel bileşeni sinamaldehit (3-fenil-2-propenal fenol; C_9H_8O), tarçın yaprak uçucu yağının başlıca bileşeni ise öjenoldür (6-8). Yapılan çalışmalar, sinamaldehit ve öjenol gibi aromatik maddelerin yüksek antimikrobiyal etkisini ortaya koymuştur (9-11).

Günümüzde sağlıklı beslenme, doğala yönelim ve fonksiyonel özellikleri nedeniyle, bitkilerin ve ekstraktlarının gıdalara eklenmesi büyük ilgi çekmektedir. Bu çalışmada da çeşitli çözücülerle hazırlanan tarçının ekstraktlarının bazı gıda ve suyla bulaşan patojen bakteriler üzerine *in vitro* antimikrobiyal etkinliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Laboratuvar çalışmaları ve ekstraktların üretimi, İstanbul Aydın Üniversitesi, ABMYO Gıda Teknolojisi Laboratuvarı’nda gerçekleştirilmiştir.

Üç farklı markaya ait (menşei Endonezya), kapalı ambalajda 100 gramlık altışar paket toz tarçın (*Cinnamomum zeylanicum*) İstanbul’daki yerel marketlerden 2021 Ocak ayında temin edilmiştir.

Çalışmada, altı tanınmış patojen bakteri türü olarak *Salmonella Typhi* ATCC 14028, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Listeria monocytogenes* ATCC 51780, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212) kullanılmıştır. Suşlar BD Diagnostics’ten (Almanya) satın alınmış ve aerobik olarak 24 saat süreyle 37°C’de Nutrient Agar besiyerinde (Merck, 105458) inkübe edilmiştir (12).

Tüm ekstraktlar Gupta ve ark.’nın (12) yöntemi modifiye edilerek hazırlanmıştır. Her bir ekstraktı elde etmek için dört farklı çözücü [etanol (Merck 100986), metanol (Merck, 106009), kloroform (Merck 102445) ve fosfat tamponlu salin (PBS, Merck 109439 pH 7]

kullanılmıştır. Temin edilen tarçın, 15 gram tartılarak 100 mL'lik ağzı kapaklı erlenlere aktarıldıktan sonra her ekstrakt için ayrı ayrı 60 mL etanol, 60 mL metanol, 60 mL kloroform ve 120 mL PBS ilave edilmiştir. Karanlık bir yerde, oda sıcaklığında iki gün, orbital shaker (Scilogex, SK-O330-pro) ile çalkalanmıştır. Bu işlemten sonra, homojenizatör (WiseTis, HG-15A) ile iki dakika karıştırılmıştır. Orbital shaker çalkalama işlemine bir gece (12 saat) daha devam edilmiştir.

Ertesi gün ekstraktlar Whatman No.1 filtre kağıdından geçirilerek süzölmüş ve ardından döner buharlaştırıcı (Heidolph Hei-Vap Value HL/G6) kullanılarak vakum altında 40°C'de konsantr edilmiş ve kuru madde miktarı hesaplanmıştır. Hazırlanan farklı ekstraktların verimleri (mg/mL) Tablo 1'de verilmiştir. Dimetil sülfoksit (DMS, Merck 802912) 1/10 oranında ilave edildikten sonra ekstraktlar çözülmüş ve ekstraktlar kahverengi şişelerde -25°C'de muhafaza edilmiştir.

Tablo 1. Ekstraktların verimleri (mg/mL)

Solvent Tipi	Tarçın 1	Tarçın 2	Tarçın 3
Etanol	13,63	15	13,35
Metanol	18,325	26,33	17,92
Kloroform	13,38	14,75	14,4
PBS	6,61	8,64	6,62

Tarçın ekstraktlarının antibakteriyel özelliklerini araştırmak için agar kuyu difüzyon yöntemi kullanılmıştır (12). Her bakteri başlangıçta, Brain Heart Infusion (Merck, 110493) sıvı besiyerine ekilmiş ve 24 saat 37°C'de aerobik koşullarda inkübe edilmiştir. *L. monocytogenes* için mikroaerofilik inkubasyon koşulları sağlanmıştır. Her test bakterisinden 100 mikrolitre standartlaştırılmış inokulum (10⁶ CFU/mL; 0,5 MacFarland), Muller-Hinton Agar (MHA) besiyerine üzerine yayılmıştır. Petrilerin kuruması için bir süre beklendikten sonra, agarda steril bir delici yardımıyla 6 mm çapında kuyular açılmış ve her ekstraktan 100 µL'lik bir hacimde agar plakalarının kuyularına yerleştirilmiştir. Daha sonra petri kapları difüzyon sağlamak için oda sıcaklığında 1 saat bekletilip 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Her ekstrakt için altı paralel çalışılmıştır. Oluşan inhibisyon zonları dijital kumpas ile milimetre cinsinden ölçülmüştür (Şekil 1). Pozitif kontrol olarak gentamisin (10 µg) kullanılmıştır (Şekil 2).

Ekstraktların MİK değerleri mikrodilüsyon metodu kullanılarak saptanmıştır (13). İncelenen bakteri suşları Tryptic Soy Broth (Merck 105459) besiyerine ekilmiş ve 24 saat 37°C'de aerobik olarak, *L. monocytogenes* mikroaerofilik olarak inkübe edilmiştir. Steril 96 kuyucuklu mikrotitre plakalarında, her bir ekstraktın iki kat azalan seyreltmeleri steril distile su ile yapılmıştır. Her suş Mueller-Hinton Broth (Merck 110293) ile 0,5 McFarland elde etmek için (10⁶ kob/mL) süspansiyon edilmiştir. Daha sonra her kuyucuğa 50 µL bakteri süspansiyonu eklenmiştir. Her mikrodilüsyon plakasının, bir negatif büyüme kontrolü (tek başına besiyeri) ve bir pozitif büyüme kontrolü (100 µL besiyerinde bakteri süspansiyonu) içermesi sağlanmıştır. Mikroplaka 48 saat 37°C'de aerobik koşullarda inkübe edilmiştir. Kültürde bulanıklığın gözlenmediği, bakteri üremesinin olmadığını gösteren en düşük ekstrakt konsantrasyonu, minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) olarak belirlenmiştir. Doksan altı kuyucuklu plakın her kuyusundan, steril bir pipet ile

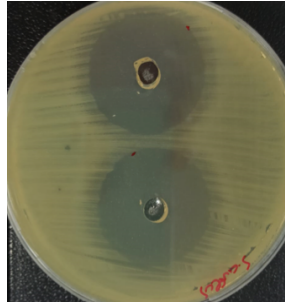
10 mikrolitre sıvı alınarak Triptik Soy Agar plaklarına aktarılmış ve hangi kuyucuğun son üreme olduğu kesin olarak doğrulanmıştır (Şekil 3). Her ekstrakt için üç bağımsız deney yapılmıştır.

Tüm analizlerin sonuçları ortalama olarak ifade edilmiştir. Çalışmamızda elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS 25 (IBM) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Zon çapları ve MİK değerlerinin tespiti için sırasıyla altı ve üç paralel

çalışılmıştır. Analiz yapılan veri setlerinin normal dağılım gösterdiği Shapiro-Wilk testiyle kontrol edilmiştir. İkili grupların karşılaştırması, Independent Samples T-test kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İki den fazla sayıda bulunan gruplar arasındaki farklılıklar tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Games-Howel Testi kullanılarak saptanmıştır. *p* değerleri 0,05' den küçük olduğunda istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu kabul edilmiştir.



Şekil 1. Kuyu difüzyon testi ile tarçının etanol, metanol ve kloroform ekstraktlarının minimum inhibisyon bölgeleri



Şekil 2. Gentamisin pozitif kontrol minimum inhibisyon zonları



Şekil 3. MHA besiyerinde MİK mikrodilüsyon testinin doğrulanması

BULGULAR

Farklı tarçın ekstrakt çeşitlerinin verimleri (mg/mL) Tablo 1'de gösterilmiştir. Tarçın ekstraktlarının inhibisyon zonu ve MİK değerleri Tablo 2 ve Tablo 3'te özetlenmiştir. Tarçın etanol ve metanol özütlelerinin incelenen patojen bakterilere karşı antibakteriyel etkiye sahip olduğu belirlenmiş, ancak tarçın kloroform ve sulu ekstraktlarının incelenen hiçbir bakteriye karşı antibakteriyel etkisi gözlenmemiştir.

Inhibisyon zonu çapları etanol ve metanol ekstraktları sırasıyla 11,13-14,35 mm ve 12,57-15,55 mm aralığında belirlenmiştir (Tablo 2). *E. faecalis* hariç çözücü farklılığının (etanol, metanol)

ekstraktların antibakteriyel etkisinde değişikliğe sebep olmadığı belirlenmiştir ($p<0,05$). *E. faecalis*'in tarçının metanol kullanılarak elde edilen ekstraktına etanole kıyasla daha duyarlı olduğu saptanmıştır. Etanol ve metanol ekstraktları tek tek ele alındığında tüm bakteri türlerine karşı istatistiksel olarak aynı oranda antibakteriyel etki gösterdiği bulunmuştur ($p>0,05$).

Tarçından elde edilen etanol ve metanol ekstraktları için MİK değerlerinin sırasıyla 1,65 ila 6,82 mg/mL, 1,12 ila 9,16 mg/mL arasında değiştiği belirlenmiştir (Tablo 3). Bakteri çeşidinin MİK değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yaratmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$).

Tablo 2. Tarçın ekstraktlarının minimum inhibisyon zonu çapları

Bakteri Türü	Zon Çapları (mm)	
	Etanol ekstrakt	Metanol ekstrakt
<i>S. Typhi</i>	13,48±2,26 ^{a A}	12,64±3,20 ^{a A}
<i>E. coli</i>	13,60±2,80 ^{a A}	15,55±2,68 ^{a A}
<i>B. cereus</i>	14,35±2,84 ^{a A}	12,57±1,20 ^{a A}
<i>S. aureus</i>	13,20±1,53 ^{a A}	15,52±2,18 ^{a A}
<i>L. monocytogenes</i>	13,10±1,36 ^{a A}	12,74±1,28 ^{a A}
<i>E. faecalis</i>	11,13±0,51 ^{a B}	15,20±2,85 ^{a A}

a: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden farklıdır ($p<0,05$)

A-B: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden farklıdır ($p<0,05$)

Tablo 3. Tarçın ekstraktlarının MİK değerleri (mg/mL)

Bakteri Türü	Etanol ekstrakt		Metanol ekstrakt	
	Min-Max	Ortalama	Min-Max	Ortalama
<i>S. typhi</i>	2,75-3,41	3,15 ^a	1,65-4,58	3,57 ^a
<i>E. coli</i>	2,75-6,82	4,29 ^a	2,24-9,16	4,89 ^a
<i>B. cereus</i>	1,70-3,30	2,58 ^a	2,24-3,29	2,61 ^a
<i>S. aureus</i>	2,75-3,41	3,15 ^a	1,12-4,58	2,45 ^a
<i>L. monocytogenes</i>	2,75-3,41	3,15 ^a	2,24-3,29	2,61 ^a
<i>E. faecalis</i>	1,65-3,41	3,52 ^a	1,15-6,58	3,32 ^a

a: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden farklıdır ($p<0,05$)

TARTIŞMA

Bu çalışmada, tarçın etanol ve metanol çözücülerini ile elde edilen ekstraktlar incelenen tüm bakteri suşlarına karşı *in vitro* antibakteriyel etkinlik göstermiş, ancak tarçın kloroform ve sulu ekstraktlarının hiçbir bakteri üzerine etkinlik göstermediği belirlenmiştir.

Çalışmamızdan elde edilen verilere göre tarçın ekstraktlarının *S. Typhi*'e karşı *in vitro* antimikrobiyal etkisi incelendiğinde, literatürde benzer olarak tarçının kloroform ve sulu ekstraktlarının antibakteriyel etki göstermediği çalışmalar olduğu saptanmıştır (14, 15). Cowan (16), tarçının ana aktivitesinin esas olarak öjenol ve sinamaldehit içeriğinden kaynaklandığını ve bu bileşiklerin tercihen sudan çok etil alkol içinde çözüldüğünü bildirmiştir. İsmail ve ark. (14) ve Naveed ve ark. (17) tarafından gerçekleştirilen çalışmaların sonuçları; çalışmamızın sonuçlarına [2,75-3,41 mg/mL (min-max)] benzer olarak tarçın etanol ekstraktlarının *S. Typhi*'e karşı MİK değerlerinin sırasıyla 3 mg/mL ve ortalama 3,57 mg/mL olarak bildirildiği saptanmıştır.

Moon (18) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada ise tarçın etanol ve metanol ekstraktlarının (w/v: 10 g/100 mL) *E. coli* için belirlenen inhibisyon zonlarının çalışmamıza benzer olarak sırasıyla 10 mm ve 18 mm olarak saptandığı gözlemlenmiştir. Yine bir başka çalışmada; tarçın metanol ekstraktının *E. coli* için inhibisyon zonu 10 mm olarak bildirilmiştir (5). İsmail ve ark. (14)'nın çalışmasında ise *E. coli* ATCC 5087'e karşı MİK değeri 3 mg/mL olarak bildirilmiş olup, sulu ekstrakt için MİK belirlenmemiştir.

Yapılan çeşitli çalışmaların sonucunda farklı sonuçlar elde edildiği de görülmüştür. Rakshit ve Ramalingam (19) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada; *Cinnamomum verum* (tarçın) sulu ekstraktının (w/v: 40/200 mL) *E. coli* açısından antibakteriyel aktivitesini değerlendirilmiş, yüksek dozda hazırlanan ekstraktlarda zon oluşumu gözlemlenmiştir. Hoque ve ark. (20) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada

ise tarçının (*Cinnamomum cassia*), etanol, sulu ekstraktının *E. coli*'ye karşı antibakteriyel etkisi olmadığı bildirilmiştir. Tarçının metanol ve etanol ekstraktlarının *E. coli*'ye karşı antibakteriyel etkisinin olmadığını bildiren başka çalışmalar da bulunmaktadır (21, 22). Genel olarak yapılan çalışmaların sonucunda elde edilen farklı sonuçların ekstraksiyon yöntemi, kullanılan tarçın çeşidi ve analiz yönteminin farklılıklarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Albaridi ve Yehia (23) tarafından yapılan çalışmada da *B. cereus* ATCC 14579'a karşı tarçın sulu ekstraktının MİK değeri 100 mg/mL, etanol ekstraktının ise 6,25 mg/mL olarak saptanmıştır. Çalışmamızdaki etanol ekstraktı *B. cereus* MİK değeri 1,70-3,30 mg/mL (ortalama 2,58 mg/mL) olarak belirlenmiş olup bu çalışmadan oldukça düşük olduğu tespit edilmiştir. İnhibisyon zon çapları karşılaştırıldığında; sulu ekstraktlarda benzer olarak inhibisyon zonu belirlenemediği görülmüş ve etanol ekstraktının minimum inhibisyon zon çapları bizim çalışmamıza göre oldukça yüksek bulunmuştur. Ayrıca yapılan farklı çalışmaların MİK ve MİZ sonuçlarının çalışmamızda elde edilen değerlerden yüksek olduğu belirlenmiştir (12, 18). *B. cereus*'a karşı tarçının metanol ekstraktının antimikrobiyal aktivitesinin incelendiği başka bir çalışmanın MİK değeri, bizim çalışmamızdan elde edilen değerden yüksek bulunmuş olmasına rağmen inhibisyon zon çaplarının (MİZ 15,4 ± 0,3 mm) yakın olduğu görülmüştür (11).

Hoque ve ark. (20)'nın çalışmasında tarçının (*Cinnamomum cassia*), etanol ekstraktında 10,0 mg/mL miktarında MİZ gözlenmemiş; MİK değerleri etanol ekstraktı için saptanmamıştır.

İsmail ve ark. (14)'nın çalışmasında da Mısır'da baharat olarak kullanılan tarçının etanol ve sulu ekstraktı 100, 200 and 300 mg/mL konsantrasyonda hazırlanmış ve *S. aureus* ATCC 6538 üzerine antimikrobiyal etkinliği agar jel difüzyon tekniği ile MİK belirlenerek değerlendirilmiştir. Bu bakteri ile tarçın etanol ekstraktının MİK değeri 2 mg/mL olarak saptanmıştır. Belirlenen MİK değeri bizim çalışmamıza

yakın olduğu tespit edilmiştir. Sulu ekstraktta MİK belirlenmemiştir. Hazırlanan tarçın sulu ekstraktının (100 mg/mL) MİK değeri saptanamamıştır. Bu çalışma ile ve bizim çalışmamızda sulu ekstraktta MİK belirlenmemiştir. Mouas ve ark.'nın (15) tarçının (*Cinnamomum zeylanicum*) kloroform ile hazırladıkları ekstraktının (15,625 ila 500 µg/mL) *S. aureus* için antimikrobiyal duyarlılığı agar jel difüzyon ile ölçüldüğü çalışmasında da 10-13 mm inhibisyon zonu belirlenmiştir. Mazimba ve ark. (5) *Cinnamomum verum*, gövde kabuğu metanol ekstraktlarının (100 µg/mL), *S. aureus*'a karşı MİZ değerini 11 mm, MİK değerini ise 2,5 µg/mL olarak belirlemişlerdir. Mazimba ve ark. (5) ile Mouas ve ark. (15)'nin çalışmasında belirlenen sonuçlar bizim çalışmamızla yakın olduğu görülmüştür. *Cinnamomum burmannii* ile hazırlanan Blume (tarçın çubuğu) metanol ekstraktın (w/v: 1/25) *S. aureus* için MİZ 15.7 ± 0.4 mm olarak belirlenmiş ve çalışma sonucumuz ile yakın olduğu görülmüştür. Hoque ve ark. (20), tarçının (*Cinnamomum cassia*), etanol (w/v: 100 gram/400 mL), sulu ekstrakt ve solvent-solvent ekstraksiyon metoduyla elde ettikleri esansiyel yağları dört farklı *S. aureus* suş üzerine antimikrobiyal etkinliğini agar disk difüzyon yöntemi ile belirlemişlerdir. Tarçın etanol ekstraktı (10,0 mg/mL) üç *S. aureus* suşu üzerine 10,0±0,45- 11,0±0,20 mm arasında inhibisyon zonu göstermiş ve 13.208 mm olan sonuç, bizim sonuçlarımız ile yakın bulunmuştur. Tarçın esansiyel yağı (%10) ise dört *S. aureus* suşuna 2,0±0,81 - 44,0±0,50 mm aralığında inhibisyon zonu göstermiştir. MİK değerleri üç farklı *S. aureus* üzerine 2,0-3,5 mg/mL aralığında belirlenmiş ve bu sonuç 2,75-3,41 mg/mL (ortalama 3,15 mg/mL) olan bizim sonuçlarımız ile yakın görülmüş ve suş farklılıklarının önemi ortaya konulmuştur. Tarçın esansiyel yağı dört farklı *S. aureus* suşu için MİK değeri %2,5 olarak belirlenmiştir.

Gupta ve ark. (12)'nin tarçın (*Cinnamomum zeylanicum*) ekstraktı (w/v: 1/5) (%50 etanol) ve yağının *S. aureus* karşı inhibisyon çapları sırasıyla 16 mm ve 20 mm olarak hesaplanmıştır. Tarçın etanol

ekstraktı MİZ sonucu bizim sonuçlarımıza yakın olduğu görülmüştür. Tarçın etanol ekstraktı MİK değeri 62,5 mg/mL olarak belirlenmiş; çalışmamızda belirlenen etanol ekstraktı sonucumuzun 2,75-3,41 mg/mL'in bu değerden oldukça düşük olduğu görülmüştür.

Bayoub ve ark. (24)'nin çalışmasında, tarçının (*Cinnamomum zeylanicum*) etanol (%90) ekstraktının (20 g/100 mL) *L. monocytogenes*'e karşı antimikrobiyal etkinliğini agar kuyu difüzyon ve mikrodilüsyonla belirlenmiştir. MİZ 22 mm, MİK değeri ise 0,4 mg/mL olarak saptanmıştır. MİZ değerinin çalışmamızdan yüksek; MİK değeri ise daha düşük bulunmuştur.

Gupta ve ark.'nın (12), tarçın (*Cinnamomum zeylanicum*) ekstraktının (w/v: 1/5) (%50 etanol) *L. monocytogenes*'e karşı inhibisyon çapını 10 mm olarak belirlenmiş ve çalışmamızın sonuçlarına yakın değer olduğu görülmüştür. 500 mg/mL hazırlanan tarçın ekstraktın MİK değerinin ise çalışmamızdaki değerden yüksek olduğu belirlenmiştir. *L. monocytogenes*, *C. cassia*'dan ekstrakte edilen bileşenler tarafından ve kullanılan maksimum konsantrasyonda (MİK:2640 mg/L) inhibe edildiği belirlenmiştir (25). MİK değeri bizimkinden oldukça yüksek olduğu görülmüştür.

Cinnamomum verum'un (tarçın) sulu ekstraktının (w/v: 40g/200 mL), *E. faecalis*'e karşı antimikrobiyal aktivitesi olduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır (9, 19). Çalışmamızda; sulu ekstraktlar için MİZ ve MİK değeri belirlenmemiştir. Adarsh ve ark. (9) tarafından, *Cinnamomum zeylanicum*'un metanol, etanol ve su ekstraktlarına (50 gram/200 mL çözücü) yönelik yapılan çalışma sonucunda; *E. faecalis*'e karşı inhibisyon zonları kloroform ekstrakt (ortalama 11 mm), metanol ekstrakt (ortalama 7 mm) ve sulu ekstrakt (ortalama 6 mm) şeklinde tespit edilmiştir. Çalışmamızda su ve kloroform ekstraktlarında inhibisyon zonu gözlenmemiş olup metanol ekstraktında bu çalışmadan daha büyük inhibisyon zonları ölçülmüştür. Yapılan bir çalışmada; *E. faecalis* ATCC 33186 suşunun metanol ekstraktlarına karşı en dayanıklı suş olarak belirlenmiştir. Gram negatif bakterilerin Gram pozitif bakterilere göre daha fazla

etkilendikleri tespit edilmiştir (21).

Bitkilere özgü antimikrobiyal etkili bileşiklerin miktarı tür, yetiştirildiği toprağın özellikleri, iklim, sulama gibi faktörlerden etkilenmesi, aynı zamanda bu bileşenlerin ekstraksiyonunda kullanılan farklı yöntemler, ekstraksiyonda kullanılan çözücünün niteliği gibi unsurlar da antimikrobiyal etkinin derecesi üzerinde belirleyici olmaktadır. Tüm bunlar farklı çalışmaların farklı antimikrobiyal etkinlik belirlemede açıklayıcı olabilir.

Farklı çalışmalar, bitkisel ekstrakt ve esansiyel yağların antimikrobiyal etkinliği açısından Gram pozitif bakterilerin Gram negatif bakterilerden daha duyarlı olduğunu açıklasa da çalışmamızdaki istatistiksel değerlendirmeye göre Gram negatif ile Gram pozitif bakterilerin MİZ çapları arasındaki fark anlamsız bulunmuştur ($p>0,05$). Shan ve ark. (11)'nin çalışması ile daha önceki birçok çalışmada (26-28), çoğu baharat ekstraktının Gram pozitif bakterilere karşı Gram negatif bakterilere göre daha aktif olduğunu göstermiştir. Bunun nedeni Gram negatif ve Gram pozitif bakterilerin dış katmanlarındaki önemli farklılıklardan olduğu şeklinde açıklanmıştır. Ancak bizim yaptığımız çalışmada böyle bir sonuca varılmamıştır. Ojagh ve ark. (29)'nın çalışmasında, Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler için farklı duyarlılıkta MİK sonuçları saptanmıştır. Kose (21), bu çalışmaların aksine bazı baharat tarçın (*Cinnamomum zeylanicum*), kimyon (*Cuminum cyminum L.*), kekik (*Thymus vulgaris L.*) ve nanenin (*Mentha spicata L.*) metanol ekstraktlarının *E. coli*, *E. faecalis*, *B. cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *S. Typhimurium*'a karşı agar difüzyon yöntemi ile *in vitro* antibakteriyel etkisini incelediği çalışmada; Gram negatif bakterilerin Gram pozitif bakterilerden daha fazla etkilendiğini belirlemiştir. Ayrıca bazı çalışmalarda, farklı bakteri suşlarından kaynaklanan duyarlılık farkı bildirilmiştir (17, 20, 30, 31).

Bitkiler, *in vitro* olarak antimikrobiyal özelliklere

sahip olduğu bilinen tanenler, terpenoidler, alkaloidler, flavonoidler, flavonlar ve flavonoller gibi metabolitler açısından zengindir. Mikroorganizmalara karşı aktif olan bitkilerden tanımlanan bileşenlerin neredeyse tamamı aromatik veya doymuş organik bileşikler olduğundan, bunlar çoğunlukla ilk etanol veya metanol ekstraksiyonu yoluyla elde edilir. Polisakaritler (örneğin nişasta) ve polipeptitler gibi istisnai suda çözünür bileşikler dışında, aslında, birçok çalışmada sulu fraksiyonlamadan çoğunlukla kaçınılmıştır (16). Tarçın biyoaktif bileşikler alkol, eter, kloroformda çözüldüğü ve suda az çözüldüğü bildirilmiştir. Aydın (32)'ın tarçın, kimyon ve sumak üzerinde yaptığı çalışmasında, toplam fenolik bileşik miktarlarının metanol ve etanol-su ekstraktlarında en yüksek, kloroform ekstraktlarında en düşük olduğu belirlenmiştir. Ekstraktlar arasındaki toplam fenolik bileşik miktarları sıralandığında ise kloroform < metanol < etanol-su ≤ su ekstraktları şeklinde sıralanmıştır. Tarçının iki ana aktif bileşeni olan sinamaldehit ve sinnamik asit ekstraksiyonunda etanol (40,1 ve 3,4 mg/g), ardından metanol (38,6 ve 3,21 mg/g), kloroform (35,7 ve 3,3 mg/g) ve su (15,2 ve 1,7 mg/g) en yüksek verimini göstermiştir (10). Bu çalışmanın sonucu bizim çalışmamızın sonuçları ile uyumludur. Çalışmamızda da en düşük antimikrobiyal etkinlik sulu ekstrakt ve ardından kloroform ekstraktında belirlenmiştir.

Tarçın ekstraktlarının antimikrobiyal etkinliği yönünden yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar tespit edilmiştir. Bitkisel antimikrobiyallerin etkinliğinin belirlenmesinde, antibiyotiklerde olduğu gibi standardize yöntemlere ihtiyaç duyulduğu görülmektedir. Sonuçlar, doğru ve güvenilir MİK ve MİZ değerlerine ihtiyaç duyulduğunu açıkça vurgulamaktadır. Ayrıca bitkisel antimikrobiyallerin varlığı düşünülerek gıda takviyelerinin dozajlarının ve vücuttaki etkilerinin belirlenmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmaya, Bilimsel Araştırma Projeleri komisyonu tarafından, 2019/8 numaralı proje kapsamında mali destek veren İstanbul Aydın Üniversitesi'ne teşekkür ederiz

ETİK KURUL ONAYI

* Bu çalışma, Etik Kurulu onayı gerektirmemektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Hajimonfarednejad M, Ostovar M, Raei MJ, Hashempour MH, Mayer JG, Heydari M. Cinnamon: a systematic review of adverse events. *Clin Nutr*, 2019; 38(2): 594-602.
2. Ekin A, Karaalp C, Kaner G. Kadınlarda zayıflama amacıyla bitkisel ürün kullanım sıklığının ve bitkisel ürün kullanımını etkileyen faktörlerin belirlenmesi. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 2019; 77(2), 167-78.
3. Valdivieso-Ugarte M, Gomez-Llorente C, Plaza-Díaz J, Gil A. Antimicrobial, antioxidant, and immunomodulatory properties of essential oils: A systematic review. *Nutrients*, 2019; 11(11): 2786.
4. Teneva D, Denkova Z, Denkova-Kostova R, Goranov B, Kostov G, Slavchev A, et al. Biological preservation of mayonnaise with *Lactobacillus plantarum* LBRZ12, dill, and basil essential oils. *Food Chem*, 2021; 344: 128707.
5. Mazimba O, Wale K, Tebogo E, Kwape Shetonde O. *Cinnamomum verum*: ethylacetate and methanol extracts antioxidant and antimicrobial activity. *J Med Plants Studies*, 2015; 3(3): 28-32.
6. Marongiu B, Piras A, Porcedda S, Tuveri E, Sanjust E, Meli M et al. Supercritical CO₂ extract of *Cinnamomum zeylanicum*: Chemical characterization and antityrosinase activity. *J Agric Food Chem*, 2007; 55(24): 10022-7.

7. Singh G, Maurya S, de Lampasona MP, Catalan CAN. Comparison of chemical, antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. *Food Chem Toxicol*, 2007;45: 1650-61.
8. Jayawardena B, Smith RM. Superheated water extraction of essential oils from *Cinnamomum zeylanicum*. *Phytochem Anal*, 2010; 21: 470-2.
9. Adarsh A, Chettiyar B, Kanthesh BM, Raghu N. Phytochemical screening and antimicrobial activity of "Cinnamon zeylanicum". *Int J Pharm Res Innov*, 2020; 13: 22-33.
10. Gilani S, Najafpour G. Evaluation of the extraction process parameters on bioactive compounds of cinnamon bark: A comparative study. *Process Biochem*, 2022; 114: 93-101.
11. Shan B, Cai YZ, Brooks JD, Corke H. Antibacterial properties and major bioactive components of cinnamon stick (*Cinnamomum burmannii*): activity against foodborne pathogenic bacteria. *J Agric Food Chem*, 2007; 55(14): 5484-90.
12. Gupta C, Garg AP, Uniyal RC, Kumari A. Comparative analysis of the antimicrobial activity of cinnamon oil and cinnamon extract on some food-borne microbes. *Afr J Microbiol Res*, 2008; 2(9): 247-51.
13. Boligon AA, de Brum TF, Zadra M, Piana M, dos Santos Alves CF, Fausto V, et al. Antimicrobial activity of *Scutia buxifolia* against the honeybee pathogen *Paenibacillus larvae*. *J Invertebr Pathol*, 2013;112(2): 105-7.
14. İsmail MM, Essam TM, Mohamed AF, Mourad FE. Screening for the antimicrobial activities of alcoholic and aqueous extracts of some common spices in Egypt. *Int J Microbiol Res*, 2012; 3(3), 200-7.
15. Mouas T, Benalileche Y, Benalileche M. Biological assessment of *Cinnamomum zeylanicum* percolate. 1st International Electronic Conference on Biological Diversity, Ecology and Evolution. March, 15- 31, Basel, Switzerland, 2021.
16. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev*, 1999; 12: 564-82.
17. Naveed R, Hussain I, Tawab A, Tariq M, Rahman M, Hameed S, et al. Antimicrobial activity of the bioactive components of essential oils from Pakistani spices against *Salmonella* and other multi-drug resistant bacteria. *BMC Complement Altern Med*, 2013; 13(1): 1-10.
18. Moon TM. Determination of antibacterial activity of cinnamon and black cumin extracts, along with MIC/MBC against bacterial isolates and analysis of their phytochemical properties. Doctoral dissertation, BRAC University, 2018.
19. Rakshit M, Ramalingam C. In-vitro antibacterial and antioxidant activity of *Cinnamomum verum* (Cinnamon) aqueous bark extract in reference to its total phenol content as natural preservative to food. *Int J Biol Biotech*, 2011; 8(4): 529-37.
20. Hoque MM, Inatsu M, Juneja V, Kawamoto S. Antimicrobial activity of cloves and cinnamon extracts against food borne pathogens and spoilage bacteria and inactivation of *Listeria monocytogenes* in ground chicken meat with their essential oils. *Rep Nat Food Res Inst*, 2008; 72: 9-21.
21. Kose S. Determination of antimicrobial and antioxidant activity of some spices widely consumed in Turkey. *FBED*, 2020; 10(4): 2574-82.
22. Bonilla J, Sobral PJDA. Antioxidant and antimicrobial properties of ethanolic extracts of guarana, boldo, rosemary and cinnamon. *Braz J Food Technol*, 2017; 20: e2016024.
23. Albaridi NA, Yehia HM. The real role of select herb and spice extracts against *Bacillus cereus* ATCC 14579 growth in cooked rice. *Food Sci Technol (Campinas)*, 2022; 42: e08521.
24. Bayoub K, Baibai T, Mountassif D, Retmane A, Soukri A. Antibacterial activities of the crude ethanol extracts of medicinal plants against *Listeria monocytogenes* and some other pathogenic strains. *Afr J Biotechnol*, 2010; 9(27): 4251-8.
25. Alzoreky NS, Nakahara K. Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *Int J Food Microbiol*, 2003; 80(3): 223-30.

26. Smith-Palmer A, Stewart J, Fyfe L. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Lett Appl Microbiol*, 1998; 26(2): 118-22.
27. Lopez P, Sanchez C, Batlle R, Nerin C. Solid- and vapor-phase antimicrobial activities of six essential oils: susceptibility of selected foodborne bacterial and fungal strains. *J Agric Food Chem*, 2005; 53(17), 6939-46.
28. Shan B, Cai YZ, Sun M, Corke H. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *J Agric Food Chem*, 2005; 53: 7749-59.
29. Ojagh SM, Rezaei M, Razavi SH, Hosseini SMH. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Food Chem*, 2010; 122(1): 161-6.
30. Valdivieso-Ugarte M, Plaza-Diaz J, Gomez-Llorente C, Gómez EL, Sabés-Alsina M, Gil Á. In vitro examination of antibacterial and immunomodulatory activities of cinnamon, white thyme, and clove essential oils. *J Funct Foods*, 2021; 81: 104436.
31. 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(5), 1202-5.
32. Aydın, Ö. Tarçın, kimyon ve sumak adlı baharat türlerinden elde edilen su, etanol-su, metanol ve kloroform ekstraktlarının in vitro antioksidant özelliklerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2011.