

## Ticari Olarak Satın Alınan Nar Suyunun Antibakteriyal ve Bazı Antibiyotiklerle Sinerjistik Etkisi\*

Merve ARI<sup>1</sup>, Nurcan ERBİL<sup>2</sup>

**ÖZET:** Nar suyu günlük hayatımızda tükettiğimiz bir meyve suyu olup, narın sağlık açısından oldukça faydalı olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada ticari olarak satın alınarak tüketilen nar sularının farklı Gram (+) ve Gram (-) bakteriler üzerinde oluşturduğu antibakteriyel aktivitenin ve antibiyotiklerle beraber kullanıldığında oluşabilecek sinerjistik etkinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla ticari olarak satın alınan “meySu” markalı nar suyu kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar neticesinde tek başına Ampisilin’in 7.64-9.23 mm; Gentamisin’in 22.26-22.98 mm; nar suyunun ise 19.07-20.14 mm arasında zon çapı meydana getirdiği görülmüştür. Bakıldığında tek başına nar suyunun Ampisilin’den daha yüksek oranda antibakteriyal aktivite sergilediği görülmektedir. Nar suyu ve Ampicillin beraber uygulandığında 20.11-21.14 mm arasında, nar suyu ve Gentamisin birlikte uygulandığında ise 26.36-28.94 mm arasında zon çapı oluşturduğu görülmektedir. Bu sonuçlar nar suyunun Gentamisin ile daha fazla olmak üzere her iki antibiyotik ile sinerjistik etki gösterdiğini ortaya koymaktadır. Çalışma sonucunda elde edilen veriler, nar suyunun test bakterilerine karşı oldukça iyi düzeyde antibakteriyal aktivite sergilediğini göstermektedir. Ayrıca; nar suyunun test edilen antibiyotiklerle beraber kullanıldığında sinerjistik etki yaratması da ayrıca bir öneme sahiptir.

**Anahtar Kelimeler:** Antibakteriyal etki, bakteri, nar suyu, sinerjistik etki.

## Antibacterial Effect of Purchased Pomegranate Juice and Its Synergistic Effect With Some Antibiotics

**ABSTRACT:** Pomegranate juice is a fruit juice that we consume in our daily life, and it is known that the pomegranate is very useful for health. In this study, it was aimed to determine the antibacterial activity of pomegranate juice which is commercially purchased and consumed against different Gr (+) and Gr (-) bacteria and its potential synergistic effect when it is used together with antibiotics. For this purpose, pomegranate juice branded “meySu”, which was purchased commercially, was used. According to results, Ampicillin, Gentamicin and pomegranate juice exhibited different antibacterial effects against test bacteria (7.64-9.23, 22.26-22.98 and 19.07-20.14 mm, respectively). It was observed that pomegranate juice had the higher antibacterial effect than Ampicillin. When pomegranate juice and Ampicillin were applied together, it was seen that they formed the zone diameter between 20.11-21.14 mm. When pomegranate juice and Gentamicin were applied together, they exhibited the inhibition zones between 26.36-28.94 mm. These results showed that pomegranate juice exhibited the synergistic effect with both of the standard antibiotics. The results of this study demonstrated that pomegranate juice exhibited the high antibacterial activity against test bacteria used in this study. In addition, it is also important that pomegranate juice showed a synergistic effect when used with antibiotics tested in this study.

**Keywords:** Antimicrobial effect, bacteria, pomegranate juice, synergistic effect.

<sup>1</sup> Merve ARI (0000-0003-2003-4817), Ardahan Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ardahan, Türkiye

<sup>2</sup> Nurcan ERBİL (0000-0001-9553-2306), Ardahan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri YO, Hemşirelik Bölümü, Ardahan, Türkiye

<sup>3</sup> Sorumlu yazar/Corresponding Author: Nurcan ERBİL, nurcanerbil@ardahan.edu.tr

\* Bu Makale 7 Mayıs 2017 tarihinde Ankara’da düzenlenen 1.Gıda ve Tıp Öğrencileri Kongresinde sözlü sunum olarak sunulmuştur.

## GİRİŞ

Anavatani olan Kapadokya ve Ortadoğu’da binlerce yıldır üretimi yapılan ve günlük yaşam içerisinde bolca tüketilen nar (*Punica granatum* L.), en eski meyve türlerinden biridir. Tropik ve subtropik iklim meyvesi olarak bilinmekle birlikte, sıcak ve ılıman iklim bölgelerinde de sınırlı bir şekilde yetiştirilebilmektedir. Ayrıca; dünyada ve Türkiye’de üretimi ve tüketimi her geçen gün artmaktadır (Zarei et al., 2011).

Narın (*Punica granatum* L.) tıbbi bir bitki olarak önemi, günümüzde modern bilim tarafından elde edilen verilerle desteklenmektedir (Langley, 2000). Yapılan bilimsel çalışmalar göstermektedir ki nar suyu, serbest radikal ve reaktif oksijen türlerini (ROS) süpürücü etki ile ilişkili olan yüksek oranda bir toplam fenolik içeriğe (TFİ) sahiptir (Seeram et al., 2006). TFİ’nin antioksidatif etkisi kardiyovasküler hastalıklar, kanser gelişimi, nörodejenerasyon ve hatta deri bozulması gibi strese bağlı kronik hastalıklar ve yaşa bağlı hastalıkların azaltılması ile ilişkilidir (Quideau et al., 2011). Yani, nar suyu içerisinde bulunan fenolik bileşikler kuvvetli bir antioksidan aktivite sergilemektedir (Aviram et al., 2008). Nar suyu ile alakalı yapılan çalışmalar göstermektedir ki nar suyu antiproliferatif (Seeram et al., 2005), antimikrobiyal (Jayaprakasha et al., 2006), antiaterosklerotik (Aviram and Rosenblat, 2012), antiviral (Neurath et al., 2005), antifungal aktiviteler (Glazer et al., 2012) ve diğer sağlık destekleyici etkiler sergilemektedir.

Günümüz toplumlarında yoğun iş temposu, kolay erişilebilirlik ve pratik olmasından dolayı hazır gıda ve içeceklerin tüketimi her geçen gün artmakta olup, bu ürünler arasında hazır meyve suları ve nektarları da yer almaktadır. Hazır olarak tüketime sunulan nar suları da günümüzde sıklıkla tüketilmekte ve bu konu ile alakalı literatürde yeteri kadar bilimsel veri bulunmamaktadır. Tarafımızca yapılan bu çalışmada ise sosyal hayat içerisinde sıklıkla tüketilen ve ticari olarak satın alınan nar suyunun, bir çoğu patojen olan test bakterilerine karşı hangi oranda antibakteriyal etkiye sahip olduğunun tespiti amaçlanmıştır. Ayrıca; hastalıkların tedavisi amacıyla antibiyotik kullanımı esnasında ticari nar suyu tüketiminin de antibiyotiğin etki mekanizmasını ne derecede etkilediğinin belirlenmesi amacıyla sinerjistik etkinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmadan elde edilen verilerin ise literatüre katkı sağlayacağı ve sonrasında yapılacak çalışmalar için temel oluşturacağı düşünülmektedir.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Nar Suyunun Temini

Bu çalışmada ticari olarak satın alınan “meySu” marka nar suyu konsantresi kullanılmıştır (Meyve suyu miktarı: % 100, Üretim tarihi: 31.10.2016, PNO: 009-1542, Üretim yeri: Kayseri/Türkiye).

### Mikroorganizmalar

Bu çalışmada test bakterisi olarak *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus megaterium* DSM 32, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 ve *Klebsiella pneumoniae* kullanılmış olup, bakteriler Ardahan Üniversitesi Prof. Dr. Abamüslüm Güven Merkezi Araştırma ve Uygulama Laboratuvarı bünyesindeki Mikrobiyoloji Laboratuvarı bakteri koleksiyonundan temin edilmiştir.

### Nar Suyunun Antibakteriyal Aktivitesinin Belirlenmesi

Nar suyunun antibakteriyal aktivitesi agar kuyu difüzyon metoduna göre belirlenmiştir (Özçelik, 1992). Önceki günden Nutrient Broth içerisinde aktifleştirilen bakteri örneklerinin her birinden ( $10^6$ - $10^7$  cfu/ml) 100 µl alınarak, 18 ml Mueller Hinton Agar içerisine aşılanmış ve homojen bir şekilde karıştırıldıktan sonra Petri kapları içerisine dökülmüştür. Tamamen donduğundan emin olunan besiyerlerine steril Cork borer (mantar delici) yardımı ile aseptik koşullarda 11 mm çapında oyuklar açılmış ve mikrofiltre (0.22 µm) ile steril edilmiş olan nar suyundan 200 µl eklenmiştir. Petri kapları 37 °C’de 48 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Çalışmalar üç tekrar halinde yapılmış olup, zon çapları mm olarak dijital kumpas ile ölçülmüştür.

### Standart Antibiyotiklerin Antibakteriyal Aktivitesinin Belirlenmesi

Standart antibiyotik olarak, çeşitli hastalıkların tedavisinde reçete edilen antibiyotiklerden olan Ampisilin (10 µg/disk) ve Gentamisin (10 µg/disk) diskleri kullanılmış olup, bu antibiyotiklerin antimikrobiyal aktivitesi test bakterilerine karşı disk difüzyon tekniği ile belirlenmiştir (Collins et al., 1989; Özçelik, 1992). Önceki günden Nutrient Broth içerisinde aktifleştirilen bakteri örneklerinin her birinden 100 µl alınarak, 18 ml Mueller Hinton Agar içerisine aşılanmış ve homojen bir şekilde karıştırıldıktan sonra Petri kapları içerisine dökülmüştür. Donduğundan emin olunan

besiyerlerinin üzerine belirli aralıklarla antibiyotik diskleri yerleştirilmiştir. Petri kapları 37 °C’de 48 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Çalışmalar üç tekrar halinde yapılmış olup, zon çapları mm olarak dijital kumpas ile ölçülmüştür.

### Sinerjistik Etkinin Belirlenmesi

Sinerjistik etkinin tespiti amacı ile nar suyu ve antibiyotik test bakterilerine karşı beraber uygulanmıştır. Bu amaçla agar üzerine açılan oyukların her birine 200 µl steril nar suyu eklenmiştir. Daha sonra, Ampisilin ve Gentamisin antibiyotiklerinin her biri stok konsantrasyonu 1 mg/ml olacak şekilde distile saf su içerisinde çözdürülmüş ve stok çözeltilerin her birinden ayrı ayrı 10 µl alınarak oyukların içerisine eklenen nar sularına ilave edilmiştir. Uygulama sonrasında Petri kapları 37 °C’de 48 saat süre ile

inkübasyona bırakılmıştır. Çalışmalar üç tekrar halinde yapılmış olup, zon çapları mm olarak dijital kumpas ile ölçülmüştür.

### İstatistiksel Analizler

Üç tekrar halinde yapılan çalışmalardan elde edilen verilerin ortalama değerleri ve standart sapmaları SPSS 16.0 paket programı kullanılarak hesaplanmıştır.

### BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışma kapsamında piyasadan ticari olarak satın alınan “meySu” marka nar suyu kullanılmış olup, nar suyunun bazı test bakterileri üzerinde meydana getirdiği antibakteriyal aktivite ve Ampisilin ve Gentamisin ile beraber yarattığı sinerjistik etki araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 1’de sunulmuştur.

Çizelge 1. Nar suyunun antibakteriyal ve sinerjistik etkisi

Bakteri	Ampisilin	Gentamisin	Nar Suyu	Ampisilin + Nar Suyu	Gentamisin + Nar Suyu
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	7.64* ±1.22**	22.58 ±0.98	20.02 ±1.42	20.57 ±0.95	28.94 ±0.82
<i>Enterobacter aerogenes</i>	9.06 ±0.29	22.90 ±0.55	20.09 ±1.13	21.13 ±0.79	27.40 ±0.88
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9.23 ±0.62	22.38 ±0.81	19.93 ±0.82	20.60 ±0.30	26.55 ±0.72
<i>Bacillus subtilis</i>	8.95 ±1.15	22.50 ±0.44	19.07 ±0.75	20.64 ±0.35	26.36 ±0.25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	9.14 ±0.60	22.98 ±0.86	20.14 ±0.27	20.56 ±0.19	26.46 ±1.08
<i>Escherichia coli</i>	8.54 ±0.58	22.60 ±0.64	19.83 ±0.71	21.14 ±0.78	27.86 ±0.83
<i>Bacillus megaterium</i> DSM 32	8.33 ±0.24	22.26 ±0.83	19.45 ±0.39	20.11 ±0.66	28.61 ±0.34

\*İnhibisyon zonu çapı (mm), \*\*Standart sapma değerleri

Çizelge 1’de sunulan veriler incelendiğinde, nar suyunun ve çalışmada kullanılan antibiyotiklerin değişen oranlarda antibakteriyal etki sergilediği görülmektedir.

Nar suyunun test bakterileri üzerinde tek başına yarattığı etki incelendiğinde en yüksek antibakteriyal aktivitenin *P. aeruginosa* ATCC 9027’ya, bunu takiben ise sırasıyla *E. aerogenes* ve *S. aureus* ATCC 6538’ya karşı meydana getirildiği görülmektedir (sırasıyla 20.14, 20.09 ve 20.02 mm). Nar suyunun en

düşük antibakteriyal aktiviteyi ise *B. subtilis*’e karşı 19.07 mm zon çapı ile gösterdiği tespit edilmiştir.

Çalışmalar esnasında kullanılan antibiyotiklerden Gentamisinin, Ampisiline göre test bakterilerine karşı daha yüksek oranda antibakteriyal etki gösterdiği Tablo 1’de görülmektedir. Ampisilin 7.74-9.23 mm arasında inhibisyon zonu oluştururken, Gentamisinin 22.26-22.98 mm arasında zon çapı meydana getirdiği tespit edilmiştir.

Nar suyu ve antibiyotiklerin tek başlarına meydana getirdikleri etkiler test edilmekle birlikte, beraber uygulandıklarında nasıl bir etki yaratacakları da çalışmalar esnasında test edilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde görülmüştür ki Gentamisin nar suyu ile beraber kullanımında daha yüksek olmakla birlikte, her iki antibiyotik de nar suyuyla beraber kullanımı sinerjistik etki yaratmıştır.

Değerler incelendiğinde en yüksek sinerjistik etkiyi Gentamisin ve nar suyunun birlikte *S. aureus* ATCC 6538'a karşı oluşturduğu belirlenmiştir. *S. aureus* ATCC 6538'a karşı Gentamisin tek başına 22.58 mm inhibisyon zonu oluştururken, nar suyu ile birlikte uygulandığında bu değer 28.94 mm'ye çıkmış olup; bu sinerjik etki sayesinde 6.36 mm'lik bir zon çapı artışı meydana gelmiştir. Bunu takiben ise en yüksek sinerjistik etkinin sırasıyla *B. megaterium* DSM 32 ve *E. coli*'ye karşı oluşturulduğu görülmektedir. Ampisilin ve nar suyunun birlikteliği sonucunda meydana gelen sinerjistik etkinin daha düşük düzeyde olduğu görülmektedir. Ampisilin nar suyu ile birlikte kullanımı sonucu oluşan en yüksek sinerjistik etkinin ise *E. coli*'ye karşı oluşturulduğu tespit edilmiştir.

Narın kabuğundan elde edilen ekstraktlar ile yapılan çalışmalara literatürde daha sıklıkla rastlanırken, nar suyunun antimikrobiyal aktivitesi ve sinerjistik etkisiyle alakalı az sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Hama et al. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada nar suyunun antimikrobiyal aktivitesi *S. aureus*, *E. coli* ve *P. aeruginosa*'ya karşı test edilmiş ve sırasıyla 11, 8.5 ve 10.5 mm çapında inhibisyon zonu elde edilmiştir. Bu bakteriler bizim çalışmamızda da test bakterisi olarak kullanılmış olup, bizim çalışmamızda yaklaşık iki katı zon çapları elde edilmiştir. Bazı durumlarda çalışmalardan elde edilen veriler arasında uyumsuzluklar olabilmektedir. Bu durum, test maddesi olarak kullanılan numunenin yetiştiği coğrafik koşulların, kullanılan test mikroorganizmalarının suşlarının, kullanılan ekstrakt miktarının veya yöntemin farklı olması gibi nedenlerden kaynaklanabilmektedir.

Konu ile alakalı yapılan bir çalışmada *P. granatum* L. (Punicaceae) "Nar", *Citrus paradisi* Mc. Fad. (Rutaceae) "Greyfurt", *Cydonia oblonga* Miller (Rosaceae) "Ayva", *Musa sapientum* L. (Musaceae) "Muz" meyve suları ile kabuk ekstraktlarının antibakterial ve antifungal

aktiviteleri araştırılmıştır. Çalışmada *P. granatum* aseton, etil alkol ve sulu ekstraktlarının test edilen mikroorganizmalar üzerinde 12-34 mm inhibisyon zonu ile en etkili olduğu tespit edilmiştir. Diğer bitki ekstraktlarının da değişen oranlarda antimikrobiyal etkilerinin olduğu belirlenmiştir (Dağcı ve Dığrak, 2005). Orak ve ark. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada ise nar kabuğundan elde edilen ekstraktın antibakteriyal ve antifungal aktivitesi araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar neticesinde ekstraktların tüm test mikroorganizmalarına karşı antibakteriyel ve antifungal aktivite sergilediği tespit etmişlerdir. Elmanama et al. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada ise nar kabuğundan elde edilen metanol ekstraktının antibakteriyal ve sinerjistik etkisi çalışılmış ve elde edilen sonuçlar neticesinde *S. aureus*'a karşı güçlü antimikrobiyal aktivite sergilediği belirlenmiştir. Ayrıca bu ekstraktın Siprofloksasin ve Eritromisin ile sinerjistik etkisi test edilmiş ve *S. aureus* ve *P. aeruginosa* üzerinde sinerjistik etki yarattığı gözlenmiştir.

## SONUÇ

Genel olarak bakılacak olursa kullanılan standart antibiyotikler içerisinde Ampisilin test bakterilerine karşı pek etkili olamadığı görülmekle birlikte, nar suyunun aynı test bakterileri üzerinde yarattığı antibakteriyal etkinin Ampisiline oranla çok daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Gentamisin ise neredeyse nar suyuyla eşdeğer antibakteriyal etki sergilediği belirlenmiştir. Bu veriler, sağlıklı bir meyve olarak bilinen nar ve bundan elde edilen nar suyunun mikroorganizmalara karşı da oldukça etkili olduğunu ortaya koymaktadır. Elde edilen bu verilerin antibiyotik dirençliliğinin global bir sorun haline geldiği günümüz dünyasında antibiyotik dirençliliğinin önlenmesi açısından bir alternatif oluşturabileceği düşünülmekte olup, farmakoloji bilimi için de faydalı olacağı kanısına varılmıştır.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma TÜBİTAK 2209-A Üniversite Öğrencileri Araştırma Projeleri Destekleme Programı kapsamında desteklenmiş olup, 1. Gıda ve Tıp Öğrencileri Kongresi'nde sözlü sunum olarak sunulmuştur.

**KAYNAKLAR**

- Aviram M, Rosenblat M, 2012. Pomegranate protection against cardiovascular diseases. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, doi:10.1155/2012/382763.
- Aviram M, Volkova N, Coleman R, Dreher M, Reddy MK., Ferreira D, Rosenblat M, 2008. Pomegranate phenolics from the peels, arils, and flowers are antiatherogenic: studies in vivo in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient (E-o) mice and in vitro in cultured macrophages and upoproteins. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56: 1148–1157.
- Collins CH, Lyne PM, Grange JM, 1989. Microbiological Methods. London, 410s.
- Dağcı EK, Dığrak M, 2005. Bazı Meyve Ekstraktlarının antibakteriyal ve antifungal aktiviteleri. KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi, 8(2): 1-7.
- Elmanama AA, Alyazji AA, Abu NA, 2011. Antibacterial, antifungal and synergistic effect of *Lawsonia inermis*, *Punica granatum* and *Hibiscus sabdariffa*. Annals of Alquds Medicine, 7: 33-41.
- Glazer I, Masaphy S, Marciano P, Bar-Ilan I, Holland D, Kerem Z, Amir R, 2012. Partial identification of bioactive compounds having antifungal activities from *Punica granatum* peel extracts. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 60(19): 4841–4848.
- Hama AA, Taha Y, Qadir SA, 2014. The antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum*) juice. International Journal of Scientific & Engineering Research, 5(10): 796-798.
- Jayaprakasha G, Jena B, Negi P, 2006. Antimicrobial activities of pomegranate. Seeram NP, Schulman RN, Heber D (Ed.). Pomegranates: Ancient Roots to Modern Medicine. CRC Press, 167–183 p.
- Langley P, 2000. Why a pomegranate. British Medical Journal, 321: 1153–1154.
- Neurath AR, Strick N, Li YY, Debnath AK, 2005. *Punica granatum* (pomegranate) juice provides an HIV-1 entry inhibitor and candidate topical microbicide. Annals of The New York Academy of Sciences, 1056: 311–327.
- Orak HH, Demirci AŞ, Gümüş T, 2011. Antibacterial and antifungal activity of pomegranate (*Punica granatum* L. CV.) peel. Electronic Journal of Environmental Agricultural and Food Chemistry, 10(3): 1958-1969.
- Özçelik S, 1992. Gıda Mikrobiyolojisi Laboratuar Kılavuzu. F.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Yayınları, Yayın No: 1, Elazığ, 135s.
- Quideau S, Deffieux D, Douat-Casassus C, Pouysegue L, 2011. Plant polyphenols: chemical properties biological activities, and synthesis. Angewandte Chemie International Edition in English, 50: 586–621
- Seeram NP, Adams LS, Henning SM, Niu Y, Zhang Y, Nair MG, Heber D, 2005. In vitro antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of punicalagin, ellagic acid and a total pomegranate tannin extract are enhanced in combination with other polyphenols as found in pomegranate juice. The Journal of Nutritional Biochemistry, 16: 360–367.
- Seeram NP, Zhang Y, Reed JD, Krueger CG, Vaya J, 2006. Pomegranate phytochemicals. Seeram NP, Schulman RN, Heber D (Ed.). Pomegranates Ancient Roots to Modern Medicine. CRC Press, 3–29 p.
- Zarei M, Azizi M, Zeinolabedin BS, 2011. Evaluation of Physicochemical Characteristics of Pomegranate (*Punica granatum* L.) Fruit during Ripening. Fruits, 66: 121-129.