



Antimicrobial Effect of Red Beet (*Beta vulgaris* var. *Cruenta Alef.*) On Some Foodborne Pathogens[#]

Oktay Tomar^{1,a,*}, Gamze Yıldırım^{1,b}

¹Food Engineering Department, Engineering Faculty, Afyon Kocatepe University, 03200 Afyonkarahisar, Turkey

*Corresponding author

ARTICLE INFO

[#]This study was presented as an oral presentation at the 4th International Anatolian Agriculture, Food, Environment and Biology Congress (Afyonkarahisar, TARGID 2019)

Research Article

Received : 22/05/2019

Accepted : 18/09/2019

Keywords:

Disc-diffusion
Extract
Food Pathogen,
Red beet
MIC

ABSTRACT

Red beet (*Beta vulgaris* var. *Cruenta Alef.*) it is a flowering plant belonging to the family of *Amaranthaceae* and is cultivated in the regions extending from the west of Europe to all the Mediterranean coasts In Turkey; especially in the Aegean and Marmara regions. In the World, it is used in the production of milk and milk products, fruit juices, sauces, soups, confectionery, jelly, tomato paste, breakfast products, sausages and sausage products. In Turkey, in addition to these, it is widely used, in producing the turnip juice and pickles. There beet is particularly rich in minerals such as sodium, potassium, magnesium, calcium and phosphorus and also contains iron and selenium. Further; rich in antioxidant phenolic substances, betalain and flavonoid. In this study; antibacterial effect of extracts obtained from red beet outer shell and flesh inner part by using different solvents (ethanol, methanol and distilled water) on some food pathogens were determined by disc diffusion method. As a result of the research; the most antimicrobial effect was observed in the water extract obtained from the shell portion of red beet against *Listeria monocytogenes* with a 17 mm dilution diameter. This value was determined to be followed by methanol extract obtained from the interior of the red beet against *Pseudomonas aeruginosa* with a 16 mm dilution diameter. The lowest MIC and MBC values were on the *Enterobacter aerogenes* of beet peel methanol extract with values of 23.44 and 31.25 µg / mL, respectively. All results were compared with the reference values of Eucast and CLSI laboratories and resistance and sensitivity were determined.

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi 7(sp1): 54-60, 2019

Kırmızı Pancarın (*Beta vulgaris* var. *Cruenta Alef.*) Bazı Gıda Kaynaklı Patojenler Üzerindeki Antimikrobiyal Etkisi

MAKALE BİLGİSİ

Araştırma Makalesi

Geliş : 22/05/2019

Kabul : 18/09/2019

Anahtar Kelimeler:

Disk-difüzyon
Ekstrakt
Gıda patojeni
Kırmızı pancar
MIC

ÖZ

Kırmızı pancar (*Beta vulgaris* var. *Cruenta Alef.*) *Amaranthaceae* familyasına ait çiçekli bir bitki olup Avrupa'nın batısından tüm Akdeniz kıyılarına kadar uzanan bölgelerde tarımı yapılmaktadır. Türkiye'de ise; özellikle Ege ve Marmara bölgelerinde üretilmektedir. Dünyada süt ve süt ürünlerinin, meyve sularının, sos, çorba, şekerleme, jöle, salça, kahvaltılık ürünlerin, sucuk, sosis gibi ürünlerin üretimlerinde kullanım alanına sahiptir. Türkiye'de ise bunlara ek olarak şalgam suyu ve turşu üretiminde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Kırmızı pancar özellikle, sodyum, potasyum, magnezyum, kalsiyum ve fosfor gibi mineraller açısından zengin olup ayrıca demir ve selenyumda içermektedir. Ayrıca; antioksidan etki gösteren fenolik maddelerden, betalain ve flavonoid açısından da son derece zengindir. Bu çalışmada; kırmızı pancarın dış kabuğundan ve etli iç kısmından farklı çözücüler (etanol, metanol ve distile su) kullanılarak elde edilen ekstraktların bazı gıda patojenleri üzerindeki antibakteriyel etkisi disk difüzyon metodu ile belirlenmiştir. Araştırma sonucunda; en fazla antimikrobiyal etki 17 mm dilüsyon çapı ile *Listeria monocytogenes*'a karşı kırmızı pancarın kabuk kısmından elde edilen su ekstraktında gözlemlenmiştir. Bu değeri, 16 mm dilüsyon çapı ile *Pseudomonas aeruginosa*'a karşı yine kırmızı pancarın iç kısmından elde edilen metanol ekstraktı izlemektedir. En düşük MIC ve MBC değerleri sırasıyla 23,44 ve 31,25 µg / mL değerleriyle pancar kabuğu metanol ekstraktı *Enterobacter aerogenes* üzerinde olmuştur. Elde edilen tüm sonuçlar, Eucast (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) ve CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) laboratuvarlarının referans değerleri ile test edilen patojen mikroorganizmaların ekstraktlara karşı dirençlilik ve duyarlılık dereceleri belirlenmiştir.

^a oktomar@aku.edu.tr

^b <https://orcid.org/0000-0002-5055-2722> | gamzey100@gmail.com

^c <https://orcid.org/0000-0002-7260-7130>



Giriş

Antik çağlardan beri tüm iklim koşullarında yetiştirilebilen kırmızı pancar (*Beta vulgaris var. Cruenta Alef.*) *Amaranthaceae* familyasına ait çiçekli bir bitkidir. Dünya da Amerika, Avrupa ve Hindistan da yaygın bir şekilde yetiştirilirken; Türkiye de ise, en çok Ege ve Marmara bölgesinde, kısmen de Akdeniz bölgesinde üretilmektedir (Eşiyok ve Bozokalfa, 2007)

Kırmızı pancar formları, gıda, kozmetik, dekoratif sanat ve resimlerde doğal bir renklendirici olarak kullanılmaktadır (Dörnenburg ve Knorr, 1996). Kırmızı pancara doğal rengini; betalain, betasiyanin (kırmızı-menekşe) ve betaksantin (sarı) pigmentleri vermektedir. Betasiyanin esas olarak kırmızı pancar köklerinde bulunur ve daha çok betanin olarak bilinmektedir (Nemzer ve ark., 2011). Ülkemizde gıdalarda renklendirici olarak kullanılan betanin (E162) gıda maddelerinde kullanılan renklendiricilerin saflık kriterleri tebliğine (No: 2002/27) göre kırmızı pancar köklerinin sulu ekstraksiyonu ile elde edildiği ve farklı pigmentlerden oluştuğu ifade edilmektedir (Tekin ve ark., 2018). Pancar kırmızısı (E162), dondurma, dondurulmuş tatlılar, yoğurt, peynir, soslar, toz içecekler, kurutulmuş meyve ve sebzeler, jöleler, sert şekerler, sakız, kahvaltılık tahıllar gibi gıdalara renk verici olarak kullanılmaktadır ve kullanımı ile ilgili herhangi bir üst sınır belirlenmemiştir (Anonim, 2015). Alternatif tıpta ise; kan, kalp, karaciğer, pankreas, sindirim sistemi, nörolojik ve diğer yaygın hastalıkların tedavisinde kırmızı pancardan yararlandığı bilinmektedir (Nottingham, 2004). Fenolik asit yönünden zengin ve antioksidan kapasitesi yüksek olan kırmızı pancarın tüketimiyle yaşlanmaya bağlı olarak ortaya çıkan hastalıklara karşı da korunma sağladığı yapılan araştırmalarla ortaya konulmuştur (Ravichandran ve ark., 2013).

Yüz gram kırmızı pancar ortalama 38 kcal olup yaklaşık 9,50 g karbonhidrat, 1,61 g protein, 0,17 g yağ, 78 mg sodyum, 325 mg potasyum, 23 mg magnezyum, 16 mg kalsiyum 40 mg fosfor, 0,50 mg çinko, 0,90 mg demir, 0,40 µg selenyum, 3 µg K vitamini, 4,90 mg C vitamini, 0,03 mg B1 vitamini ve 11,40 µg karotenoid içermektedir (Chawla ve ark., 2016).

Sağlığın korunması büyüme ve gelişme, yaşamın devamlılığı amacıyla çeşitli gıdaların tüketilmesine beslenme denilmektedir. Beslenme gereksiniminin sağlanması açısından güvenli ve sağlıklı gıda üretim ve tüketimi elzemdir. Günümüzde kadınların iş yaşamına atılması ve toplu gıda tüketimindeki artış, çevre kirliliği, yetersiz veya gereğince uygulanmayan mevzuatlar, gıdaların muhafaza süresinin arttırılması, nüfus artışı gibi nedenlerle gıda güvenliği tehlikeye düşmektedir. Çağımızda halk sağlığının korunabilmesi için başta Avrupa Birliği (AB) ülkeleri olmak üzere birçok ülkenin gıda kontrol otoriteleri çiftlikten çatala tüm aşamalarda gıda güvenliğinin sağlanmasına büyük önem vermektedir. Biyolojik açıdan gıda güvenliğini en çok tehdit eden mikroorganizmalar patojen bakterilerdir. Patojen bir mikroorganizma ya da onun ürettiği toksini içeren bir gıdanın tüketimi sonucu ortaya çıkan hastalıklara “Gıda Kaynaklı Mikrobiyal Hastalıklar” denmektedir (Özkaya, 2008).

Gıda kaynaklı hastalıkların oluşumunun engellenmesi amacıyla üretici firmalar ürünlerine pek çok katkı maddesi

ilave etmektedir. Dünyada son yıllarda oluşan eğilim doğal katkı maddeleri ile üretilen gıdaların tüketimi yönündedir.

Bu araştırmada; doğal gıda renklendiricilerinden biri olan kırmızı pancarın, farklı çözücüler kullanılarak elde edilen ekstraktlarının bazı önemli gıda kaynaklı patojenler üzerindeki antibakteriyel etkisi disk difüzyon metodu ile tespit edilecektir. İncelenen patojen bakterilerin gelişmesini önleyen (bakteriyostatik veya inhibitör etkilerini saptayan) minimum inhibisyon konsantrasyonunun (MIC) ve başlangıçtaki bakteri popülasyonunun %99,99 oranında azaltabilen minimum bakterisidal konsantrasyonunun (MBC) belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Ekstraksiyon Yöntemi

Araştırmada kullanılan kırmızı pancarlar, Afyonkarahisar ili halk pazarından temin edilmiştir. Ekstraksiyon öncesinde, kırmızı pancar örnekleri topraktan arındırmak için steril distile su (sd H₂O) ile iyice yıkanmıştır. Kabukları soyucu yardımı ile soyularak ayrılan pancarlar, daha sonra küçük parçalara ayrılmıştır. Ardından pancarlardan 100'er gramlık parçalar halinde tartılarak, üzerlerine ayrı ayrı 400'er mL %80'lik etil alkol, metanol ve distile su ilave edilmiş ve 24 saat boyunca shaker (WiseShake® SHO-2D) kullanılarak 120 rpm de karıştırılmıştır. Süre sonunda karışımlar sterilize 22 mm filtre kağıdından süzülüş ve ekstrakt karışımları rotary evaporatör yardımıyla (HeidolphHei-VAP value) 100 rpm'de çözeltinin yapısına uygun sıcaklıklarda çözücüler (etanol 60°C, metanol 60°C, distile su 90°C) uzaklaştırılarak konsantre edilmiştir (Valle ve ark. 2016, Čanadanović ve ark., 2011, Owoseni, ve Ajayi 2010). Örnekler etanol, metanol ve distile su ekstraktları ise 1000 µg/mL olacak şekilde çözülmüştür. Diğer konsantrasyonlar bu stok çözeltilerden seyreltilerek hazırlanmıştır (Alo ve ark., 2012, Oikeh ve ark., 2016).

Mikroorganizmalar

Çalışma, gıda kaynaklı patojenlerden *Esheria coli* (ATCC 25922), *Listeria monocytogenes* (ATCC 51774), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Enterococcus aerogenes* (ATCC 13048), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145), *Bacillus cereus* ATCC (14579) ve *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028) bakterileri kullanılmıştır.

Kültürlerin Hazırlanması

Araştırmada kullanılan bakteriler, Blood Agar Base (Merck, Almanya, 1.10886) besiyerinde üremiş bir gecelik kültürlerden, tek düşmüş kolonilerden steril bir öze yardımıyla ringer çözeltisine alınmış, çözeltinin bulanıklığı 0,50 McFarland standardına eşit olacak şekilde aktarılmıştır. Hazırlanan bu kültür solüsyonları analiz için kullanılmıştır (Bauer ve ark., 1959, Bauer ve ark., 1966).

Disk Difüzyon Testi

Rotary evaporatörde elde edilen ekstraktlardan 10'ar µL steril petri kutularına alınmış ve üzerine boş antibiyotik test diskleri (Bio-Disk 316010001, zon çapı: 6 mm)

yerleştirilmiştir. Disklerin ekstraktları tamamıyla emmesi için petri kutuları kapakları kapalı olarak 1 saat buzdolabında (4°C'de) bekletilmiştir.

Sonrasında kültürler oda sıcaklığındaki Muller Hinton Agara (Merck, Almanya, 1.05437) inokule edilmiştir. İnokulasyon işlemi; steril bir eküvyon çubuğu hazırlanan bakteri süspansiyonuna daldırılmış, içerisinde birkaç kez döndürülmüş, fazla besiyerinin uzaklaşması için tüp kenarına bastırıldıktan sonra, MHA yüzeyine üç yönde eşit olarak yayılmıştır. Daha sonra besiyerleri oda sıcaklığında 10 dk bekletilmiş, 10 µL pancar ekstraktları emdirilmiş diskler, besiyerlerinin yüzeyinde açılacak zonların birbirine değmeyeceği kadar uzaklıkta yerleştirilmiş (Cruz-Gálvez ve ark., 2018) ve petri kutuları Çizelge 1'de belirtilen koşullarda inkübasyona bırakılmıştır (Anonim, 2018). Bu işlem üç paralel olacak şekilde yapılmıştır. İnkübasyon sonrası, oluşan zon çapları, ışık altında dijital bir kumpas yardımıyla ölçülmüştür.

Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MIC) Değerinin Belirlenmesi

Bakteriyel suşlar, Mueller-Hinton broth (Merck, Almanya, 110293) içersine inoküle edilerek, 24 saat 37±0,1°C'de inkübe edilmiştir. Gelişen kültürlerden içerisinde ringer çözeltisi bulunan steril tüpler içersine, bulanıklık değeri 0,5 McFarland standardına ayarlanacaktır. Bir ekstraktın bir patojen mikroorganizmaya karşı aktivitesini belirlemek için biri (+; pozitif) kontrol tüpü olarak toplam 5 adet steril tüpten oluşan bir tüp seti hazırlanmıştır. İlk tüp hariç, geri kalan her tüpe 1'er mL Nutrient Broth (Merck, Almanya, 1,05443) ilave edilmiştir. Boş olan ilk tüpe pancar ekstraktından 2 mL ilave edilip sonra, 1 mL'si alınarak 2. tüpe aktarılmış ve vorteks (IKA, MS-3, Almanya) ile homojen bir karışım oluşturulmuştur. Bu işlem sırasıyla tüm tüplere uygulanmış ve 5. tüpten 1 mL ekstrakt-besiyeri

karışımı alınarak dışarı atılmıştır. Bu şekilde her tüpün hacmi eşit, konsantrasyonu ise bir önceki tüpün konsantrasyonunun yarısına eşit olacak şekilde ayarlanmıştır. Her ekstrakt için hazırlanan 5'er tüpten oluşan tüp seti sayısı patojen bakteri sayısı kadardır (7 tüp seti; toplam 35 tüp içer). Hazırlanan tüplerdeki ekstrakt konsantrasyonları sırasıyla 1000; 500; 250; 125; 62,50; 31,25 ve 15,63 µg / mL şeklinde olmuştur (El Mahmood, 2009, Čanadanović ve ark. 2011, Patra ve ark., 2015). Konsantrasyonu 0,5 McFarland bulanıklık değerine göre ayarlanmış patojen bakteri kültür solüsyonlarının her biri, her ekstrakt için bir tüp setindeki 5 tüpe de 5'er µL (10⁶-10⁷ KOB / mL) olacak şekilde aşılanmıştır. *Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacillus cereus* 30°C'de, diğer patojen mikroorganizmalar ile aşılanmış tüpler ise 37°C'de 16-20 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda bulanıklık, yüzeyde zar oluşumu ve/veya dipte çökelti oluşumu gözlenen tüpler bakteri gelişimi pozitif olarak değerlendirilmiştir. MIC değeri, mikrobiyal gelişmenin gözlemlendiği ilk tüpün konsantrasyonu ile, bir önceki (ekstrakt konsantrasyonu daha yüksek tüp) gelişme gözlenmeyen tüpün konsantrasyonlarının toplamının yarısı hesaplanarak belirlenmiştir (El Mahmood, 2009; Amer ve ark., 2015; Chikezie, 2017).

Minimum Bakterisit Konsantrasyonu (MBC) Değerinin Belirlenmesi

Gelişme, bulanıklık ve/veya tortu gözlenen ilk tüpten itibaren altındaki tüm konsantrasyonlardan, steril öze yardımıyla örnekler alınarak Muller Hinton Agar (Merck, Almanya, 1.05437) (MHA) üzerine inoküle edilmiştir. İnokule edilen plaklar bakteriler için uygun gelişme sıcaklıklarında Çizelge 1'deki koşullara 24 saat süre ile inkübe edilmiştir. Bakteri gelişimi gözlemlenmeyen en düşük konsantrasyon MBC değeri olarak belirlenmiştir (Amer ve ark., 2015).

Çizelge 1 Patojenik Bakterilerin İnkübasyon Koşulları*

Table 1 Incubation Conditions of Pathogenic Bacteria

Bakteri	İnkübasyon Koşulları	Kullanılan Yöntem
<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Salmonella Typhimurium</i> <i>Enterobacter aerogenes</i>	Aerobik 35±1°C'de 16-20 saat	Eucast.org
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Bacillus cereus</i>	Aerobik 30°C'de 16-20 saat	
<i>Listeria monocytogenes</i>	%5'lik CO ₂ ve hava karışımı 35±1°C'de 16-20 saat	

*(Anonim, 2018)

Bulgular ve Tartışma

Kırmızı pancarın kabuk ve iç kısmından etanol, metanol ve distile su ile elde edilen ekstraktlarının bazı gıda patojenleri üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri Çizelge 2'de gösterilmiştir. Çalışma sonucunda en fazla antimikrobiyal etkinin; 17±0,10 mm zon çapı ile pancar kabuğunun distile su ile elde edilen ekstraktının *Listeria monocytogenes* üzerinde olduğu, bunu sırasıyla 15±0,07 mm zon çapları ile *Staphylococcus aureus* bakterisi üzerinde metanol ve distile su ile elde edilen ekstraktları izlemiştir. Pancarın iç kısmında ise; en fazla antimikrobiyal etkinin 16±0,08 mm zon çapı ile *Pseudomonas aeruginosa* üzerine metanol ile elde edilen

ekstraktın gösterdiği tespit edilmiştir. Çizelge 3'de EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) ve CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute) laboratuvarlarının araştırmamızda kullandığımız patojenlerin üzerinde bazı antibiyotiklerin direnç ve duyarlılık standartları verilmiştir.

Araştırmamızda kullandığımız pancar kabuğunun tüm ekstraktlarının *Pseudomonas aeruginosa* ve *Salmonella Typhimurium* türü bakterilere karşı dirençli olduğu, *Listeria monocytogenes* ve *Enterobacter aerogenes*' in sudaki ekstraktlarına karşı duyarlı olduğu belirlenmiştir. Pancar iç kısmında ise *Enterobacter aerogenes* ve

Salmonella Typhimurium metanol çözücüsü ekstraktı duyarlı iken; *Escherichia coli*'nin hem pancar kabuğunun hem de pancar içinin tüm çözücülerden elde edilen ekstraktlara karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4).

Velićanski ve ark. (2011), Şeker pancarı (*Beta vulgaris* L. *Pomace*) ekstraktının antibakteriyel etkinliğini araştırdıkları çalışmada, benzer şekilde *Salmonella Typhimurium* 8,00 mm zon çapı olduğu ve *Listeria monocytogenes*'in zon oluşturmadığını bildirmişlerdir. Pancar kabuk ekstraktlarının antimikrobiyal etkilerine bakıldığında etanol ekstraktının gram negatif bakteriler üzerinde daha etkili olduğu görülmüştür.

Frank ve ark. (2018), tarçın içeren aljinat biyokompozit filmlerin esansiyel yağ nano emülsiyonlarının fiziksel, mekanik ve antibakteriyel özelliklerini araştırdıkları çalışmada ise araştırmamızla benzer şekilde *Listeria monocytogenes* 19,33±0,58 mm zon çapı olduğu belirlenmiştir.

Kumar ve Brooks (2018), tarafından yapılan bir araştırmada da kırmızı pancar özünün *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter youngae*, *P. aeruginosa*, *Salmonella Typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Vibrio parahaemolyticus* üzerinde etkili olduğunu belirtmişlerdir.

Pancar kabuk ve iç kısımlarından elde edilen ekstraktlarının MIC ve MBC değerleri Çizelge 5'te gösterilmiştir. Pancar kabuklarından farklı çözücüler kullanılarak elde edilen ekstraktların araştırmada kullanılan yedi farklı gıda kaynaklı patojen mikroorganizmaya karşı gösterdiği en düşük MIC değerinin 23,44 ile metanol ekstraktında *Enterobacter aerogenes* üzerinde olduğu, bu değeri sırasıyla 46,88 (µg/mL) ile etanol ve metanol ekstraktında, *Listeria monocytogenes*, metanol ekstraktını *Escherichia coli* ve *Salmonella Typhimurium*'un üzerine gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 2 Pancar Kabuğu ve Pancar İç Ekstraktlarının Bazı Gıda Kaynaklı Bakteriler Üzerindeki Antimikrobiyal Etkileri (mm zon çapı)

Table 2 Antimicrobial Effects of Beetroot Peel and Beetroot Extracts on Some Food Pathogens (mm zone diameter)

Bakteri	Etanol		Metanol		Distile Su	
	Kırmızı Pancar Kabuk	Kırmızı Pancar İç	Kırmızı Pancar Kabuk	Kırmızı Pancar İç	Kırmızı Pancar Kabuk	Kırmızı Pancar İç
<i>Staphylococcus aureus</i>	14±0,12	8±0,02	15±0,07	7±0,00	15±0,07	7±0,00
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11±0,05	9±0,02	8±0,02	16±0,08	7±0,00	10±0,05
<i>Listeria monocytogenes</i>	7±0,00	7±0,00	7±0,00	14±0,12	17±0,1	11±0,05
<i>Enterobacter aerogenes</i>	7±0,00	8±0,02	9±0,01	10±0,04	11±0,05	12±0,03
<i>Escherichia coli</i>	9±0,01	10±0,05	7±0,00	7±0,00	7±0,00	7±0,00
<i>Salmonella Typhimurium</i>	11±0,05	8±0,02	9±0,01	15±0,07	7±0,00	7±0,00
<i>Bacillus cereus</i>	7±0,00	7±0,00	11±0,05	10±0,05	7±0,00	9±0,02

Çizelge 3 CLSI ve Eucast Klinik Mikrobiyoloji Standart Zon Çapları (mm)*

Table 3 CLSI and Eucast Clinical Microbiological Zone Diameter Standards (mm)

A	<i>E. coli</i>			<i>S. aureus</i>			<i>S. typhimurium</i>			<i>L. monocytogenes</i>			<i>P. aeruginosa</i>			<i>B. cereus</i>			<i>E. aerogenes</i>		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	≥11	10	≤9	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	≥9	8	≤7	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	≥6	5	≤4	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	≥8	7	≤6	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	≥32	31	≤30	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	≥17	16	≤15	-	-	-
7	≥17	14-16	≤13	N	N	N	N	N	≤13	≥16	-	≤16	N	N	N	-	-	-	≥10	9	≤8
8	≥14	-	≤14	≥26	-	N	N	N	≤14	≥13	-	≤13	N	N	N	-	-	-	N	N	N
9	≥18	14-17	≤13	N	N	N	N	N	≤13	N	N	N	N	N	N	-	-	-	N	N	N
10	≥15	13-14	≤12	≥15	13-14	N	N	N	≤12	N	N	N	N	N	N	-	-	-	N	N	N
11	N	N	N	≥29	-	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	-	-	-	N	N	N
12	≥15	13-14	≤12	≥18	-	N	N	N	≤12	N	N	N	N	N	N	-	-	-	N	N	N
13	N	N	N	≥23	14-22	≤13	N	N	N	≥25	-	≤25	N	N	N	-	-	-	N	N	N
14	≥15	12-14	≤11	N	N	N	≥15	12-14	≤11	N	N	N	N	N	N	-	-	-	N	N	N
15	≥18	13-17	≤12	≥18	13-17	≤12	≥18	13-17	≤12	N	N	N	N	N	N	-	-	-	N	N	N
16	≥17	13-16	≤12	≥17	13-16	≤12	≥17	13-16	≤12	N	N	N	N	N	N	-	-	-	N	N	N
17	≥18	14-17	≤13	≥18	14-17	≤12	≥18	14-17	≤13	N	N	N	N	N	N	-	-	-	N	N	N
18	N	N	N	≥19	15-18	≤14	N	N	N	N	N	N	N	N	N	-	-	-	N	N	N
19	N	N	N	≥21	15-20	≤14	N	N	N	N	N	N	N	N	N	-	-	-	N	N	N
20	N	N	N	≥24	-	≤44	N	N	N	N	N	N	N	N	N	-	-	-	N	N	N
21	≥20	16-19	≤17	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	≥18	-	≤18	-	-	-
22	≥23	21-22	≤20	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	≥18	-	≤18	-	-	-

A: Antibiyotikler, 1: Vancomycin, 2: Cephazolin, 3: Cefoxitin, 4: Cefamandole, 5: Azithromycin, 6: Cephadroxil, 7: Ampicilin, 8: Benzylpenicillin, 9: Amoxicillin-clavulanate, 10: Gentamicin GN10, 11: Penicilin, 12: Netilmicin, 13: Erythromycin, 14: Streptomycin, 15: Chloramphenicol, 16: Sulfonamidler, 17: Kanamycin, 18: Tetracycline, 19: Clindamycin, 20: Fusidic Acid, 21: Piperacilin, 22: Ticarcillin, N: Test Edilmemiş, S: Duyarlı, I: Orta Duyarlı, R: Dirençli, *(CLSI, 2015; Anonim, 2018; Yılmaz ve ark., 2006)

Çizelge 4 Pancar Kabuğu ve Pancar İç Ekstraktlarının Antimikrobiyal Etkilerinin EUCAST ve CLSI Laboratar Standartları ile Karşılaştırılması

Table 4 Comparison of Antimicrobial Effect of Beetroot Peel and Beetroot Pomace Extracts with Standards of EUCAST and CLSI Laboratories

Bakteri	Etanol		Metanol		Distile Su	
	Kırmızı	Kırmızı	Kırmızı	Kırmızı	Kırmızı	Kırmızı
	Pancar Kabuk	Pancar İç	Pancar Kabuk	Pancar İç	Pancar Kabuk	Pancar İç
<i>Staphylococcus aureus</i>	I	R	I	R	I	R
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	R	R	R	R	R	R
<i>Salmonella Typhimurium</i>	R	R	R	S	R	R
<i>Listeria monocytogenes</i>	R	R	R	I	S	R
<i>Enterobacter aerogenes</i>	R	R	I	S	S	S
<i>Escherichia coli</i>	R	R	R	R	R	R
<i>Bacillus cereus</i>	I	I	S	I	I	S

S: Duyarlı, R: Dirençli, I: Orta Duyarlı

Çizelge 5 Pancar Kabuğu ve İç Kısım Eksratlarının MIC ve MBC Değerleri (µg/mL)

Table 5 MIC and MBC Values of Beetroot Peel and Beetroot Pomace Extracts (µg/mL)

Örnek	Bakteri	Etanol		Metanol		Distile Su	
		MIC (µg/mL)	MBC (µg/mL)	MIC (µg/mL)	MBC (µg/mL)	MIC (µg/mL)	MBC (µg/mL)
Kırmızı Pancar Kabuk	<i>Staphylococcus aureus</i>	187,5	125	375	125	250	125
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	93,75	62,5	93,75	31,25	93,75	62,5
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	187,5	62,5	46,88	31,25	250	250
	<i>Listeria monocytogenes</i>	46,88	31,25	46,88	31,25	93,75	62,5
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	93,75	31,25	23,44	15,63	187,5	62,5
	<i>Escherichia coli</i>	93,75	31,25	46,88	31,25	250	125
	<i>Bacillus cereus</i>	93,75	62,5	93,75	62,5	187,5	62,5
Kırmızı Pancar İç	<i>Staphylococcus aureus</i>	187,5	625	46,88	31,25	93,75	62,5
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	46,88	31,25	187,5	62,5	93,75	62,5
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	93,75	62,5	187,5	125	187,5	125
	<i>Listeria monocytogenes</i>	375	125	46,88	31,25	93,75	62,5
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	187,5	62,5	187,5	125	187,5	125
	<i>Escherichia coli</i>	187,5	62,5	187,5	125	187,5	125
	<i>Bacillus cereus</i>	93,75	62,5	46,88	31,25	93,75	62,5

Üç farklı çözücü kullanılarak pancarın iç kısmından elde edilen ekstraktların; araştırmada kullanılan patojen bakterilere karşı gösterdiği en düşük MIC değeri, 46,88 (µg/mL) ile metanol ekstraktında, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus cereus* patojenlerine karşı; etanol ekstraktında ise *Pseudomonas aeruginosa* patojenlerine karşı belirlenmiştir. Bu değeri sırasıyla 93,75 (µg/mL) ile etanol ekstraktında *Salmonella Typhimurium* ve *Bacillus cereus* patojenlerine karşı, distile su ekstraktında *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes* ve *Bacillus cereus*'un patojenlerine karşı gösterdiği belirlenmiştir.

Aynı şekilde; araştırmamızda kullanılan patojen bakterilerde etkili en düşük MBC değeri, pancar kabuk metanol ekstraktında 15,63 (µg/mL) ile *Enterobacter aerogenes* üzerinde olduğu belirlenmiştir. En yüksek değer ise *Staphylococcus aureus* için ve 125,00 (µg/mL) olduğu görülmüştür. *Staphylococcus aureus* üzerinde bakterisit etki sağlamak için yüksek konsantrasyonlar gerektirdiği belirlenmiştir. Pancar iç ekstraktlarında ise en güçlü bakterisit etki 31,25 (µg/mL) ile etanol ekstraktında *Pseudomonas aeruginosa*; metanol ekstraktında *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* ve *Bacillus cereus* üzerinde olduğu tespit edilmiştir.

Çanadanović ve ark. (2011), pancarın antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini araştırdıkları çalışmada, pancar etanol ekstraktının MIC değerlerini *Bacillus cereus*

1,50 mg/mL, *Escherichia coli* 4,50 mg/L *Staphylococcus aureus* 0,75 mg/mL ve *Pseudomonas aeruginosa* 0,50 mg/mL olarak belirtmişlerdir.

Kırmızı pancar ekstraktlarının antimikrobiyal etkilerinin çalışıldığı farklı çalışmalarda, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus pyogenes* gibi gram pozitif bakteriler üzerinde kırmızı pancar ekstraktlarının antimikrobiyal etkili olduğu, inhibisyon zon çapları sırasıyla 8-20,33; 12-23; 1-20 ve 7-11 mm olduğu tespit edilmiştir (Koochak ve ark., 2010; Velicanski ve ark., 2011; Canadanovic-Brunet ve ark., 2011; Vulic ve ark., 2013). Örneğin Jha ve Gupta (2016) araştırmalarında; pancar suyunun, *Salmonella Enteritica* (2,10 mm), *Staphylococcus aureus* (1,50 mm), *Staphylococcus epidermidis* (1,90 mm) ve *Bacillus cereus* (1,80 mm) üzerinde antimikrobiyal etkisi olduğunu belirlemiştir. İlâveten, pancar suyunun enfeksiyonel hastalıkların önlemesi ve tedavisinde iyi bir antioksidan ve antimikrobiyal kaynak olarak kullanılabileceğini ifade etmişlerdir.

Sebzelerde bulunan fenolik bileşiklerin, antimikrobiyal aktiviteden sorumlu olduğu sorumlu olduğu çalışmalar ile desteklenen bir durumdur (Baydar ve ark., 2004; Skočibušić ve ark., 2006). Fenolik bileşiklerin mekanizması üzerinde yapılan çalışmaların çoğu, hücresel membranlar üzerindeki etkilerine odaklanmaktadır. Araştırmalar, fenolik bileşenlerin stoplazma membranının

geçirgenliğinin artmasına neden olduğunu göstermektedir (Čanadanović ve ark., 2011). Sitoplazmik membran geçirgenliğindeki artışların nedeninin, hücre pH gradyanının kaybının, ATP seviyelerinin azalmanın ve hücre ölümüne yol açan proton hareket kuvveti kaybının bir sonucu olduğunu göstermektedir (Čanadanović ve ark., 2011).

Bu çalışmada elde edilen bulgular; pancar kabuğu ve iç kısmının, özellikle gıda kaynaklı bazı patojen bakteriler üzerinde güçlü bir antimikrobiyal etki gösterdiğini ortaya koymuştur.

Günümüzde küresel bir sıkıntı olarak yaşanan gıda zehirlenmelerinin doğal katkı maddeleri ile engellenmeye çalışılması birçok araştırmacının dikkatini çeken bir konudur. Yine doğal katkı maddeleri ilavesi ile üretilen gıda maddelerinde son yıllarda görülen artışa paralel olarak pancar iç ve/veya pancar kabuğunu bu amaçlarla gıdalarda kullanımıyla hem gıda üretiminde doğal bir koruyucu kullanımı sağlanmış ve hem de pancarın yüksek antioksidan etkilerinden dolayı gıdaya fonksiyonel özellik kazandırılmış olunacağı açıkça görülmektedir. Ayrıca kırmızı pancar gibi, meyve ve sebzeler üzerine yapılacak araştırmalar, bu bitkilerin içerdiği etken bileşiklerin ortaya çıkartılması sağlanarak, bu bileşiklerden, gıda ve farmakoloji alanlarında, doğal katkı maddesi, renklendirici olarak kullanımı ve daha az yan etkilere sahip ilaçların üretilmesinde de yararlanılabileceği düşünülmektedir.

Kaynaklar

- Aamer AA, Abdul-Hafeez MM, Sayed SM. 2014. Minimum inhibitory and bactericidal concentrations (MIC and MBC) of honey and bee propolis against multi-drug resistant (MDR) *Staphylococcus* spp. isolated from bovine clinical mastitis. *Alternative & Integrative Medicine*, 15(2): 1-9.
- Akarca G, Tomar O. 2019. Afyonkarahisar İli Çevresinde Yetişen ve Halk Tarafından Tüketilen Bazı Yabancı Bitkilerin Antioksidan ve Antimikrobiyal Etkileri. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (15): 259-268
- Alo MN, Anyim C, Igwe JC, Elom M, Uchenna DS. 2012. Antibacterial activity of water, ethanol and methanol extracts of *Ocimum gratissimum*, *Vernonia amygdalina* and *Aframomum melegueta*. *Adv. Appl. Sci. Res.*, 3(2): 844-848.
- Anonim. 2015. EFSA, European Food Safety Authority 2015. Scientific opinion on the re-evaluation of beetroot red (E 162) as a food additive, *EFSA Journal*, 13 (12): 4318. doi: 10.2903/j.efsa.2015.4318
- Anonim. 2018. Eucast, European Committee on Antimicrobial susceptibility testing, http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_8.0_Breakpoint_Tables.pdf
- Chikezie IO. 2017. Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) using a novel dilution tube method. *African Journal of Microbiology Research*, 11(23): 977-980.
- Dörnenburg H, Knorr D. 1996. Generation of colors and flavors in plant cell and tissue cultures. *Critical Review in Plant Sciences*, 15: 141-168.
- Eşiyok D, Bozokalfa MK. 2007. Kırmızı pancar (*Beta vulgaris* L.) yetiştiriciliği ve besin içeriği. *Dünya Yayıncılık*, 01: 94-95.
- Frank K, Garcia CV, Shin GH, Kim JT. 2018. Alginate bio composite films incorporated with cinnamon essential oil nano emulsions: Physical, mechanical, and antibacterial properties. *Int J Polym Sc.*, 1-8. DOI:<https://doi.org/10.1155/2018/1519407>
- Koochak H, Seyyednejad SM, Motamedi H. 2010. Preliminary study on the antibacterial activity of some medicinal plants of Khuzestan (Iran). *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 3: 180-184. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(10\)60004-1](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(10)60004-1)
- Kumar S, Brooks MSL. 2018. Use of red beet (*Beta vulgaris* L.) for antimicrobial applications—a critical review. *Food and bioprocess technology*, 11(1): 17-42.
- Owoseni AA, Ajayi A. 2010. Antimicrobial properties of ethanolic and aqueous extracts of *Cymbopogon citratus* on selected bacteria and fungi. *J. Med. Appl. Biosci.*, 2:64-73.
- Patra J, Das G, Baek KH. (2015). Chemical composition and antioxidant and antibacterial activities of an essential oil extracted from an edible seaweed, *Laminaria japonica* L. *Molecules*, 20(7): 12093-12113.
- Oikeh EI, Omoriegbe ES, Oviasogie FE, Oriakhi K. (2016). Phytochemical, antimicrobial, and antioxidant activities of different citrus juice concentrates. *Food science & nutrition*, 4(1):103-109.
- Tekin E, Türe H, Barutçu I. 2018. Sıcaklık, Askorbik Asit ve pH'nın Kırmızı Pancar (*Beta vulgaris* L.) Betasiyaninlerinin Bozunma Kinetiği Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. *Uludağ Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi*, 23(2):217-232.
- Valle Jr. DL, Cabrera EC, Puzon JJM, Rivera WL. 2016. Antimicrobial activities of methanol, ethanol and supercritical CO₂ extracts of Philippine Piper betle L. on clinical isolates of Gram positive and Gram negative bacteria with transferable multiple drug resistance. *PloS one*, 11(1): e0146349.
- Velićanski AS, Cvetković DD, Markov SL, Vulić JJ, Djilas SM. 2011. Antibacterial activity of *Beta vulgaris* L. Pomace extract. *APTEFF*, 42: 263-269. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2105-12-S3-S6>