

***Rhodotorula glutinis*'den Elde Edilen Karotenoidlerin *Staphylococcus aureus* Üzerine Antibakteriyel Etkisi**

Esra Türkkân*, Zerrin Erginkaya

Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Adana
ax-e@hotmail.com

Özet

Pigmentlerin, antioksidan ve vitamin etkilerinin araştırılması üzerine pek çok çalışmalar yapılmasına karşın, son zamanlarda fark edilen ve pigmentlerin diğer önemli bir özelliği olan antimikrobiyal etkileri üzerine çok az araştırma yapılmıştır. Bu çalışmada mayalardan, özellikle daha önce yapılan çalışmalarda karotenoid üretiminin yüksek olduğu saptanan 10 farklı (M24, M28, M29, M30, M35, M37, M39, M40, M42, M47) *Rhodotorula glutinis* suşundan elde edilen karotenoid ekstraktlarının bir gıda patojeni olan *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) , üzerine agar kuyu difüzyon ve minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC) yöntemleri kullanılarak antibakteriyel etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak, kullanılan 10 farklı karotenoid ekstraktları arasında *S. aureus* (ATCC 25923) üzerine en fazla antibakteriyel etkiyi, bakteri sayısı 10^3 kob/ml olduğunda üzümden izole edilen M24 (84,4mg/ml) nolu ekstraktın gösterdiği belirlenmiş olup, karotenoid ekstraktlarının bakteri sayısı 10^6 kob/ml olduğunda antibakteriyel etkilerinin azaldığı, ortamdaki bakteri sayısı 10^8 kob/ml olduğunda ise antibakteriyel etki göstermediği saptanmış olup, antibakteriyel etkili ekstraktların MIC değerleri %85 ve %95 olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Karotenoid, Antibakteriyel etki, *Rhodotorula glutinis*

Giriş

Günümüzde çeşitli kimyasal maddeler koruma ve tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır. Gıda endüstrisinde, yiyeceklerin güvenilirliğini sağlamak ve artırmak için kimyasal maddelerin kullanımı oldukça yaygındır. Kimyasal koruma, kimyasal bileşiklerin, mikroorganizmaları yok etme yeteneği olarak tanımlanabilir (1). Literatürlerde sentezlenmiş çeşitli organik ve inorganik maddelere ait antimikrobiyal etki ve biyolojik aktivite ile ilgili çalışmalar mevcuttur (2,3). Tüketicilerin doğal maddelere olan eğiliminin artması sentetik gıda renk maddelerinin yerine doğal renk maddelerinin kullanım alanlarını artırmaktadır (3). Doğal renk maddeleri içerisinde provitamin-a aktiviteleri, antioksidan özellikleri ile insan sağlığı açısından önemli olan karotenoidler en başta yer almakta olup, birçok bakteri mantar ve maya tarafından sentezlenmektedirler (4,5). Karotenoid sentezleyen maya cinsleri *Rhodotorula*, *Rhodosporidium*, *Sporobolomyces* ve *Phafia*'dır (5,6). Pigmentlerin, antioksidan ve vitamin etkilerinin araştırılması

üzerine pek çok çalışmalar yapılmıştır, pigmentlerin son yıllarda fark edilen ve hakkında oldukça az araştırma yapılan bir diğer özelliği de antibakteriyel etkileridir. Bu düşünceden yola çıkarak, bu çalışmada mayalardan, özellikle daha önce yapılan çalışmalarda yine bir pigment olan karotenoid üretiminin yüksek olduğu saptanan *Rhodotorula glutinis*'den ekstrakte edilen 10 farklı karotenoid (M24, M28, M29, M30, M35, M37, M39, M40, M42, M47) suşunun *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) üzerine Agar difüzyon ve Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC) yöntemleri kullanılarak antibakteriyel etkisi araştırılmıştır.

Materyal ve Yöntem

Kimyasallar

Nutrient Broth Merck, Yeast Ekstrakt Broth Merck, Malt Ekstrakt Broth Oxoid, Agar Agar Merck, NaCl Merck, Tripton veya pepton Oxoid'den temin edildi.

Mikroorganizmalar ve üretimi

Patojen bakteri: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)

Bakteri suşları, Nutrient broth'a aşılansak 30,0 ± 1,0 °C de 24 saat süre ile inkübe edildikten sonra gelişen bakteri kültürleri 5000 devir/dk, 10 dakika santrifüj edilerek, bakteri hücre miktarları ml'de 10³ 10⁶ ve 10⁸ olacak şekilde spektrofotometre yardımı ile 578 nm dalga boyunda optik yoğunlukları ölçülerek üç farklı konsantrasyonda ayarlandı ve karotenoid ekstraktlarının antibakteriyel etkisinin belirlenmesinde kullanıldı.

Mayalar: *Rhodotorula glutinis spp.*'den ekstrakte edilen 10 farklı karotenoid suşu (M24, M28, M29, M30, M35, M37, M39, M40, M42, M47) kullanıldı.

Maya suşları YME agara ekim yapılırak ve 25 °C'de 3 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda maya suşları 5ml YME broth besiyerine ekildi ve 25 °C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda 0,1ml örnek alınarak 5ml'lik YME Broth besiyerine ekim yapıldı 25 °C'de 10 gün inkübasyona bırakılarak, inkübasyon sonunda karotenoid ekstraksiyonu yapıldı. Mikroorganizma suşları Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji laboratuvarı ve Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji laboratuvarından temin edildi.

***Rhodotorula glutinis spp.* Suşlarından Karotenoid Ekstraksiyonu**

Sıvı besi yerindeki hücreler 5000 devir/dk 10 dakika santrifüj yapılarak maya peleti toplanması sağlanır. Maya peleti üzerine 1ml %9 NaCl ilave edilir ve 5000devir/dk 10 dakika santrifüj işlemi uygulanarak maya peleti yıkanır. Maya peleti yıkama işlemi bir kez daha yapıldıktan sonra, pelet üzerine sırasıyla 1'er mililitre dimetilsülfoksit, aseton, petrol eteri ve %20'lik NaCl ilave edilir, ardından petrol eteri fazı alınarak spektrofotometrede absorbans ölçümü gerçekleştirilir (7).

Antibakteriyel Etki

Bakteri suspansiyonlarının her birinden bir petriye 1'er ml. dökme ekim yöntemiyle ekim yapılarak, katılaştan besiyeride 4cm aralıkla 5 mm. çapında kuyucuklar açıldı, bu kuyucuklar içerisine önceden konsantrasyonu belirlenen karotenoid çözeltilerinden ilave edildi, 30 °C de 2-3 gün inkübasyona bırakıldı.(Her bir konsantrasyon ve bakteri için işlem üç tekrarlı yapıldı) İnkübasyon sonunda milimetrik bir cetvelle inhibisyon zon çapı ölçüldü. Agar kuyu difüzyon uygulaması sonucu zon oluşturan suşların minimum inhibisyon konsantrasyon değerinin belirlenmesi için sıvı besi yerine, elde edilen karotenoid ekstraktları %95, %90, %85, %80 ve %75 olacak şekilde ayarlanarak bakteri içeren ortamlara ilave edildi ve 30° C'de 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda bulanıklık spektrofometrik olarak 600 nm dalga boyunda ölçüldü. Ölçüm sonucu "Minimum inhibisyon konsantrasyon" değeri olarak belirlendi. Aynı şekilde katı besiyerine yapılan ekimler sonucuda "Minimum inhibisyon konsantrasyon" (MIC) değeri belirlendi (Her bir konsantrasyon ve bakteri için işlem üç tekrarlı yapıldı) (8).

Bulgular ve Tartışma

Rhodotorula glutinis'den ekstrakte edilen 10 farklı karotenoid (M24, M28, M29, M30, M35, M37, M39, M40, M42, M47) suşunun gıda patojeni bakteri *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) üzerine antibakteriyel etkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, bakteri sayısı 10^3 kob/ml olduğunda en fazla etkiyi üzümünden izole edilen M24 (84,4mg/ml) nolu ekstraktın gösterdiği belirlenmiş olup, ortamdaki bakteri sayısı 10^3 kob/ml iken MIC değeri %85'lik karotenoid konsantrasyonu olarak belirlenmiştir. Bakteri sayısının 10^6 kob/ml olması durumunda MIC değeri %95 lik karotenoid konsantrasyonu olarak belirlenmiş olup, bakteri sayısı 10^8 kob/ml olduğunda antibakteriyel aktivite bulunamamıştır.

Sonuç

Antibakteriyel etkisi incelenen *R. glutinis* suşlarından elde edilen karotenoid ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) karşı gösterdiği etkinin karotenodinin konsantrasyonuna göre değil, elde edildiği *Rhodotorula glutinis* suşuna ve ortamdaki bakteri sayısına göre değişmesi söz konusudur. Ortamdaki bakteri sayısının 10^6 kob/ml olması durumunda karotenoidlerin antibakteriyel etkilerinin azaldığı, bakteri sayısı 10^8 kob/ml olduğunda antibakteriyel etki göstermedikleri belirlenmiştir.

Kaynaklar

1. Chang HW. 1995. Antibacterial effect of spices and vegetables. Food Ind. (Roc), 27(9): 53-61.

Türkiye 10. Gıda Kongresi; 21-23 Mayıs 2008, Erzurum

2. Öztürk Aİ, Yılmaz Ö, Kırbağ S, Arslan M. 2000. Antimicrobial and biological effects of ipemphos and amphos on bacterial and yeast strain. *Cell Biochemistry and Function*, 117-126.
3. Winning M. 1995. Micro-encapsulated colours. Natural colours with improved stability. *Agro-Industry Hi-Tech* 7: 13-15.
4. Bendich A. 1991. β -carotene and the immune response. *Proceedings of the Nutrition Society* 50: 363-374.
5. Johnson EA, Schroeder WA. 1995. Microbial carotenoids. *Advances in Biochemical Biochemical Engineering and Biotechnology* 53: 121-177.
6. Vandamme EJ. 1992. Production of vitamins, coenzymes and related biochemicals by biotechnological processes. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 53: 313-327
7. Frengov AG, Simova E, Pavlova K, Beshkova D, Grigorova D. 1994. Formation of Carotenoids by *Rhodotorula glutinis* in Whey Ultrafiltrate, *Biotechnology & Bioengineering*, 44(8): 888-894.
8. Rasooly R. 2005. Expanding the Bacterial Action of the Food Color Additive Phloxine-B to Gram-negative bacteria. *FEMS. Immunology and Medical Microbiology*, 45: 239-244.