

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Esra TÜRKKAN

***Rhodotorula glutinis* ’den ELDE EDİLEN KAROTENOİDLERİN BAZI GIDA
PATOJENLERİ ÜZERİNE ANTİBAKTERİYAL ETKİSİ**

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

2007, ADANA

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***Rhodotorula glutinis*'den ELDE EDİLEN KAROTENOİDLERİN BAZI
GIDA PATOJENLERİ ÜZERİNE ANTİBAKTERİYAL ETKİSİ**

Esra TÜRKKAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

**Bu Tez 02/10/2007 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oy birliği ile
Kabul Edilmiştir.**

İmza.....	İmza.....	İmza.....
Doç. Dr. Zerrin ERGİNKAYA	Doç. Dr. Hatice GÜVENMEZ KORKMAZ	Yrd. Doç. Dr. Türkan KEÇELİ
DANIŞMAN	ÜYE	ÜYE

Bu Tez, Enstitümüz Biyoteknoloji Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.

Kod No:

Prof. Dr. Aziz ERTUNÇ
Enstitü müdürü

**Bu Tez Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından
Desteklenmiştir.**

Proje No: ZF2006YL95

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanundaki Hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***Rhodotorula glutinis*'den ELDE EDİLEN KAROTENOİDLERİN BAZI GIDA PATOJENLERİ ÜZERİNE ANTİBAKTERİYAL ETKİSİ**

Esra TÜRKKAN

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
Danışman: Doç.Dr.Zerrin ERGİNKAYA

Yıl:2007, Sayfa:76

Juri: Doç.Dr.Zerrin ERGİNKAYA

Doç.Dr.Hatice GÜVENMEZ KORKMAZ

Yrd.Doç.Dr.Türkan KEÇELİ

Pigmentlerin, antioksidan ve vitamin etkilerinin araştırılması üzerine pek çok çalışmalar yapılmasına karşın, son zamanlarda fark edilen ve 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 5 farklı gıda patojeni (*Staphylococcus aureus* (B5), *Bacillus subtilis* (B9), *Bacillus cereus* (B41), *Salmonella* Enteritidis (B42) ve *Escherichia coli* (B43)) üzerine agar difüzyon ve minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC) yöntemleri kullanılarak antibakteriyal etkisi araştırılmıştır.

Sonuç olarak, kullanılan 10 farklı karotenoid ekstraktları arasında en fazla antibakteriyal etkiyi, bakteri sayısı 10^3 kob/ml olduğunda üzümden izole edilen M24 (84,4mg/ml) nolu ekstraktın *S. aureus* üzerine, maydanozdan izole edilen M35 (94,2mg/ml) nolu ekstraktının *B. subtilis* ve *B. cereus*, üzerine, topraktan izole edilen M47 (93,07mg/ml) nolu ekstraktın *S. Enteritidis* ve ağaç yaprağından izole edilen M29 (107mg/ml) nolu ekstraktın ise *E. coli* üzerine antibakteriyal etki gösterdikleri belirlenmiştir. Karotenoid ekstraktlarının bakteri sayısı 10^6 kob/ml olduğunda antibakteriyal etkilerinin azaldığı, 10^8 kob/ml olduğunda ise antibakteriyal etki göstermediği saptanmış olup, antibakteriyel etkili ekstraktların MIC değerleri %85 ve %95 olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Karotenoid, Antibakteriyal Etki, *Rhodotorula glutinis*

ABSTRACT

MSc THESIS

ANTIBACTERIAL EFFECTS AGAINST SOME PATHOGEN FOOD- BORNE BACTERIA OF CAROTENOIDS EXTRACTED FROM *Rhodotorula glutinis*

Esra TÜRKKAN

DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY
INSTITUTE OF NATUREL ANDAPPLIED SCIENCE
UNIVERSITY OF ÇUKUROVA

Supervisor:Asoc.Prof.Dr.Zerrin ERGİNKAYA

Year:2007, Pages:76

Jury:Assoc.Prof.Dr.Zerrin ERGİNKAYA

Assist.Prof.Dr.Hatice GÜVENMEZ KORKMAZ

Asist.Prof.Dr.Türkan KEÇELİ

There are many studies about, antioxidant and vitamin effects of pigments extracted from yeasts but there are limeted studies about ther antibacterial effects which was realized very recently. In this study 10 different extracts of carotenoids (M24, M28, M29, M30, M35, M37, M39, M40, M42, M47), as a pigment, which were extracted from the yeast that had a high carotenoid production yield was used in the studied. In order to determine the antibacterial effects of *Rhodotorula glutinis* on 5 different pathojen bacteria (*Staphylacoccus aureus* (B5), *Bacillus subtilis* (B9), *Bacillus cerues* (B41), *Salmonella* Enteritidis (B42) and *Escherichia coli* (B43)) was used agar diffusion and minimal inhibition concentration (MIC) method were applied in this study.

The result of this study showed that 10 different carotenoid extracts, in the event of 10^3 kob/ml bacteria concentration; number M24 (84,4mg/ml) carotenoids extracted from yeast which is isolated from grape, has more antibacterial effect on *S. aureus*, number M35 (94,2mg/ml)which is isolated from parsley, has more antibacterial effect on *B. subtilis* and *B. cereus*, number M47 (93,07mg/ml) isolated from soil, has more antibacterial effect on *S. Enteritidis*, number M29 (107mg/ml) isolated from tree leaf, has more antibacterial effect on *E. coli* were established. When 10^6 kob/ml bacteria concentration was in cread to 10^6 kob/ml antibacterial effect, so decreased on, in the event of 10^8 kob/ml bacteria concentration antibacterial effect and caroteoid extracts of antibacterial effective MIC values were found as 85 and 95 % respectively.

Keywords: Carotenoid, Antibacterial Effect, *Rhodotorula glutinis*

TEŞEKKÜR

Araştırmanın planlanması, yürütülmesi ve değerlendirilmesinde bana yol gösteren danışman hocam Sn. Doç. Dr. Zerrin ERGİNKAYA'ya, laboratuvar çalışmamalarımda emeği geçen Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji ve Biyoteknoloji Anabilim dalındaki yüksek lisans yapan arkadaşlarıma,

Yaşamım boyunca maddi ve manevi desteğini esirgemeyen sevgili aileme sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VIII
RESİMLER DİZİNİ	X
SİMGELER ve KISALTMALAR	XI
1.GİRİŞ	1
2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	9
2.1. Karotenoidler Hakkında Genel Bilgiler.....	9
2.2. <i>Rhodotorula glutinis</i> spp. Hakkında Genel Bilgiler.....	10
2.3. Araştırmada Kullanılan Bakteriler Hakkında Genel Bilgiler.....	11
2.3.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	11
2.3.2. <i>Bacillus subtilis</i>	12
2.3.3. <i>Bacillus cereus</i>	13
2.3.4. <i>Salmonella</i> Enteritidis.....	15
2.3.5. <i>Escherichia coli</i>	16
2.4. Mayalardan Karotenoid Üretimi ve Yapılan Bazı Çalışmalar.....	17
2.5. Doğal Antimikrobiyal Maddeler ile Yapılan Bazı çalışmalar.....	19
2.6. Renk Maddelerinin Antimikrobiyal Etkileriyle İlgili Yapılan Bazı Çalışmalar.....	25
3.MATERYAL VE METOD	27
3.1. Materyal.....	27
3.1.1. Kullanılan Besi Yerleri ve Kimyasallar.....	27
3.1.2. Kullanılan Mikroorganizmalar.....	27
3.1.2.1. Bakteri kültürleri	27
3.1.2.2. <i>Rhodotorula glutinis</i> Suşları	28
3.2. Metod.....	28

3.2.1. Bakteri kültürlerinin Üretilmesi.....	28
3.2.2. <i>Rhodotorulaglutinis spp.</i> Suşlarından Karotenoid Ekstraksiyonu.....	28
3.2.3. Antibakteriyal Etkinin Belirlenmesinde Karotenoid Konsantrasyonunun Hesaplanması.....	29
3.2.4. Maya Suşlarının Antibakteriyal Etkilerinin Belirlerlenmesi.....	30
3.2.4.1. Agar Difüzyon Yöntemi ile Karotenoidlerin Antibakteriyal Etkilerinin Belirlenmesi.....	30
3.2.4.2. MIC Yöntemi İle Karotenoidlerin Antibakteriyal Etkilerinin Belirlenmesi.....	31
4.ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	33
4.1. <i>Rhodotorula glutinis</i> 'den Elde Edilen Karotenoid Ekstraktlarının <i>Staphylacoccus aureus</i> (B5) ÜzerineAntibakteriyalEtkisi.....	33
4.2. <i>Rhodotorula glutinis</i> 'den Elde Edilen Karotenoid Ekstraktlarının <i>Bacillus subtilis</i> (B9) Üzerine Antibakteriyal Etkisi.....	38
4.3. <i>Rhodotorula glutinis</i> 'den Elde Edilen Karotenoid Ekstraktlarının <i>Bacillus cereus</i> (B41) Üzerine Antibakteriyal Etkisi.....	44
4.4. <i>Rhodotorula glutinis</i> 'den Elde Edilen Karotenoid Ekstraktlarının <i>Salmonella</i> Enteritidis (B42) Üzerine Antibakteriyal Etkisi.....	49
4.5. <i>Rhodotorula glutinis</i> 'den Elde Edilen Karotenoid Ekstraktlarının <i>Escherichia coli</i> (B43) ÜzerineAntibakteriyalEtkisi.....	54
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	60
KAYNAKLAR.....	63
ÖZGEÇMİŞ.....	76

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 2.1. <i>Rhodotorula spp.</i> 'nin Biyokimyasal Özellikleri.....	11
Çizelge 3.1. Araştırmada Kullanılan Bakteri Kültürleri.....	27
Çizelge 3.2. Araştırmada Kullanılan Karotenoid Konsantrasyonları ve İzole Edildikleri Kaynaklar.....	30
Çizelge 3.3. MIC yönteminde kullanılan karotenoid konsantrasyonları.....	32
Çizelge 4.1. <i>Rhodotorula glutinis</i> 'den Elde Edilen Karotenoid Ekstraktlarının Ekstraktlarının 10^3 kob/ml Sayısındaki <i>Staphylococcus aureus</i> (B5) Üzerine Antibakteriyel Etkileri.....	34
Çizelge 4.2. <i>Rhodotorula glutinis</i> 'den Elde Edilen Karotenoid Ekstraktlarının 10^6 kob/ml Sayısındaki <i>Staphylococcus aureus</i> (B5) Üzerine Antibakteriyel Etkileri.....	35
Çizelge 4.3. <i>Rhodotorula glutinis</i> 'den Elde Edilen Karotenoid Ekstraktlarının 10^3 kob/ml Sayısındaki <i>Bacillus subtilis</i> (B9) Üzerine Antibakteriyel Etkileri.....	40
Çizelge 4.4. <i>Rhodotorula glutinis</i> 'den Elde Edilen Karotenoid Ekstraktlarının 10^6 kob/ml Sayısındaki <i>Bacillus subtilis</i> (B9) Üzerine Antibakteriyel Etkileri.....	41
Çizelge 4.5. <i>Rhodotorula glutinis</i> 'ten Elde Edilen Karotenoid Ekstraktlarının 10^3 kob/ml Sayısındaki <i>Bacillus cereus</i> (B41) Üzerine Antibakteriyel Etkileri.....	45
Çizelge 4.6. <i>Rhodotorula glutinis</i> 'ten Elde Edilen Karotenoid Ekstraktlarının 10^6 kob/ml Sayısındaki <i>Bacillus cereus</i> (B41) Üzerine Antibakteriyel Etkileri.....	46
Çizelge 4.7. <i>Rhodotorula glutinis</i> 'ten Elde Edilen Karotenoid Ekstraktlarının 10^3 kob/ml Sayısındaki <i>Salmonella Enteritidis</i> (B42) Üzerine Antibakteriyel Etkileri.....	50
Çizelge 4.8. <i>Rhodotorula glutinis</i> 'ten Elde Edilen Karotenoid Ekstraktlarının 10^6 kob/ml Sayısındaki <i>Salmonella Enteritidis</i> (B42) Üzerine Antibakteriyel Etkileri.....	51

Çizelge 4.9. <i>Rhodotorula glutinis</i> 'ten Elde Edilen Karotenoid	
Ekstraktlarının 10^3 kob/ml Sayısındaki <i>Escherichia coli</i> (B43)	
Üzerine Antibakteriyel Etkileri.....	55
Çizelge 4.10. <i>Rhodotorula glutinis</i> 'ten Elde Edilen Karotenoid Ekstraktlarının	
10^6 kob/ml Sayısındaki <i>Escherichia coli</i> (B43)	
Üzerine Antibakteriyel Etkileri.....	56

Şekil 4.1. <i>Rhodotorula glutinis</i> 'den Elde Edilen %85'lik Karotenoid Ekstraktlarının 10^3 kob/ml Sayısındaki <i>Staphylococcus aureus</i> (B5) Üzerine Antibakteriyel Etkileri.....	37
Şekil 4.2. <i>Rhodotorula glutinis</i> 'den Elde Edilen %95'lik Karotenoid Ekstraktlarının 10^6 kob/ml Sayısındaki <i>Staphylococcus aureus</i> (B5) Üzerine Antibakteriyel Etkileri.....	37
Şekil 4.3. <i>Rhodotorula glutinis</i> 'den Elde Edilen %85'lik Karotenoid Ekstraktlarının 10^3 kob/ml Sayısındaki <i>Bacillus subtilis</i> (B9) Üzerine Antibakteriyel Etkileri.....	43
Şekil 4.4. <i>Rhodotorula glutinis</i> 'den Elde Edilen %85'lik Karotenoid Ekstraktlarının 10^6 kob/ml Sayısındaki <i>Bacillus subtilis</i> (B9) Üzerine Antibakteriyel Etkileri.....	43
Şekil 4.5. <i>Rhodotorula glutinis</i> 'den Elde Edilen %85'lik Karotenoid Ekstraktlarının 10^3 kob/ml Sayısındaki <i>Bacillus cereus</i> (B41) Üzerine Antibakteriyel Etkileri.....	48
Şekil 4.6. <i>Rhodotorula glutinis</i> 'den Elde Edilen %95'lik Karotenoid Ekstraktlarının 10^6 kob/ml Sayısındaki <i>Bacillus cereus</i> (B41) Üzerine Antibakteriyel Etkileri.....	48
Şekil 4.7. <i>Rhodotorula glutinis</i> 'den Elde Edilen %85'lik Karotenoid Ekstraktlarının 10^3 kob/ml Sayısındaki <i>Salmonella Enteritidis</i> (B42) Üzerine Antibakteriyel	53
Şekil 4.8. <i>Rhodotorula glutinis</i> 'den Elde Edilen %95'lik Karotenoid Ekstraktlarının 10^6 kob/ml Sayısındaki <i>Salmonella Enteritidis</i> (B42) Üzerine Antibakteriyel.....	53
Şekil 4.9. <i>Rhodotorula glutinis</i> 'den Elde Edilen %85'lik Karotenoid Ekstraktlarının 10^3 kob/ml Sayısındaki <i>Escherichia coli</i> (B43) Üzerine Antibakteriyel	58

Şekil 4.10. <i>Rhodotorula glutinis</i> 'den Elde Edilen %895'lik Karotenoid	
Ekstraktlarının 10^6 kob/ml Sayısındaki <i>Escherichia coli</i> (B43)	
Üzerine Antibakteriyel.....	58

RESİMLER DİZİNİ

SAYFA

Resim 4.1. <i>Rhodotorula glutinis</i> 'den Elde Edilen Karotenoid	
Ekstraktlarının <i>Staphylacoccus aureus</i> (B5) Üzerine Antibakteriyel Etkileri.....	36
Resim 4.2. <i>Rhodotorula glutinis</i> 'den Elde Edilen Karotenoid	
Ekstraktlarının <i>Bacillus subtilis</i> (B9) Üzerine Antibakteriyel Etkileri.....	42
Resim 4.3. <i>Rhodotorula glutinis</i> 'den Elde Edilen Karotenoid	
Ekstraktlarının <i>Bacillus cereus</i> (B41) Üzerine Antibakteriyel Etkileri.....	47
Resim 4.4. <i>Rhodotorula glutinis</i> 'den Elde Edilen Karotenoid	
Ekstraktlarının <i>Salmonella Enteritidis</i> (B42) Üzerine Antibakteriyel Etkileri.....	52
Resim 4.5. <i>Rhodotorula glutinis</i> 'den Elde Edilen Karotenoid	
Ekstraktlarının <i>Escherichia coli</i> (B43) Üzerine Antibakteriyel Etkileri.....	57

SİMGELER ve KISALTMALAR

DOPA	: 3-4 dihydroxyphenylalanine
DQ	: Dorukinon
EEP	: Etanolik ekstrakt
LCCM	: Lactic acid producing bacteria culture condensate mixture
LDL- kolesterolü	: Düşük yoğunluklu lipoproteinler-kolesterol
LT	: Isıya duyarlı (labil toksin)
MBC	: Minimum bakterisidal konsantrasyon
MIC	: Minimum inhibisyon konsantrasyonu
Nis ⁺	: Nisin üreten
OD	: Optimal dansite (optik yoğunluk)
Ped ⁺	: Pediosin üreten
PHB	: Poli-β-hidroksibütirat
ST	: Isıya dirençli (stabil toksin)
TTP	: Trombotik trombositopenik purpura

1.GİRİŞ

İnsan sağlığı ile beslenme arasındaki ilişki araştırıldıkça, gıdaların temel beslenme için gerekliliğinin yanı sıra pek çok önemli hastalığı engelleyen ya da geciktiren fizyolojik yararlılıkları da ortaya çıkmaktadır. Bu yönde yapılan bir çok çalışmada gıdada bulunan fitokimyasalların tüketicilerin besin içeriklerinde yer alması sonucu çeşitli hastalıkların önlenmesinde faydalı olduğunu göstermektedir (Krinsky, 1988; Krinsky, 1989; Eliot 1999). Gıdalarda bol miktarda bulunan ve antioksidatif etkisi nedeniyle yoğun araştırmalara konu olan karotenoidler ve antosiyaninler, kimyasal olarak doğal pigment gruplarındandır. Bu gruptan β -karotenin antioksidan özeliğinin yanı sıra, yüksek provitamin A aktivitesi ve sarıdan kırmızıya kadar değişen renklendirici özeliği nedeniyle, gıda endüstrisindeki önemi giderek artmaktadır (Sweeney ve Marsha, 1973). Renk gıdanın çekiciliğinde önemli bir rol oynamaktadır. Tüketicinin gıdanın kalitesi hakkındaki ilk izlenimi rengi ile ilgilidir (Saldamlı ve Uygun, 2004). Renk, gıdada olgunluğun, bozulmanın, kalitenin göstergesi olduğu için, tüketicinin gıdayı kabul ya da red etme kararını etkilemektedir. Gıdanın toplam kalitesini belirlemede uygulanan duyuusal değerlendirmede de, toplam kalite puanını önemli bir oranını renk oluşturmaktadır (Ural,1983).

Son yıllarda uygulanan gıda işleme tekniklerine bağlı olarak ortaya çıkan renk bozukluklarını gidermek amacıyla bazı gıdalarda sentetik ve doğal renklendiriciler kullanılmaktadır. Ayrıca, üründe homojen renk dağılımını, görünümünü çekici hale getirmek ve yeni formülasyonlarla gıdaya renk kazandırmak amacıyla da renk maddeleri kullanılmaktadır (Saldamlı ve Uygun, 2004). Çeşitli gıda maddelerinin renklendirilmesinde duyulan gereksinim, sosyal, coğrafik, etnik ve tarihsel gelişim faktörleri etkisinde oluşmuştur (Altuğ, 2001). Gıdaların renk maddeleri ile olan ilişkisine bakıldığında; kurkuma, kökboya, anatto, indigo ve çivit otu gibi bitki metaryallerinin on binlerce yıldır renk maddesi olarak kullanıldığı görülmektedir (Henry, 1980).

Günümüzde gıda güvenliğine yönelik risk oluşturan ve bozulma etkeni mikroorganizmalara karşı kullanılan sentetik kökenli maddelerin, insan vücudunda istenmeyen ve beklenmedik bazı yan etkiler oluşturmalarının yanı sıra son yıllarda

sentetik renklendiricilerin maliyetinin yüksek olması, kullanımındaki yasal kısıtlamalar ve tüketicinin tercih etmemesi nedenlerinden dolayı, sentetik renk maddelerine alternatif olarak doğal renk maddelerinin kullanımı ile ilgili çalışmalar yoğunluk kazanmıştır. Gıdalarda renklendirici olarak kullanım özelliğine sahip olan doğal renk maddelerinin antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin varlığı konusunda da birçok araştırma yapılmaktadır (Przybyla, 1980; Hakim, 1982 Baytop, 1984; Andres, 1987; Danisova, 1989; Haan ve ark., 1991; Dike ve ark., 1992; Ginter E., 1992; Fabre ve ark., 1993; Meyer ve ark., 2000).

Örneğin, tereyağı ve margarinlerin renklendirilmesinde kullanılmış olan Ponso SX sentetik renklendirici ABD’de 1976 yasaklanmış ve Ponso SX yerine doğal renklendirici olan β -karoten kullanılmaya başlanmıştır (Demirağ ve Uysal, 2001). Norveç’te 1978’de, İsviçre’de 1980’de her türlü sertifikalı (sentetik) boyaaların gıda maddelerinde kullanımı tamamen yasaklanmıştır (Karaali ve Özçelik, 1993).

Doğal renk maddeleri, çeşitli bitkisel ve hayvansal kaynaklarda bulunmalarının yanı sıra bazı mikroorganizmalar tarafından da sentezlenmektedir. Mikroorganizmalar, birçok metabolit üretme yeteneğine sahiptirler. Alkol, antibiyotik, enzim, amino asit, tek hücre proteinleri, vitamin ve pigmentler bu metabolitlerden bazılarıdır (Anon., 2007a).

Bazı mikroorganizmalar tarafından sentezlenen ve gıda renklendiricisi olarak kullanılan pigment maddelerinden en yaygın olarak bilineni “monascus” ‘dur. Bu pigment *Monascus* sp. fungusundan elde edilmekte olup, sarıdan turuncuya kadar değişen renkleri oluşturabilmektedir. Özellikle Uzak Doğu’da şarap, balık, peynir ve içecek gibi çeşitli gıdalarda renklendirici ve mikrobiyolojik stabilite arttırıcı olarak uzun yıllardır kullanıldığı belirtilmektedir (Lin ve Demain, 1991; Chen ve Johns, 1993; Cheng ve Tseng, 1989).

Et ürünlerinde, uzun yıllardan beri nitrat veya nitrit kullanıldığı, nitritli kürlleme tuzu kullanımı ile nitritin sağlık açısından herhangi bir risk oluşturmayacak seviyeye düşürüldüğü bilinmektedir (Leistner, 1986). Son zamanlarda et ürünlerinde nitritin ang-kak (ang-khak) veya monascus özütü ile birlikte kullanımı tartışılmaya başlanmıştır. Ang-kak; *Monascus purpureus* veya *M. ruber* ile fermente edilen pirincin, fermentasyon sonunda kurutulup, öğütülmesi sonucu elde edilen bir gıda

boyasıdır. Filipinler, Çin, Tayvan ve Japonya gibi çoğu Asya ülkelerinde domuz eti, kanatlı etleri, balık, pirinç rakısı (sake) gibi gıdaların boyanmasında kullanılmaktadır. Gıdalara ang-kak katılmasıyla ürünün renginin değişiminin yanı sıra, aroması ve dayanıklılığı da artmaktadır (Leistner, 1986). *Ashbya gossypi* ve *Eremothecium ashbyi*'den elde edilen riboflavinin ise gıda katkı maddesi olarak kullanıldığı açıklanmıştır (Vandamme, 1992). Aynı zamanda, gıdaların vitamin konsantrasyonunu artırmada, kozmetik sanayinde, kanser ve karaciğer rahatsızlıklarının tedavisinde, tıbbi, mikrobiyolojik, biyokimyasal ve genetik araştırmalarda kullanıldığı belirtilmektedir (Vandamme, 1989).

Kateşol ve 1,8-dihidroksinaftalen (allomelanin) gibi fenolik bileşiklerin oksidatif polimerizasyonu, DOPA (eumelanin) ve sistenil-DOPA (feomelanin) melanin adı verilen kahverengi-siyah pigmentlerin oluşumunda etkili olmaktadır (Allport ve Bu'loch, 1958; Sarna ve ark., 1984). Eumelanin ve feomelanin hayvan türlerinde, allomelanin ise bitkilerde ve mikroorganizmalarda bulunmaktadır. *Mycobacterium*, *Bacillus*, *Vibrio*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Gluconobacter*, *Azotobacter* ve *Azospirillum* cinslerine ait bazı bakteri türlerinin melanin pigmenti sentezledikleri bildirilmektedir (Nicolaus ve ark., 1964; Aronson ve Wermus, 1965; Delafield ve ark., 1965; Sen ve Sen, 1965; Prabhakaran ve ark., 1968; Ogunnariuo ve Hamilton-Miller, 1975; Ivens ve Holmes, 1980; Beynon ve ark., 1980; Mung ve Kondrat'eva, 1981; Pavelenkove ark., 1981; Lakshmi ve Neyra, 1987).

Streptomyces propurpuratus ve *Bacillus* sp.'nin karışık kültürleri tarafından üretilen pembe-kırmızı pigment olan neopurpuratin, özellikle yumuşak içecekler, jel ve turşularda potansiyel bir gıda renklendiricisi olarak kullanımının uygun olacağı belirtilmiştir (Vandamme, 1992). Gıda renklendiricisi olarak tanımlanan pigmentlerden biriside karotenoidlerdir. Karotenoidler çeşitli mikroorganizmalar tarafından sentezlenebilmektedir. Küfler arasında *Phycomyces blakesleanus*, *Blakesleanispora*, *Mucor mucedo*, *Ustilago violacea*, *Neurospora crassa*, *Fusarium aquaeductum*'un karotenoid oluşturduğu saptanmıştır (Malgolith, 1992).

Bakterilerde ise; yapı bakımından birbirinden farklı karotenoid sentezlendiği saptanmıştır. Karotenoid oluşturma ilgilerine göre bakterilerin kemo-organotrofik ve

fotosentetik bakteriler olarak iki alt grupta incelendiği belirtilmiştir. Kemo-organotrofik bakterilerde yaygın olarak görülen 40 C 'lu karotenoidlerin yanı sıra, 30 C ve 50 C 'lu karotenoidlerde belirlenmiştir. *Staphylococcus aureus*, *Halobacterium sp.*, *Corynebacteria*'nın bu tip karotenoidler saptandığı belirtilmiştir. Bioaromatik karotenoidler, *Myxobacteria plei*, *Streptomyces mediolanus* ve *Brevibacter linens*'de tanımlanmıştır. *Mycobacterium phlei*, *M. aureus*, *M. chubuense*, *Halobacterium halobium*, *H. cutirubum* ve *H.salinarum*'da çeşitli karotenoidleri sentezledikleri bulunmuştur (Malgolith, 1992).

Fotosentetik bakteriler arasında yer alan purple bakterilerinde oldukça nadir olarak görülen spirilloxanthin sentezlediği belirlenmiştir. Purple sulfur bakterilerinde aromatik karotenoidleride ürettiği belirlenmiştir. Algler tarafından sentezlenen karotenoidlerin çoğu 40 C 'ludur. Yüksek oranda karotenoid sentezleyen alg türü *Dunaliella bardawil*'dir (Malgolith, 1992).

Karotenoid sentezleyen maya cinsleri ise *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Rhodospiridium*, *Sporidiobolus* ve *Sporobolomyces*'dir. Oluşturdukları karotenoid kompozisyonu benzerdir. Genel olarak oluşturdukları karotenoidler β -karoten, α -karoten, torulene ve borularhodin pigmentleridir. Son yıllarda tanımlanan *Phaffia rhodozyma* mayasının ise diğer mayalardan farklı olarak astaksantin oluşturduğu saptanmıştır. Ticari açıdan ilgiyi ise *Phaffia rhodozyma* ve *Rhodotorula* mayaları çekmiştir (Vandame, 1992).

Mikroorganizmaların oluşturduğu karotenoidlerden renklendirici olarak kullanılanların başlıcaları ise, β -karoten, xanthophyll, astaxanthin, zeaxanthin'dir. β -karoten, gıdalara sarı'dan turuncuya kadar değişen renk tonlarını vermek amacıyla kullanılmaktadır. Ticari olarak üretimi 1950'li yıllardan itibaren yapılmaktadır. Ticari olarak β -karoten üretiminde *Dunaliella sauna*, *D. bardawil* (Vandamme, 1992) ve *Blakeslea trispora* (Gavrilov ve ark., 1996; Tereshina ve ark., 1996) kullanılmaktadır. Ayrıca, *Phaffia rhodozyma*'nın da sentezlediği xanthophyll ile dikkati çekmektedir (Reed ve Nagodawithana, 1991).

Yapılan bazı çalışmalarla *Phaffia rhodozyma*'dan elde edilen xanthophyllerin, yenilebilir yağlarda, dondurmalarda, içeceklerde ve yumurtada gıda

renklendiricisi olarak kullanılabileceği belirlenmiştir (Haan ve ark., 1991; Vandamme, 1992).

Ayrıca *Phaffia rhodozyma*'nın sentezlediği astaxanthin'nin özellikle somon balığı ve alabalık üretiminde yemlere ilave edilerek balık eti rengini iyileştirdiği belirlenmiştir (Reynders ve ark., 1996; Acheampong ve Martin, 1995).

Flavobacterium'un fermantasyonu ile zeaxanthin üretim işlemleri pilot denemelerle yürütülmektedir (Vandamme, 1992). Gıda maddelerine işleme sırasında katılan karotenoid grubu maddeler gıdanın hem rengini hem de besinsel değerini geliştirmektedir. Hayvan yemlerine (balık ve tavuk yemi vb.) karotenoid katılarak bu yemlerin besleyici değerinin artması sağlanmaktadır (Borenstein ve Bunnell, 1966; Britton, 1992; Britigh ve ark., 1995; Vega ve ark., 1996). Bakteri, maya ve küflerden gıda katkı maddesi olarak renk maddelerinin elde edilmesiyle ilgili pek çok çalışma yapılmaktadır. Bu çalışmaların sonucu olarak, gelişim hızının yüksek olması, kolay elde edilmesi, maliyetinin düşük olması ve besin kalitesinin yüksek olması nedeniyle mayalarla yapılan çalışmalar ve özellikle de mayalardan karotenoid üretimi ön plana çıkmıştır (Acheampong ve Martin, 1995).

Tüketime hazır gıdalarda bitkisel kaynaklı pek çok maddenin antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. Örnek olarak yöresel bir peynir üzerinde yapılan bir çalışmada; Van yöresine ait otlu peynir yapımında kullanılan otların(*sirmo*, *mendo*, *heliz*, *sov* ve *siyabu*) dietileter ekstraktlarının, bazı patojen bakterilerin üzerine inhibitör etkinliği araştırılmış ve sonuçta *sirmo*'nun test suşlarının üzerinde değişik düzeylerde olmak üzere inhibitör bir etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. *Mendo* *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylacoccus aureus* üzerinde etkili olduğu gözlenirken, *heliz*'in *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* ve *S. aureus* üzerinde inhibitör etki gösterdiği belirlenmiştir. En zayıf inhibitör aktivite *sov* ve *siyabu*'da gözlenmiştir (Ağaoğlu ve ark., 2005).

Türkiye on bine yakın bitki türü ile dünyanın en zengin florasına sahip ülkelerden biri olmanın yanı sıra köklü bir kültüre de sahiptir. Bu durum, bitkisel kaynaklı maddelerin araştırılmasında kolaylık sağlamıştır. Bu yönüyle antibakteriyal aktiviteye sahip bitkilerin bakteriyel orijinli insan, hayvan ve bitki hastalıklarının kontrolünde etkili olabileceği ve hatta yiyecek depolarındaki bakteriyel

kontaminasyonu önlemek gibi spesifik bir işleve sahip olabileceği bildirilmektedir (Verestagui ve ark, 1996). Ayrıca baharat özelliğindeki bazı bitkilerin içerdikleri uçucu yağlar ile gıdaların organoleptik özelliğinde kayba neden olmaksızın bakteriyel bozulmayı geciktirdikleri ve buna bağlı olarak koruyucu amaçla kullanıldıkları saptanmıştır (Dorman ve ark., 2000).

Günümüzde klasik kemoterapotik ajanlara karşı gelişen dayanıklı bakteri türlerinin sayıca artması ve özellikle penisiline rezistans suşların sıkça görülmesi bu bileşiklerin kullanımını yararsız hale getirmektedir. Antibakteriyel etkiye sahip doğal maddeler, halen kullanılmakta olan antibiyotiklerden farklı mekanizmalar ile bakterileri inhibe edebildiğinden dayanıklılık gelişen bakteri türlerini kontrol altına alabilme yeteneğine sahiptirler (Inuma ve ark., 1996). Doğadan izole edilen bu maddeler, tedavi edici etkilerinin yanı sıra yeni antibakteriyal ilaçların geliştirilmesi için yapılan araştırmalarda model olarak da kullanılmaktadırlar (Serkedjieva, 1997; Sindambiawe ve ark., 1999).

Mikroorganizmaların neden olduğu gıda kaynaklı hastalıklar insan sağlığı ve gıda güvenliği açısından problem oluşturmaya devam etmektedir. Gıda kaynaklı hastalıkların son 10-20 yıldır artan bir şekilde devam ettiği görülmektedir. Gıdalarda mikroorganizmalar tarafından oluşturulan hastalık vakalarında *S. aureus*, *Bacillus*, *Salmonella*, *Campylobacter jejuni* ve enterovirulantlardan *Escherichia coli* ve bazı parazitler (ör. *Cryptosporidium*, *Cryptospore*, *Trematooles*) canlıların etkili olduğu belirtilmiştir. Bitkisel ve hayvansal üretimdeki değişim, daha yaygın bir gıda dağıtım sisteminin oluşması ve gelişmiş ülkelerde et ve tavuk eti tüketiminde artışa neden olduğundan, gıda kaynaklı hastalıklarda yayılmasında ve oluşmasında önemli rol oynamaktadır. Yaygın ve yoğunlaştırılmış gıda dağıtım sistemi, bulaşık gıda ürünlerinin dağıtımını yaygınlaştırmış ve potansiyel olarak hızlandırmıştır. Tüketim alışkanlıklarındaki değişim (ör. Taze ve minimum düzeyde işlem görmüş gıdalardaki tüketim tercihleri, gıdaların üretimi ve tüketimi arasındaki aralığın uzun olması, toplu tüketim yerlerinde yeme alışkanlığındaki artış) mikroorganizmalar tarafından oluşturulan gıda kaynaklı hastalık artışına katkıda bulunmaktadır. Yeni patojenler ve daha önceleri gıdalarda patojen olarak görülmeyen organizmalar halk sağlığı açısından üzerinde önemle durulmayı gerektirmektedir. Özellikle dana eti, pastörize

olmamış elma suyu, süt, marul, içme suyu gibi gıdalar bu tip hastalıkların yaygınlaşmasında taşıyıcı görevi yapmıştır (Anon, 2007 b).

Bazı gıdalarda mikroorganizmaların gelişmesini ve baskın hale geçmesini belli ölçülerde de olsa engelleyebilen, antimikrobiyal aktiviteye sahip bazı doğal maddeler (inhibitörler) bulunmaktadır. Diğer taraftan gıdalara koruyucu olarak antimikrobiyal özellikte; benzoik, sorbik, propionik, asetik, sitrik, laktik, glukonik asit ve tuzları, parabenler, orta uzunlukta zincire sahip yağ asitleri, inhibitör gazlar, diasetil ve fosfatlar gibi bazı katkı maddeleri eklenebilmektedir (Borcaklı, 1999).

Antimikrobiyal maddeler, mikroorganizma gelişimini engelleyen, biyolojik kökenli, ikincil metabolitlerdir. Bunlar, mikroorganizmanın çoğalmasını engelleyici "bakteriostatik" veya "fungustatik" olabildikleri gibi; mikroorganizmanın ölümüne sebep olan "bakterisit" ve "fungisit" gibi maddeler de olabilirler. Mikroorganizmalar tarafından üretilen, düşük molekül ağırlıklı, organik doğal ürünler olan antimikrobiyaller, seçici toksisiteye sahip olduklarından, çok düşük konsantrasyonlarda bile mikroorganizmaya zararlıdırlar (Schlegel, 1992; Demain, 1999).

Antibiyotiklerin, dünyadaki yaygın ve yanlış kullanımı, enfeksiyon hastalıklarının tedavisindeki en önemli sorun olan, antibiyotiklere dirençli mikroorganizma enfeksiyonlarını ortaya çıkarmaktadır. Son on yılda, eski antibakteriyel ve antifungal ilaçlara karşı, bir çok ikili antibiyotik dirençli mikroorganizma, klinik olarak izole edilmiş ve bunlarla tek yönlü etkili antibiyotiklerin mücadelesinin kolay olmadığı sonucuna varılmıştır. Bu nedenle, sürekli olarak, etki alanı geniş ve güçlü antibiyotikler üreten, yeni mikroorganizma tiplerinin araştırılması önem kazanmıştır (Demain, 1999).

Ancak, mikroorganizmalardan elde edilen antimikrobiyal maddelerin çoğu hayvan deneylerini geçememekte, sadece birkaç tanesi tıbbi olarak faydalı bulunarak ticari olarak üretilmektedir (Eltem ve Uçar, 1998). Gerçekten de, özellikle son yıllarda, uluslararası ilaç endüstrisinin araştırma-geliştirme çalışmaları her yıl arttığı halde, yeni keşfedilen ve patenti alınan ilaç sayısında ciddi bir düşüş olduğu bildirilmektedir (Pollack, 2002; Tamer, 2002).

Antimikrobiyal etkili gıda katkı maddelerinin insan sağlığı açısından risk oluşturabileceği ve bu maddelerin kullanılması halinde hijyen uygulamalarına daha az dikkat edileceği düşüncesi ile gıdalarda kullanılması uzun yıllardan beri tartışılmıştır. Bununla beraber bu maddelerin kullanımı, gıdaların raf ömrünü uzattığından doğrudan tüketimin artmasında etkili olmuştur. Günümüzde doğal yani sentetik olmayan maddelere olan talebin gittikçe arttığı göz önünde bulundurulursa doğal ve gıdalara katılmasına izin verilen antimikrobiyal maddelerin kullanımı, endüstri, tüketici ve yasal uygulamalar açısından, uyum içinde, geliştirilmesi gereken bir konu olmaktadır (Borcaklı, 1999).Gıdalardaki doğal antimikrobiyal maddelerin başında, laktoferrin, laktoperoksidaz, globulinler, yağ asitleri, fenolik maddeler, flavonoidler, tiosülfınatlar ve karotenoidler gelmektedir (Anon, 2005a).

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda sınırlı sayıda mikroorganizmalardan endüstriyel boyutta renk maddesi üretimi yapılmaktadır. Ancak, mikroorganizma dünyası renk maddesi üretimi açısından oldukça zengin bir kaynak olduğu için bu konudaki araştırmalar devam etmektedir. Bu çalışmada, yine bir pigment olan ve mayalardan, özellikle daha önce yapılan çalışmalarla karotenoid üretim verimi yüksek olduğu belirlenen 10 farklı *Rhodotorula glutinis* suşundan ekstrakte edilmiş olan karotenoid ekstraktlarının, 5 farklı patojen (*Staphylococcus aureus* (B5), *Bacillus subtilis* (B9), *Bacillus cereus* (B41), *Salmonella Enteritidis* (B42), *Escherichia coli* (B43)) üzerindeki antibakteriyal etkisi araştırılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Karotenoidler Hakkında Genel Bilgiler

Karotenoidler, yağda çözünebilen renk maddeleridir. Karotenoidlerin merkezi iskeleti 8 izoprenoid ünitesinin yan yana dizilmesiyle oluşmuştur. Genel formülü $C_{40}H_{56}$ 'dır Yapılarında çok sayıda çift bağ bulunmaktadır (Bağdatlıoğlu ve Demirbüker, 1999; Denizci, 1990).

Karotenoidler bitkilere sarı, kırmızı ve turuncu rengi veren pigmentlerdir. Doğada tanımlanmış 600'ün üzerinde karotenoid vardır, bunların yaklaşık 50'si besinlerden alınabilmekte ve 22'si yeterince emilip kana geçebilmektedir. Son dönemlerde yapılan çalışmalar, karotenoidlerin sağlık üzerine önemli olumlu etkileri olduğunu göstermektedir (Astorg, 1997).

Karotenoidlerin renk özellikleri yapılarındaki konjuge çift bağlardan kaynaklanmaktadır. Karotenoidlerde belirli bir renk oluşumu için en az yedi konjuge çift bağ içermelidir. Konjuge bağ sayısı arttıkça renk yoğunluğu da artmaktadır. Beş konjuge çift bağ içeren phytoene renksiz, onbir çift bağ içeren likopen ise kırmızı renklidir. Aynı sayıda çift bağ içeren karotenoidler, siklizasyon nedeniyle farklı renk tonlarında bulunabilmektedir. Genel olarak karotenoidlerin renkleri, konsantrasyona ve molekülün yapısına bağlı olarak değişmektedir. Ayrıca farklı karotenoidlerin karışım halinde kullanılmasıyla farklı renk tonları elde edilmektedir

Karotenoidler çeşitli özelliklerine göre farklı gruplar altında toplanmıştır. Ancak genel olarak karotenler, ksantofiller, karotenoid ketonlar ve karotenoid asitler olarak dört ana grupta toplanmışlardır. Karotenler, yapılarında karbon bulunanlar karotenoidler, oksijen bulunanlar ise ksantofiller olarak adlandırılır (Bağdatlıoğlu ve Demirbüker, 1999).

En iyi bilinen karotenoid β -karoten olmasına rağmen son dönemde daha çok ilgi çeken 3 farklı karotenoid vardır; Astaksantin, lutein ve likopen. Astaksantin yeni bilimsel çalışmalarda dikkat çekici hale gelmiştir. Astaksantin yaşayan birçok organizmada doğal olarak bulunan kırmızı renkli bir pigmenttir. Özellikle kabuklu deniz ürünlerinde ve somonda bolca bulunur (karides, yengeç, ıstakoz, balık yumurtaları v.b). Astaksantin bu canlılarda büyümede rol oynar ve vitamin benzeri

etkinlik gösterir. (Torrissen ve Christiansen, 1995). İnsanlarda ise antioksidan olarak rol oynar. Astaksantin diğer karotenoidlere nazaran yapısında hem oksijenin bulunması ve hem de lipofilik olması nedeniyle kan beyin bariyerini aşarak özellikle santral sinir sistemi ve beyin hücrelerini korur. İki farklı hayvan çalışmasında Vitamin E'den mahrum bırakılmış hayvanlara astaksantin verilmiş sonuç olarak da lipit peroksidasyonunun önüne geçilmiştir (Kurashige ve ark., 1990).

Güneşi kullanarak enerji üreten tüm organizmaların (bitkiler, mikroorganizmalar vb.) karotenoidlere ihtiyaç duyduğu belirtilmektedir. Çünkü, karotenoidlerin antioksidan özelliği sayesinde bu organizmaların güneş ışınlarını fotosentez yoluyla enerjiye dönüştürürken mikrobiyal etkilere karşı koruyucu görevi gördüğü saptanmıştır. Karotenoidlerin antioksidan ve provitamin A özellikleriyle insan sağlığına olumlu yönde katkıları bulunmaktadır. Provitamin A özelliği gösteren karotenoidlerin başında β -karoten ve α -karoten gelmektedir. Provitamin A özelliği olmayan karotenoidlerin başında ise lutein, likopen ve zeaksantin gelmektedir. Karotenoidler, meyve sebze ve liflerin, en çok göze çarpan sarı ve kırmızı renklerinin kaynağı olarak bilinmektedir (Anon., 2006).

2.2. *Rhodotorula glutinis* spp. Hakkında Genel Bilgiler

Rhodotorula spp., *Basidiomycetous* mayası olup parlak, mukoid sarıdan turuncuya kadar değişen renklerde koloniler oluşturur. Başlıca ürettiği karotenoid türleri, β -karoten, torulin ve torularhodindir. *Rhodotorula glutinis*'in seksüel formu *Rhodosporidium*'dur. Hif oluşumu *Rhodotorula spp.* türlerinde nadir olarak görülmesine rağmen, *Rhodosporidium spp.*'nin türleri dikaryotik hif oluşturabilmektedir (Fell ve ark., 2000). *Rhodotorula spp.*'nin genel özellikleri çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. *Rhodotorula* spp.'nin Biyokimyasal Özellikleri (Barnett ve ark., 1990)

Şeker fermantasyonu	–
Miyoinositol	+/-
Nitrat	+/-
Üre hidrolizi	+
Diazonium Blue B reaksiyonu	+
Nişasta üretimi	+/-

Çoğu *Basidiomycetous* mayası gibi *Rhodotorula* spp. ve *Phaffia rhodozyma*'da toprak, hava, su, meyve suyu ve süt ürünleri gibi çok çeşitli ortamlarda bulunabilmektedir (Fell ve ark., 2000).

Slavikova ve Vadkertiova (2000), üç farklı ormandan toplanan 180 yaprak örneğinin maya florasını araştırmışlar ve belirlenen maya türleri arasında *Rhodotorula aurantiaca* tanımlamışlardır.

2.3. Araştırmada Kullanılan Bakteriler Hakkında Genel Bilgiler

2.3.1. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcaceae familyasına ait olan *Staphylococcus*'lar , gram pozitif, 0,5 - 1,5 µm çapında, kok şeklinde, spor oluşturmeyen, hareketsiz, katalaz pozitif ve fakültatif anaerob bakterilerdir. Familyanın en önemli türü koagülaz pozitif ve termonükleaz pozitif bir bakteri olan *S. aureus*'dur. *S. aureus*, başta ısı işlem olmak üzere mikroorganizmaların indirgenmesine yönelik tüm uygulamalara karşı yüksek bir duyarlılık göstermesine rağmen insanlarda hastalığa neden olan ve yüksek derecede ısı stabilitesi gösteren protein yapısında toksinler üretmektedir(Akçelik ve ark., 2000; Anon, 2007f)

S. aureus'un da dahil olduğu pek çok stafilokok türü insanların ve hayvanların doğal florası olarak kabul edilmektedir. Gıda zehirlenmelerine neden olan *S. aureus*'un gıdaya bulaşmasındaki en önemli etkenin insan olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde bakterinin, hava, toz, lağım ve sudan kolaylıkla izole

edilebilmesi, gıdaların kontaminasyonu için çok sayıda kaynağın bulunduğunu göstermektedir (Akçelik ve ark., 2000).

Stafilokokal gıda zehirlenmelerinin başlangıcı hızlı ve şiddetli olabilmektedir. Bu da kişinin toksine karşı dayanıklılığına ve hassasiyetine, yenilen gıda miktarına ve kişinin genel sağlığına bağlı olabilmektedir. *S. aureus* 'un neden olduğu hastalıkların oluşma süresi ortalama 1-6 saattir. Belirtileri; çok sayıda kusma, ishal, karın bölgesi kramplarıdır. *S. aureus* kaynağı olabilecek gıdalar arasında kremalı fırın ürünleri, salam, tavuk eti, yumurta, patates salatası, kremalı soslar yer almaktadır (Anon, 2007b).

Bu tür gıda zehirlenmelerinde çok nadir olarak ölümle karşılaşmaktadır. Ancak oldukça yaşlı kişilerde, küçük çocuklarda, bebeklerde ve aşırı derecede güçsüz insanlarda ölümle sonuçlanabilmektedir (Anon, 2007f).

2.3.2. *Bacillus subtilis*

B. subtilis, *Bacillaceae* familyasına ait bir bakteri olup gram pozitif (bazı türleri gram değişken), çoğu türü hareketli (peritrik flagella), endospor oluşturan, aerob veya fakültatif anaerob, oksidaz pozitif veya negatif, çoğu türü katalaz pozitif, çubuk şeklinde bakterilerdir. Toprak, su ve çeşitli gıdalarda bulunur (Unlütürk ve ark., 1998).

B. subtilis 'den elde edilen subtilin adı verilen maddenin bazı bakterilere karşı inhibitör etki gösterdiği belirlenmiştir. Bakteri aslında saprofit olmakla birlikte doğrudan doğruya doku ve özellikle göz içerisine girmesi sonucunda panoftalmi, iridoksilit gibi göz yangıları meydana getirebilir. *B. subtilis* 'in besin zehirlenmesi yaptığındanda da şüphelenilmektedir. Sütü içeceklerin, ekmeğin, sebze ve meyvelerin bozulmasında da etken olmaktadır (Bilgehan, 1995).

Bacillus türleri, polisakkarit, nükleik asit ve lipid gibi polimerleri parçalamaya yarayan ve hücre dışına salgılanan hidrolitik enzimler üretir. Bu moleküllerin parçalanmasıyla bakteri karbon kaynağı ya da elektron taşıyıcı olarak kullanabileceği ürünler elde eder. Yine çoğu *Bacillus* türü antibiyotik üretebilir. Basitrasin, polimiksin, tirosidin, gramisidin ve sirkülin bu antibiyotiklere örneklerdir (Anon., 2007d).

Bu bakterinin sporları özellikle büyük hacimli ekmeklerin orta noktalarında pişirme sıcaklığına dayanabilmekte ve ekmekler soğutulduğu zaman çimlenerek 0,95 su aktivitesi düzeyinde kolayca gelişebilmektedir. Ekmeklerde sünme olarak da adlandırılan bu bozulma sırasında ekmek hücreleri parçalanarak yapışkan viskoz bir yapı ortaya çıkar. Rop bozukluğu genellikle sıcak ve nemli koşullarda ve yılın çeşitli zamanlarında ortaya çıkabilir. Bu bakterinin bulaşma kaynağı ekmek yapımında kullanılan un, maya gibi katkı maddeleri ve yetersiz hijyen koşullarıdır. Rop bozulmasına karşı ekmeğin raf ömrünü uzatmak amacıyla belirli miktarlarda kalsiyum propiyonat, sodyum diasetat ve sirke kullanılmaktadır. İşletmede rop kontaminasyonu olduğu zaman ise özel kimyasallar veya buhar uygulaması ile üretim yerinin temizlenmesi gereklidir (Anon., 2007d).

2.3.3. *Bacillus cereus*

Bacillaceae familyasının *Bacillus* cinsine ait bir bakteri olan *Bacillus cereus*, toprak ve bitki örtüsü üzerinde yaygın bir şekilde bulunmaktadır. Santral veya subterminal yapıda, elipsoidal sporlara sahip olan bakteri, peritrik flagelları sayesinde hareketli ve aerobiktir. *B. cereus* 'un çok sayıda alınması ile bireylerde gıda zehirlenmesi görülebilir. Özellikle *B. cereus* ile kontamine olmuş gıdaların hazırlanması ile tüketimi arasındaki süre uzadığında ve yeterince hızlı soğutulmadıklarında veya gıdaların hazırlanması ile tüketimi arasındaki süre uzadığında, canlı ve ısıya dirençli olan sporların çimlenmesi sonucu mikroorganizma çoğalıp, gıda zehirlenmesine neden olabilecek düzeyde toksin oluşturabilir. Gıda zehirlenmeleri, gıdadaki bakteri sayısı 10⁶ /g olduğunda ortaya çıkmaktadır (Pichhardt, 2004).

B. cereus zehirlenmesinde aracı gıdalar olarak, pişmiş pirinç, makarna, et, kümes hayvanları, sebze yemekleri, çeşitli çorbalar, pudingler, baharat ve soslar sayılabilir. Ayrıca, toprak kökenli olması nedeniyle tarla ve bahçe ürünlerine rahatlıkla bulaşabilen *B. cereus*, sporlu bir bakteri olduğu için et ve süt ürünlerinde de bulunabilir (Kaleli ve Özkaya, 2000).

B. cereus, ilk defa Hauge (1950–1955) tarafından Norveç'te 600 kişiyi etkileyen 4 ayrı gıda zehirlenmesi vakasında, etiyolojik etmen olarak bildirilmiş ve 4

vakada da zehirlenmeye neden olan gıdanın, hazırlandıktan sonra bir gün bekletilmiş vanilyalı sos olduğu saptanmıştır. Bu olaydan sonra diğer birçok Avrupa ülkesinde de *B. cereus* vakası tespit edilmiştir. 1980 yılında *B. cereus* kaynaklı 9 gıda zehirlenmesi, 1981 yılında 8 gıda zehirlenmesi vakası, Hastalık Kontrol Merkezine rapor edilmiştir. *Staphylococcus aureus* intoksikasyonu (*B. cereus* kusma tipi sendrom) ve *C. perfringens* gıda zehirlenmesinin (*B. cereus* diyare tipi sendrom), benzer semptomları nedeniyle rapor edilmeyen gıda zehirlenmeleri vakaları da bulunmaktadır (Anon, 2007c).

B. cereus iki farklı toksin oluşturur. Bunlardan birisi 40 kDa ağırlığında ısıya dayanıklı (Stabil Toksin; ST) bir protein olan enterotoksindir. Gıda zehirlenmesine neden olan bu toksin 126 °C'de 90 dakikada inaktif hale gelir. Diğer toksin ise 5–7kDa ağırlıkta, ısıya dayanıklı (Labil Toksin; LT) olan bir peptittir ve 60 °C'de birkaç dakikada tahrip olur. *Bacillus cereus* türündeki bütün suşlarının toksin yapmadığı, belli serotiplerin toksin oluşturduğu bilinmektedir. Bu bakterinin intoksikasyon yoluyla hastalık yaptığına ilişkin kesin bir şey söylemek mümkün değildir. Bağırsakta gelişerek toksin oluşturduğu bilinen bakterinin anaerobik koşulda in vitro olarak toksin oluşturduğu da gösterilmiştir (Tunail, 2000).

B. cereus, emetik ve diyarejenik enterotoksin olmak üzere iki farklı tip enterotoksin sentezler ve dolayısıyla iki farklı tip zehirlenmeye neden olur. Bunlardan biri "akut başlayan kusma tipi sendrom" olup daha çok pişmiş pirinç ve pirinçli gıdalarda oluşan toksinle ilişkilidir. Kusturucu toksin olarak isimlendirilen bu toksin ısı ile, pH'nın yanısıra tripsin ve pepsin enzimlerine de dirençlidir. Diğer hastalık tipi ise "uzun sürede gelişen diyare tipi sendrom" olarak bilinmektedir ve daha geniş bir gıda grubu ile ilişkilidir. Bu gıdalar arasında; mısır ve mısır nişastası başta olmak üzere tahıl içeren gıdalar, patates püresi, sebzeler, kıyma, bazı et ürünleri, puding ve çorbalar sayılabilir. Diyare yapıcı toksin olarak bilinen bu toksin, protein yapısında olup, tripsin ve pronaz enzimleri ile ısıya karşı duyarlıdır (Kaleli ve Özkaya, 2000).

Nispeten daha hafif seyreden diyare tipi *B. cereus* gıda zehirlenmesinde inkübasyon süresi 8-16 saat arasında değişmekte olup, genelde 12–13 saattir. Hastalık, 6–12saat sürer ve belirtileri; bulantı (kusma çok seyrek), kramp şeklinde

karın ağrısı ve sulu ishaldir. Genellikle ateş görülmez. Bu tip *B. cereus* zehirlenmesi *C. perfringens* gıda zehirlenmesine benzerlik gösterir. Daha ağır seyreden emetik tip (kusma tipi) *B. cereus* gıda zehirlenmesinde ise inkübasyon süresi 1–6 saat arasında değişmekte olup, genel olarak 2–5 saattir. Bu zehirlenme şekli *S. aureus* gıda zehirlenmesine benzerlik gösterir (Anon, 2007c).

2.3.4. *Salmonella* Enteritidis

Salmonella'lar 2500'ü aşkın serotipi ile doğada çok yaygın olarak bulunan, insan ve hayvanlarda infeksiyon oluşturan bakterilerdir. Kanatlı paratifo infeksiyonları ya da diğer adıyla Salmonellozis, *Salmonella* Pullorum ve *Salmonella* Gallinarum dışında kalan *Salmonella* cinsine ait türlerin neden olduğu infeksiyonlardır. Kanatlı paratifo infeksiyonları dünyanın her bölgesinde öteden beri bilinen, özellikle genç hayvanlarda önemli oranda mortaliteye, ekonomik kayıplara ve aynı zamanda kanatlı ürünleri tüketen insanlarda gıda zehirlenmelerine neden olan bir infeksiyondur. İnfeksiyona tavuk, hindi, ördek, kaz, güvercin ve yabani kuşlarda rastlanır. Genç hayvanlar yaşlılara göre daha duyarlıdır (Arda ve ark., 1994; Gordon., 1977; Jordon, 1990; O'brien, 1990).

Enterobacteriaceae familyasına ait *Salmonella* cinsi bir bakteri olan *Salmonella* Enteritidis, aerop, gram negatif ve çubuk şeklindedir (Anon, 2007d).

Özellikle son yıllarda *Salmonella* Enteritidis, infeksiyonları gelişmiş ülkelerde de sorun olmaktadır. İnfeksiyonun en önemli bulaşma yolu sindirim sistemidir. Birçok araştırmacı transovaryan bulaşmanın da öneminden söz etmişler ve kanatlı ürünlerin özellikle kontamine yumurtaların ve karkasların insanlar tarafından tüketilmesi sonucu, toplu gıda zehirlenmeleri olgularından *S. Enteritidis* ve *Salmonella* Typhimurium'un sorumlu olduğunu belirtmişlerdir (Chapmen ve ark., 1988; Goodnough ve Jahnson, 1991; Humphrey ve ark., 1989; Mishu ve ark., 1994; Thomas, 1989).

Ülkemizde de son yıllarda kanatlılardan ve insanlardaki gastro-enterit olgularından *S. Enteritidis*'in izolasyonunda önemli oranda artış bildirilmektedir (Hatipoğlu ve ark., 1969; Aksoycan ve ark., 1991; Büget ve ark., 1992; Karagül ve ark.1992).

Kanathılar hiçbir klinik belirti göstermeden *Salmonella* etkenlerini taşıyabilirler ve çevreyi kontamine ettikleri gibi ürünleriyle insanlarda gıda zehirlenmelerine neden olmaktadır. (Cooper ve ark., 1989; Hassan ve Curtis, 1990; Minbay ve Akay, 1979).

2.3.5. *Escherichia coli*

Escherichia coli, *Enterobacteriaceae* familyasına ait, gram negatif, laktoz negatif, sporsuz, çubuk şeklinde, fakültatif anaerob, hareketli bir bakteri olup insan ve çoğu sıcak kanlı hayvanın doğal bağırsak florasında bulunmaktadır. *E. coli*, gıda mikrobiyolojisinde su ve çeşitli gıdalarda fekal kontaminasyonun indikatörü olarak önem taşımaktadır ve patojenik suşların, ishale yol açan enfeksiyonlar, idrar yolları enfeksiyonları, menenjit, sepsis gibi çeşitli hastalıklara neden olabilmektedir (Ünlütürk ve ark., 1998).

E. coli hastalık oluşturma mekanizmalarına göre 5 grupta toplanmaktadır:

Enterotoksijenik (ETEC), enteropatojenik (EPEC), enteroaggregatif (EaggBC), enterohemorajik (EHEC), enteroinvazif (EEC) (Anon, 2007d).

ETEC toksin etkisi ile hastalık yapmakta olup, ısıya dirençli (ST) ve ısıya duyarlı (LT) olmak üzere iki tür toksin üretmektedir. İki tür LT vardır. LT-I ve LT-II. Bunlardan LT-I Kolera toksinine benzer bir yapı ve etkiye sahiptir (Anon, 2007d).

EPEC, özellikle bebeklerde ishale neden olmaktadır. İlk bulgular hafif kilo kaybı ve karın ağrısıdır. Hastalığın devamında huzursuzluk, beslenme güçlüğü ortaya çıkmaktadır. Dışkı; sulu, sarı-yeşil renklidir, kan ve mukus içermez. Tedavi edilmediği takdirde hastalık ilerler ve süresi uzayabilir. Bir yaşında sonra bebekler bu hastalığa karşı bağışıklık kazanmaktadırlar (Anon, 2007e).

EaggEC ise, seyahat ishallerinin nedeni olarak bilinmektedir (Anon, 2004a).

EHEC, karın kramplarıyla birlikte ishale neden olmaktadır. İshal hafif sulu bir ishal şeklinde olabileceği gibi kanlı ishal şeklinde de olabilmektedir. En yaygın serotipi *E. coli* O157:H7'dir. Hemorajik koliti (3-9 günde açığa çıkan şiddetli karın krampları, 24 saat içinde sulu ishal görülmekte ve daha sonra dışkısız kan şekline dönüşmesi söz konusu olabilmektedir), hemolitik üremik sendrom (HUS) çocuk ve

yaşlılarda görülmekte, çocuklarda akut böbrek yetmezliğine neden olmaktadır. Kanlı ishale başlayarak, kan pıhtılarının böbreklerdeki helezoni tüpleri tıkanması ve artık ürünlerin kanda birikmesi sonucu diyaliz tedavisi ve kan naklini gerektirecek böbrek yetmezliğine dönüşmektedir. Ölüm oranı yüksektir ve trombotik trombositopenik purpura (TTP) (HUS'a benzer klinik ve patolojik özellikler gösteren bir enfeksiyondur. Ancak beyinde oluşturduğu kan pıhtıları nedeniyle ölüm oranı çok yüksektir) sendromlarına neden olmaktadır (Ünlütürk ve ark., 1998)

EIEC ise, shigellozise (*Shigella dysenteriae*) benzer bir hastalığa neden olmaktadır. Yani bakteriler kolon epitel hücrelerine nüfuz ederek ulserasyon ve kanlı ishale neden olurlar. Kanlı ve mukuslu ishal, ateş ve karın krampları tipik belirtileri olarak bilinmektedir (Ünlütürk ve ark., 1998).

2.4. Mayalardan Karotenoid Üretimi ve Yapılan Bazı Çalışmalar

Karotenoidlerin gıdalarda renk verici olarak kullanılmasıyla, ticari sentetik β -karoten üretimine verilen önem artmıştır. Peynir, yağ, sosis ürünleri, meyve suyu ve diğer içecekler gibi gıdaların rengini geliştirmek amacıyla, karotenoid içerikleri yüksek olan havuç, palmiye yağı, annatto ve kırmızı biber ekstraktları kullanılmaktadır. Gıda maddelerine işleme sırasında katılan karotenoid grubu maddeler gıdanın hem rengini hem de besinsel değerini geliştirmektedir. Hayvan yemlerine (balık ve tavuk yemi vb.) karotenoid katılarak bu yemlerin besleyici değerinin artması sağlanmıştır (Borenstein ve Bunnell, 1966; Britton, 1992; Britigh ve ark., 1995; Vega ve ark., 1996).

Comi ve ark., (1982), fermente yoğurttan izole edilen maya türleri arasında *Rhodotorula rubra* saptadıklarını açıklamışlardır.

Karotenoidlerin, *R. muculaginosa*'yı oksidatif zararlara karşı koruyabilme yeteneğine sahip olup olmadığını anlamak üzere yapılan bir çalışmada sıvı kültürdeki maya hücreleri intraselüler O_2 'yi meydana getirdiği bilinen veya hiperoksik atmosfer (%80 O_2) şartları altında gelişebilen, karotenoid konsantrasyonunun intra veya ekstraselüler olarak değiştiren bir redoks-döngülü kinon olan dorukinon ile (DQ) (100 μM), inkübe edilmiştir. Her iki oksidatif etken, hücre gelişimini, karotenogenesis

difenilamin ilavesi (50 µM) ile bloke edene kadar etki etmektedir. Difenilamin ile muamele görmüş pigmentsiz hücrelerin gelişimi, DQ ve hiperoksia tarafından tamamen inhibe edilmiştir. Fenilalanin ile muamele görmüş hücrelere, 10 µM β-karoten ilave edildiğinde, hiperoksia veya DQ' nun neden olduğu hücre gelişiminin inhibisyonunu tamamen engellediği görülmüştür. Bundan dolayı karotenoidlerin aynı zamanda *R. mucilaginosa*'nın sitoksisitesini korumaya eğilimli olduğu saptanmıştır. β-karoten eklenmiş hücrelerin kloroform ekstraktının tayf absorpsiyon analizi, β-karoten, endogenous karotenoid torularhordin hariç, bu hücrelerde bulunan en önemli karotenoid olduğunu göstermiştir (Moore ve ark., 1989).

Phaffia spp., *Oosporidium spp.*, *Rhodospiridium spp.*, *Saitoella spp.* ve *Rhodotorula spp.* karotenoid oluşturan maya cinsleridir. *Phaffia rhodozyma*'da *Bacidiomycetous* mayası olup, tomurcuklanarak çoğalır ve seksüel üreme görülmez. *Xanophyllomyces dendrorhous* ise seksüel formudur (Barnett ve ark., 1990).

Rohm ve ark., (1990), Avusturyada doğal yoğurtların depolanmaları süresince mikroflorasını incelemiş ve araştırma sonunda izole edilen maya türleri arasında *Rhodotorula mucilaginosa* belirlediklerini açıklamışlardır.

Rhodotorula türlerinden en fazla elde edilen karotenoid türü β-karoten olduğunu belirtmişlerdir (Sedmak ve ark., 1990; Bindu ve ark., 1998).

Phaffia rhodozyma ise *Rhodotorula spp.*'den farklı olarak yüksek oranda astaksantin üretimi ile dikkat çekmiştir (Reed ve Nagodawthana, 1991; Malgalith, 1992; Acheampong ve Martin, 1995; Ahn, 1996).

Li ve ark., (1995), tropikal *Milicia excelsa* ağaçlarının maya populasyonunu incelemişler ve 62 maya izolatu elde etmişlerdir. Bu izolatların %1.5'ini *Rhodotorula minuta* ve % 1.5 'ni *Rhodotorula rubra* olarak saptamışlardır.

Rao ve Agarwal, (1999), domates'te doğal olarak bulunan bir karotenoid olan likopenin , serum içerisinde bulunan karotenoidler arasında önemli bir bileşen olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca, araştırmacılar likopenin yüksek miktarda adrenal bezlerde ve prostatta bulunabildiğini de belirtmişlerdir.

2.5. Doğal Antimikrobiyal Maddeler ile Yapılan Bazı Çalışmalar

Ehrich ve ark.(1995), 38 çeşit baharatın CO₂ ekstraksiyonu ile elde edilen uçucu yağlarının tipik bozulma mikroorganizmaları olan *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus plantarum*, *Penicillium crysogenum*, *Candida kruse* ve asidotolerans mikroorganizmalar olan *Lactobacillus casei subsp. rhamnosus*, *Aspergillus glaucus*, *Zygosaccharomyces rouxii* ve *Candida haemulonii*'ye karşı etkilerini araştırmışlardır. İncelenen ekstraktlar içinde en yüksek antimikrobiyal etkiyi gösterenler şerbetçi otu, defne yaprağı, karanfil, adaçayı, kekik, andızotu, tarhun, yaban kerevizi ve yabani mercan köşk olarak belirlenmiştir. Serbetçiotu ve tarçın ekstraktlarının antimikrobiyal etkisinin sorbik asit ve benzoik asit etkisine eşit, hatta daha fazla olduğu da tespit edilmiştir.

Taormina ve ark. (2001), balın hidrojen peroksit etkisi ve antioksidan gücü ile patojen mikroorganizmalar üzerindeki gelişimi engelleyici etkisini araştırmışlardır. Balın antimikrobiyal etkisinin içeriğindeki hidrojen peroksit ve fenolik bileşiklere bağlı olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmada balın, 6 farklı mikroorganizma (*Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, *Shigella sonnei*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus cereus*) üzerindeki antimikrobiyal etkisini karşılaştırmışlardır. Yaptıkları deneyler, patojenler üzerindeki zon oluşumunun, balın tipine ve konsantrasyonuna bağlı olduğunu ortaya koymuştur. Deney sonucunda *B. cereus* gelişiminin en az miktarda etkilendiği, *S. sonnei*, *Listeria monocytogenes* ve *S. aureus*' un gelişimlerinin ise % 25'lik bal çözültisi ile engellendiğini tespit etmişlerdir.

Gupta ve ark., (2002), *Eupatarium ayapana* bitkisinden ekstrakte edilen petrol eterinin deneyde kullanılan konsantrasyonlarda (250-1000 µg/ml), *Shigella dysenteriae* hariç, geniş bir spektrum oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Metanol'ün ise, petrol eterine oranla aynı mikroorganizmalara karşı daha düşük antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir.

Aydoğan ve Kıvanç'ın, (2002), yaptığı bir çalışmada, toprak ve su örneklerinden izole edilmiş olan beş bakterinin antimikrobiyal madde üretimi ve bu antimikrobiyal maddelerin test mikroorganizmaları üzerine minimal inhibe edici

konsantrasyonlarını (MIC) belirlemişlerdir. Elde ettikleri antimikrobiyal maddelerin *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogene*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella Typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Aspergillus parasiticus*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium moniizforme*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* ve *Penicillium sp.* üzerinde etkili olduğunu belirlemişlerdir.

Fleischer ve ark. (2002), *Bixa orellana* bitkisinin tohumlarının bazı mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkisini agar difüzyon metodunu kullanarak araştırmışlardır. *Bixa orellana* bitkisinin tohumlarının etanolik ekstraktlarının bütün gram-pozitif ve gram-negatif bakteriler ve *Candida albicans* gibi mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal aktivitesi gözlenmiştir.

Agnol ve ark. (2003), Güney Brezilya’da yetişen, 6 farklı *Hypericum* (Sarı Kantaron, Binbirdelik otu) cinsinin (*Hypericum caprifoliatum*, *Hypericum carinatum*, *Hypericum connatum*, *Hypericum ternum*, *Hypericum myrianthum* ve *Hypericum polyanthemum*) metanolik ekstraktlarının, birçok mikroorganizma üzerindeki antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır. *Hypericum caprifoliatum*, *S. aureus*’a en fazla antimikrobiyal etki gösteren cins olduğunu, *B. subtilis* ‘e karşı sadece *Hypericum polyanthemum* ve *Hypericum ternum* ekstraktlarının antimikrobiyal etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Araştırmada kullandıkları *Hypericum* bitkilerinin ekstraktlarından hiç birinin *Streptococcus epidermidis*, *Escherichia coli* ve *Saccharomyces cerevisiae* üzerinde antimikrobiyal etki göstermediğini belirtmişlerdir. Bu bitkilerin, kuersetin, hiperoksit (*H. connatum* hariç) ve az miktarda izokuersetin ve klorojenik asit içerdiğini tespit etmişlerdir.

Thiem ve Goslinska, (2003), yaptıkları bir çalışmada, *Rubus chamaemorus*’us yapraklarından ekstarakt’e edilen metanol ve elaiik asitin bazı gram-pozitif ve gram negatif bakteriler üzerindeki antimikrobiyal etkilerini disk difüzyon yöntemini kullanarak araştırmışlardır. Sonuç olarak, en fazla antimikrobiyal etkiyi, gram pozitif bakteriler (*S. aureus* ATCC 9538, *Staphylococcus epidermidis* NCTC 11047, *B. subtilis* ATCC6633, *Micrococcus luteus* NCTC9341) üzerinde gözlemlemişlerdir.

Navarro Garcia ve ark., (2003), yaptıkları bir çalışmada, Meksika’da

yetiştirilen ve iyileştirici etkisi olan bitkilerin ekstraktlarının, iki dermatofit fungusun (*Trichophyton men tagrohytes* ve *Trichophyton rubrum*), bir nondermatofit (*Aspergillus niger*) ve bir maya (*Candida albicans*) üzerindeki antimikrobiyal etkilerini araştırmışlar ve sonuç olarak, *Eupatorium aschenborniamum* ve *Sedum oxypetalum*'un heksan ekstraktı ile *Lysiloma acapulcensis* ve *Annona cherimolia* 'nın metanol ekstraktının en güçlü antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

Keşli ve ark., (2004), fusidik asidin, çeşitli örneklerden izole edilen stafilokoklar üzerine invitro etkisini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, metisilin ve fusidik asitin direnci agar disk difüzyon yöntemi ile araştırmışlardır. İzole edilen 122 *Stafilokok* suşunun büyük bir çoğunluğunun metisiline dirençli olduğu bulunmuştur.

Abbas ve Halkman (2004), sumak (*Rhus coriaria*) suyu ekstraktlarının, PH' nın 7,2 + 01 'e ayarlandığı ortamda, farklı konsantrasyonlarında, gram pozitif ve gram negatif bakteri üzerindeki antimikrobiyal etkilerini araştırmışlardır. Sonuç olarak, gram pozitif bakterilerin, gram negatiflere göre daha fazla etkilendiğini tespit etmişlerdir. Nötralize edilmemiş olan ekstraktın daha fazla antimikrobiyal etki gösterdiğini belirlemişlerdir. Ekstraktın her bir bakteri için minimum inhibitör konsantrasyonu (MIC), eğik plaka yöntemi ile analiz edilmiştir. Gram pozitif bakteriler arasında *B. cereus*, *Bacillus megaterium*, *B. subtilis* ve *Bacillus thuringiensis*'in (24 saatlik inkubasyon sonunda) % 0,25-0,32 MIC 'te en çok etkilenen bakteriler olduğu, *Staphylococcus aureus*'un da % 0.49 MIC'te etkilendiği, *Listeria monocytogenes*'in ise % 0,67 MIC'te bile en az etkilendiğini tespit etmişlerdir. Gram negatif bakteriler arasında ise *Salmonella Enteritidis*'in % 0,67 MIC'te en dirençli bakteri olduğunu ve bunu takiben *Escherichia coli* tip-1, *E. coli* 0157:H7, *Proteus vulgaris* ve *Hafnia alveri*'de %0.63, %0.60, %0.55 ve %0.45 MIC 'te dirençli olduğunu ve %0,42 MIC'te en az direnci gösteren bakterinin ise *Cytrobacter freundii* olduğunu tespit etmişlerdir.

Mundo ve ark (2004), değişik floradan ve coğrafi bölgelerden 27 bal örneği üzerine yaptıkları mikrobiyolojik analizlerde; balın gıdalarda bozulma etkeni olan mikroorganizmalardan *Alcaligene faecalis*, *Aspergillus niger*, *Bacillus*

stearothermophilus, *Geotrichum candidum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Penicillium expansum*, *Pseudomonas fluorescens* ve gıda zehirlenmesine neden olan *B. cereus*, *E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, *Salmonella* Typhimurium, ve *S. aureus* üzerine inhibe edici özellik gösterdiklerini tespit etmişlerdir. Yapılan çalışmada balın bu özelliğinin özel bir floraya ya da bölgeye bağlı olmadığı da tespit edilmiştir. Bakteriler üzerine balın antimikrobiyal etkisi tekdüze olmayıp değişiklik göstermekte olup antimikrobiyal aktiviteye en duyarlı mikroorganizma *B. stearothermophilus*, en az etkilenen mikroorganizmalar ise *S. Aureus*, *Pseudomonas expansum*, *Aspergillus niger*, *Geotrichum candidum* olarak saptanmıştır.

Yapılan bir çalışmada, *Candida krusei*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kloeckera apiculata* ve *Kluyveromyces africanus* mayalarının PHB (Poli-β-hidroksibütirat) üretimleri tespit edilmiştir. Mayalar, kuru hücre ağırlığına göre PHB üretim miktarı Kambucha çayından izole edilen maya suşlarında % 0.48-18.16 değerleri arasında, A.Ü.Z.F.'den temin edilen maya suşlarında %0.12-22.65 değerleri arasında saptanmıştır. Bu çalışmada PHB üretimi yüksek olan *Rhodotorula glutinis* var. *glutinis* 60 ve *Saccharomyces diastaticus* 27 suşlarının farklı karbon (%2 Mannitol, %2 Sakkaroz, %2 Arabinoz) ve azot (L-cystein, (NH₄)₂SO₄, Glisin, Protease peptone, DL- Tryptofan) kaynaklarındaki PHB üretimleri de tespit edilmiştir. *Rhodotorula glutinis* var. *glutinis* 60 suşunda farklı karbon kaynaklarına göre en yüksek PHB üretimi %2 Mannitol içeren besi ortamında (%21,95) tespit edilmiştir (Anon., 2005a).

Yapılan başka bir çalışmada *Aloe vera* ve *Nerium oleander* bitkilerinin alkol, su ve kloroform fazlarına alınan ürünlerinin 8 farklı bakteri ve 2 maya olmak üzere 10 mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmış. *Aloe vera*'nın *Nerium oleander*'e göre daha fazla antimikrobiyal aktivite gösterdiği görülmüştür (Çete ve ark., 2005)

Laktik asit bakterileri ile ilgili yapılan araştırmada, laktik asit bakterilerinin oluşturduğu bazı metabolik ürünlerin ayrı ayrı veya kombine halde patojen mikroorganizmalar üzerindeki etkileri belirlenmiştir. Bu çalışma için 5 adet *Lactobacillus bulgaricus* ve 5 adet de *Streptococcus thermophilus* suşu

kullanılmıştır. Suşların oluşturduğu metabolik ürünlerin (laktik asit, hidrojen peroksit, asetaldehit, diasetil) *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* (test bakterileri) üzerindeki inhibisyon etkileri tespit edilmiştir. Ayrıca suşların rastgele kombinasyonları oluşturularak metabolik ürünlerin ve test bakterilerine inhibisyon etkileri de belirlenmiş ve hidrojen peroksit, asetaldehit, diasetil gibi metabolitlerin inhibisyon etkisi belirlenemezken, laktik asidin 5-20 mg/ml konsantrasyonlarda test bakterileri üzerinde inhibisyon etkisi olduğu saptanmıştır (Anon., 2007c).

Dağcı ve Dığrak, (2005), yaptıkları bir çalışmada, *Punica 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 antibakteriyal ve antifungal aktiviteleri araştırılmış. Elde edilen ekstraktların antimikrobiyal etkisi, disk difüzyon ve oyuk agar metodu ile *Bacillus megaterium* DSM 32, *Aeromonas hydrophyla* UC 9165, *Corynebacterium xerosis* ATCC 15753, *Escherichia coli* DM, *Pseudomonas aeruginosa* DSM 50071, *Staphylococcus aureus* COWAN 1, *Micrococcus luteus* LA 2971, *Enterococcus faecalis* ATCC 7966 bakterileri ve *Kluyveromyces fragilis* DC 98, *Rhodotorula rubra* DC 86, *Saccharomyces cerevisiae* WET 136 üzerine test edilmiş. 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.

Park ve ark., (2005), laktik asit üreten bakteri kültürlerinin yoğunlaştırılmış karışımının (LCCM- lactic acid producing bacteria culture condensate mixture), *Salmonella* Enteritidis’e karşı test ettikleri araştırmalarında LCCM’nin bulunduğu ortamda, In vitro deneylerle optik yoğunluk (OD) ölçerek ve dirençli bakteri sayımı yaparak, bakteri gelişimini değerlendirmişlerdir. Elde ettikleri sonuçlarda, LCCM konsantrasyonu % 1.25-2.5 iken OD değerinin düşük, % 5 -10 iken OD değerinin tüm deney süresi boyunca artış göstermediği bildirilmiştir. İnkubasyondan 8 saat sonra, LCCM konsantrasyonu % 5 -10 olan besiyerinde dirençli bakteri sayısı şahit besiyerine göre daha düşük bulunmuştur. LCCM’nin antimikrobiyal etkisinin en önemli özelliği, mikroorganizma gelişimini engellemekten çok hücre ölümüne

neden olmasıdır. Sonuç olarak LCCM'ni *S. Enteritidis*'e karşı antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

Lu ve ark., (2005), yaptığı bir çalışmada, farklı periyotlarda (haziran, ağustos, ekim, kasım), Tayvan'ın çeşitli bölgelerinden (Taipei, Mingchien ve Fanglia) toplanan propolisinin (ağaçlarda bulunan, arıların topladığı yapışkan bir sıvı) etanolik ekstraktının (EEP) *Staphylococcus aureus* üzerine antimikrobiyal etkisini arttırmışlardır. Minimum bakterisit konsantrasyonu 7,5 ve 120 µg/ml arasındadır iken, EEP'nin *S. aureus*'a karşı minimum inhibitör konsantrasyonu 3,75'den 60 µg/ml'ye kadar test etmişlerdir. Diğer aylara oranla Ağustos ayında toplanan EEP'nin antibakteriyal aktivitesinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Deneyin sonlarına doğru *S. aureus* hücrelerinin EEP'ye karşı dayanıklılığının gittikçe azaldığı ve yüksek sıcaklık (37 °C) ve düşük Ph'nın EEP'nin antimikrobiyal aktivitesini arttırdığını belirlemişlerdir .

Durango ve ark., (2005), belli bir işleme tabi tutulan havuçlardan, mikrobiyolojik analizlerle, nişasta ve çitosan matriksinden oluşturulan yenilebilir bir film oluşturulan amaçlamışlardır. Elde ettikleri sonuçlarda, tatlı patates nişastası ve çitosandan oluşan yenilebilir filmin kullanımının, mikrobiyolojik gelişimin kontrol altında tutulabilmesi için uygulanabilir alternatif bir yöntem olduğunu tespit etmişlerdir.

Orsi ve ark., (2005), yaptıkları başka bir çalışmada ise propolisin *Salmonella* Typhimurium üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Makrofajın, *Salmonella* enfeksiyonunun ilk safhalarında önemli bir rol oynadığını belirlemişlerdir. İnkübasyondan 60 dakika sonra, hücreler, bakterisit etkiyi değerlendirmek için, *S. Typhimurium* kob sayısını, Mueller Hinton agar besiyerine ekim yaparak belirlemişlerdir. 24 saat sonunda, Bulgaristan ve Brezilya'dan temin edilen propolis konsantrasyonuna bağlı olarak antimikrobiyal etkisinin arttırdığını belirlemişlerdir.

Rodriguez ve ark., (2005), yaptıkları bir çalışmada, *Lactococcus lactis*'in suşlarından elde edilen ve pediosin üreten iki transformantın peynirin olgunlaştırılması sırasında *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* O157:H7 üzerindeki antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. Araştırmada kullanılan peynir bu üç bakteri ile aşılınmış olan süttten üretilmiştir.

Yaklaşık olarak 6 log cfu mL⁻¹ *Pediococcus acidilactici* 347 (Ped⁺), *Lactococcus lactis* ESI 153, *Lactococcus lactis* ESI 515 (Nis⁺) ve kendi pediosin üreten transformantları *Lactococcus lactis* CL1 (Ped⁺) ve *Lactococcus lactis* CL2 (Nis⁺, Ped⁺) % 1 oranında starter kültüre ek olarak ilave edilmiştir. 30 gün sonra ek kültür ilavesi yapılmamış olan şahit peynirde *Listeria monocytogenes*, *S. aureus* ve *E. coli* O157:H7 sayısının sırasıyla 5.30, 5.16 ve 4.14 log cfu g⁻¹ olduğunu belirlemişlerdir. 30. günde pediosin üreten türevler, *Lactococcus lactis* CL1 ve *Lactococcus lactis* CL2 *L. monocytogenes*, *S. aureus* ve *E. coli* O157:H7 gelişimini engellediğini tespit etmişlerdir. Sırasıyla elde edilen sayımların; 2,97 0,98 ve 0,40 log kob g⁻¹ olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar peynirlerin olgunlaştırılması sırasında söz konusu bakterilerin nisin ürettiklerini saptamışlardır.

2.6. Renk Maddelerinin Antimikrobiyal Etkileriyle İlgili Yapılan Bazı Çalışmalar

Kirtikar ve Basu'nun, (1994), *Caesalpinia pulcherrima* bitkisinin kabuğundan elde edilen glikozid, Latirol-3-fenilasetat-5, 15-diasetat (CP-2) bileşiklerinin antimikrobiyal etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, CP-2, önemli ölçüde antifungal ve antibakteriyal etki gösterdiğini bulmuşlardır. CP-2'nin, *Bacillus cereus* ve *Shigella dysenteriae* 'ya karşı inhibitor etki gösterdiği minimum konsantrasyon değerlerinin sırasıyla 64 ve 32 µg/ml olduğunu saptamışlardır. Sonuçlar, bu bitkinin yüksek dozda kullanılabileceğini ve yeni klinik deneyler için uygun olduğunu göstermiştir.

Garcia ve Casadevall, (2001), pigment üretebilen bir başka mikroorganizma olan, çoğunlukla okaliptus ağaçlarında ve kuş pisliklerinde bulunan ve melanin üretebilme yeteneğine sahip olan *Cryptococcus neoformans* mantarının AgNO₃'e karşı olan direncini araştırmışlardır. *Cryptococcus neoformans* melanin üretimine uygun olan ve olmayan iki farklı ortamda geliştirilmiştir. Melanizasyon ve Ag⁺ arasında ters bir etkileşim olduğu görülmüştür. Melanize olmayan süspansiyona melanin partikülleri ilave edildiğinde, *Cryptococcus neoformans* hücrelerinin AgNO₃ 'e olan direncinde artış olmuştur. Ag⁺ iyonunun melanin partiküllerini

bağlayıcılığı atomik absorpsiyon spektroskopi yöntemiyle kanıtlanmıştır. Araştırma sonuçları, *Criptococcus neoformans*'in melanizasyonunun, toksik ağır metallere karşı dayanıklılığı arttırdığını ve böylece melanin pigmentinin doğal çevreyi, toksik etkili ağır metallere karşı korumada önemli bir rol oynadığını göstermiştir.

Bozulma yapan ve patojenik bakterilere karşı bazı gıdalarda renklendirici ve baharat olarak kullanılan annatto ekstraktının antimikrobiyal etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, disk difüzyon ve tüp makro-dilüsyon teknikleri, suda eriyen annatto ekstraktının minimum engelleyici konsantrasyonu (MIC) belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Bozulma yapan ve patojen olan bakteriler 5×10^5 kob/ml 'ye kadar seyreltilmiştir. Disk difüzyon kontrolü için penisilin ve chloramphenicol diskler kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar, annattonun %16'lık MIC ile *Staphylococcus aureus* üzerinde engelleyici bir etkisi olduğu ve %5'lik annatto çözeltisi için inhibisyonun ortalama 14 mm çapında olduğunu göstermiştir. %0,63'e yakın konsantrasyon ise *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus casei*'nin gelişimini engellediği ve % 1,25'lik MIC 'in ise *Lactobacillus paracasei*, *Lactococcus lactis* ye *Bifidobacterium bifidum*'un gelişimini engellediği belirlenmiştir. *Escherichia coli* ve *Pseudomonas*'a karşı ise antimikrobiyal bir etki görülmemiştir (Anon., 2007 e)

Singh ve ark., (2004), *Quercus infectoria*'nın deneyde kullanılan mikroorganizmalar üzerinde en etkili ve maksimum zonu oluşturan kumaş boyası olduğu tespit edilmiştir. Minimum engelleyici konsantrasyon ise 5 µg'dan 40 µg'a kadar çeşitlilik göstermiştir. Sonuç olarak dokuma metaryallerinin bu boya maddeleri ile emdirilerek tekstil sektöründe kullanılabileceğini ortaya koymuşlardır.

Siriponyutikorn ve ark., (2005), yaptıkları bir çalışmada, Tayland'ın geleneksel çeşnisi Tom-Yum antimikrobiyal ve antioksidan etkisini araştırmışlardır. Tom-Yum'u oluşturan baharatlar arasında yer alan sarımsak, *Pseudomonas fluorescens* ATCC 49839, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus* ATCC 13565 ve *Listeria monocytogenes* 'e karşı en yüksek antimikrobiyal etkiyi gösterdiğini belirtmişlerdir. Oluşan zon genişliğini 2,0 cm olarak ölçmüşlerdir.

3.MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan Besi Yerleri ve Kimyasallar

Araştırmada, Nutrient Agar (Merck), Nutrient Broth (Merck), Yeast Malt Extrakt (YME) Agar, Yeast Malt Extrakt (YME) Broth kullanılmıştır. Kimyasal olarak da dilüsyon sıvısı kullanılmıştır.

Dilüsyon sıvısı: NaCl (Merck) 8,5g/l

Trypton veya pepton (Oxoid) 1,0g/l

Yukarıdaki maddeler 1 litre distile suda eritildikten sonra 121 °C’de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir.

3.1.2. Kullanılan Mikroorganizmalar

3.1.2.1. Bakteri kültürleri

Araştırmada patojen bakteri kültürleri olarak Ankara niversitesi gıda mühendisliği bölümü mikrobiyoloji laboratuvarına ait mikroorganizma koleksiyonunda ve Çukurova Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarına ve Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarına ait mikroorganizma koleksiyonunda bulunan ve izelge 3.1. de belirtilen bakteriler kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan bakteri kültürleri

Suş No	Suş Adı	Kaynak
B5	<i>Staphylococcus aureus</i>	Çukurova . Gıda mh.böl.
B9	<i>Bacillus subtilis</i>	Çukurova . Gıda mh.böl.
B41	<i>Bacillus cereus</i>	Ankara . Gıda mh.böl.
B42	<i>Salmonella Enteritidis</i>	Ankara . gıda mh.böl.
B43	<i>Escherichia coli</i>	Ankara . Gıda mh.böl.

3.1.2.2. *Rhodotorula glutinis* Suşları

Araştırmada daha önceden çeşitli gıda, toprak, bitki vb.'den izole edilerek tanımlanan Çukurova Üniversitesi Gıda mühendisliği bölümü mikrobiyoloji laboratuvarına ait mikroorganizma koleksiyonunda bulunan *Rhodotorula glutinis*'e ait 10 farklı suş kullanılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Bakteri kültürlerinin Üretilmesi

Stok kültürden, öze yardımıyla alınan bakteri örneği Nutrient agar besi yerine tek koloni düşürme tekniği ile ekilmiş, 30 °C 'de 24 saat süreyle inkubasyona bırakılarak bu süre sonunda tek bir koloni alınarak 5 ml 'lik Nutrient Broth 'a aşılanmıştır. 30 °C 'de 24 saat 'lik inkubasyon işleminden sonra gelişen bakteri kültürleri 5000devir/dk, 10 dakika santrifüj edilmiş ardından süpernatant döküldükten sonra tüpte kalan hücrelerin üzerine 1 ml steril saf su ilave sulandırılmış ve hazırlanan bakteri suspansiyonunun hücre miktarları ml 'de 10^3 , 10^6 ve 10^8 olacak şekilde spektrofotometre yardımı ile 578nm dalga boyunda optik yoğunlukları ölçülerek üç farklı konsantrasyonda ayarlanmış ve bu suspansiyonlar, *Rhodotorula glutinis* 'den ekstrakte edilen karotenoidlerin antimikrobiyal etkisini belirlemek amacıyla kullanılmıştır.

3.2.2. *Rhodotorula glutinis* spp. Suşlarından Karotenoid Ekstraksiyonu

Stok kültürden örnek alınarak YME agar üzerine çizme ekim yöntemiyle ekim yapılmış , 25 °C 'de 3 gün inkubasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda bir öze dolusu örnek alınmış, 5 ml YME Broth besiyerine ekim yapılmıştır.Daha sonra, 25 °C 'de 24 saat inkubasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda 0,1 ml örnek alınmış ve 5 ml 'lik YME Broth besiyerine ekim yapılarak, tekrar 25 °C'de 10 gün inkübe edilmiştir. Daha sonra 5000 devir/dk 10 dak santrifüj edilerek mayanın toplanması sağlanmıştır. Maya üzerine 1ml saf su ilave edilerek tekrar 5000 devir/dk 10 dak santrifüj işlemi yapılarak maya peletini yıkama işlemi 2 kez uygulanmıştır. Maya yıkama işleminden sonra, üzerine sırasıyla 1'er mililitre dimetilsülfoksit,

aseton, petrol eteri ve %20'lik NaCl ilave edilmiş ve daha sonra petrol eteri fazı alınarak spektrofotometrede 485nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapılmıştır (Martin, ve ark., 1993).

3.2.3. Antimikrobiyal Etkinin Belirlenmesinde Karotenoid Konsantrasyonunu Hesaplanması

Araştırmada kullanılan ve mayalardan ekstrakte edilen karotenoidlerin konsantrasyonu aşağıdaki formül ile belirlenmiştir.

$$\text{Toplam karotenoid } (\mu\text{g/ml}) = \frac{(A_x) \times D \times V}{E_1^{1\%}}$$

A_x:Absorbans değeri

D:Dilüsyon oranı

V:petrol eteri hacmi

E₁^{1%}:Toplam karotenoid için spesifik absorpsiyon katsayısı

(Farklı karotenoid türlerinin absorbans değeri ve spesifik absorpsiyon katsayısı Simpson ve ark., 1964 tarafından belirtilen çizelgeden alınmıştır.)

Açıklama: Kullanılacak absorbans değeri ve spesifik absorpsiyon katsayısı miktarı belirlenmek istenilen karotenoid türüne göre değişmektedir. Toplam karotenoid miktarında ise, maya türünün ürettiği karotenoidlerden en yüksek % oran içeren karotenoid türüne göre absorbans değeri ve spesifik absorpsiyon katsayısı belirlenmektedir. *Rhodotorula* 'da üretilen en yüksek karotenoid türü torulin (% 27) olarak bilinmektedir. Bu nedenle de toplam karotenoid miktarı belirlenirken torulin için verilen absorbans değeri ve spesifik absorpsiyon katsayısı formülde kullanılmaktadır (Simpson ve ark., 1964; Frengova ve ark., 1994; Bhosale ve Gadre, 2001).

Çizelge 3.2. Araştırmada kullanılan karotenoid konsantrasyonları ve izole edildikleri kaynaklar

Maya Suş No	Konsantrasyon (mg/ml)	Kaynak
M24	84,4	zm
M28	123	Patlıcan
M29	107	Ağaç yaprağı
M30	92,5	Bezelye
M35	94,2	Maydanoz
M37	89,4	Toprak
M39	87	Ağaç yaprağı
M40	95	Havuç
M42	98,2	Toprak
M47	99,7	Toprak

3.2.4. Maya Suşlarının Antibakteriyal Etkilerinin Belirlenmesi

Agar Kuyu Difüzyon” ve “ Minimal İnhibisyon konsantrasyonu ” yöntemleri kullanılarak karotenoidlerin antibakteriyal etkileri belirlenmiştir (Sßmuth ve ark., 1987; Rasooly, 2005; Moreira ve ark., 2005.)

3.2.4.1. Agar Kuyu Difüzyon Yöntemi ile Karotenoidlerin Antibakteriyal Etkilerinin Belirlenmesi

Agar Kuyu Difüzyon yöntemi ile karotenoidlerin antibakteriyal etkilerinin belirlenmesinde bakteri suspansiyonlarının her birinden bir petriye 1 ’er ml. dökme ekim yöntemiyle ekim yapılarak, katılaşan besiyerinde 4 cm aralıklarla 5 mm

apında kuyucuklar açılarak, bu kuyucuklar içerisine önceden konsantrasyonu belirlenen karotenoid zeltiilerinden ilave edilerek zon oluşumu değerlendirilmiştir Denemeler 3 tekrarlı yapılmıştır (Sbmuth ve ark., 1987).

3.2.4.2. MIC Yöntemi İle Karotenoidlerin Antibakteriyal Etkilerinin Belirlenmesi:

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 10^3 ve 10^6 kob/ml bakteri içeren ortamlara ilave edilmiştir (izelge 3.3).

24 saatlik inkübasyon süresi sonunda bulanıklık spektrofometrik olarak 600 nm dalga boyunda ölçülmüştür. lm sonucu bakteri sayısında %90’lık azalma gösteren konsantrasyon “Minimum inhibisyon konsantrasyon” değeri olarak belirlenmiştir. Aynı şekilde katı besiyerine yapılan ekimler sonucuda bakteri sayısında %90’lık azalma gösteren konsantrasyon “Minimum inhibisyon konsantrasyon” (MIC) değeri ve bakteri sayısında %99,9’luk azalma gösteren konsantrasyon ise “Minimum bakterisidal konsantrasyon” (MBC) değeri olarak belirlenmiştir. Denemeler 3 tekrarlı yapılmıştır (Moreira ve ark., 2005; Rasooly, 2005).

Çizelge 3.3. MIC yönteminde kullanılan karotenoid konsantrasyonları

Maya suş no	%95'lik (mg/ml)	%90'lık (mg/ml)	%85'lik (mg/ml)	%80'lik (mg/ml)	%75'lik (mg/ml)
M24	80,18	75,96	71,74	67,52	63,30
M28	116,85	110,7	104,5	98,40	92,25
M29	101,65	96,3	90,95	85,60	80,25
M30	87,87	83,25	78,62	74	69,37
M35	89,49	84,78	80,07	75,36	70,65
M37	53,58	50,76	47,94	71,52	67,05
M39	82,15	77,83	73,5	69,60	65,25
M40	90,34	85,59	80,83	76,08	71,32
M42	86,64	82,08	77,52	78,56	73,65
M47	89,01	83,76	79,1	74,45	69,80

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Bu araştırmada 10 farklı *Rhodotorula glutinis* suşundan izole edilmiş karotenoid ekstraktlarının, 5 farklı gıda patojeni bakteri üzerindeki antibakteriyal etkilerinin belirlenmesinde Agar kuyu difüzyon ve MIC yöntemleri kullanılmıştır.

4.1. *Rhodotorula glutinis*'den Elde Edilen Karotenoid Ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* (B5) Üzerine Antibakteriyal Etkisi

Yapılan araştırmada, *Rhodotorula glutinis* 'e ait çeşitli suşlardan elde edilen karotenoidlerin *Staphylococcus aureus* (B5) üzerine antibakteriyal etkileri incelenmiş; M28 (123mg/ml), M35 (94,2 mg/ml), M37 (56,4 mg/ml), M40 (95,1 mg/ml) ve M47 (93,7mg/ml) suşlarından elde edilen karotenoid ekstraktlarının etkili olmadığı gözlenirken diğer suşlardan elde edilen karotenoidlerde, ortamda bulunan *S. aureus* (B5) sayısı arttıkça antibakteriyal etkinin azaldığı ve *S. aureus* sayısının 10^8 kob/ml olması durumunda antibakteriyal etkinin oluşmadığı (zon oluşumu gözlenmemiştir) belirlenmiştir. Özellikle üzümünden elde edilen M24 (84,4mg/ml) nolu *Rhodotorula glutinis* 'e ait karotenoid suşu *S. aureus* üzerine en fazla antibakteriyal etkiyi gösterirken, en az antibakteriyal etkiyi ise topraktan elde edilen M42 (91,2 mg/ml) nolu karotenoid suşunun gösterdiği saptanmıştır (Çizelge 4.1 ve 4.2).

Çizelge 4.1. *Rhodotorula glutinis* 'den elde edilen karotenoid ekstraktlarının 10^3 kob/ml sayısındaki *Staphylococcus aureus* (B5) üzerine antibakteriyal etkileri*

Maya Suş no	1. deneme	2. deneme	3. deneme	Ortalama
M24	17	16	18	17
M28	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M29	14	17	16	15,7
M30	18	15	17	16,7
M35	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M37	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M39	18	15	16	16,3
M40	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M42	17	9	13	13
M47	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok

* inhibisyon zonu:mm

Çizelge 4.2. *Rhodotorula glutinis* 'den elde edilen karotenoid ekstraktlarının 10^6 kob/ml sayısındaki *Staphylococcus aureus* (B5) üzerine antibakteriyal etkileri*

Maya Suş no	1. deneme	2. deneme	3. deneme	Ortalama
M24	9	8	10	9
M28	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M29	8	9	9	8,6
M30	10	9	8	9
M35	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M37	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M39	10	8	10	8,3
M40	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M42	9	9	8	8,6
M47	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok

* inhibisyon zonu:mm

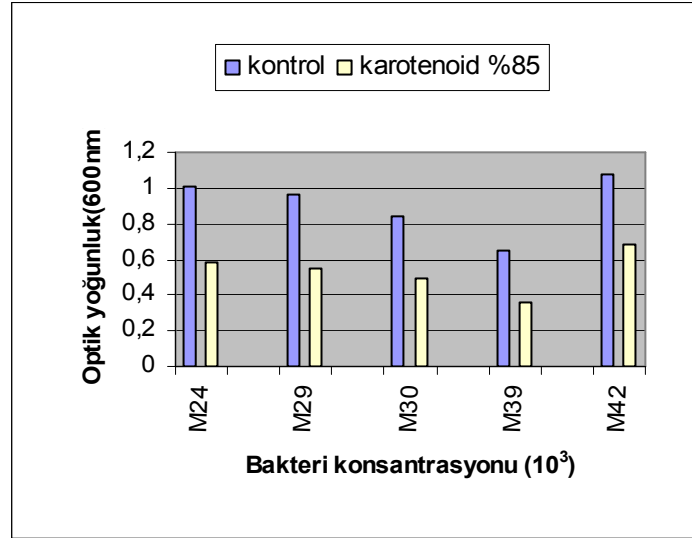


Resim 4.1. *Rhodotorula glutinis*'den elde edilen karotenoid ekstraktlarının *S. aureus* (B5) üzerine antibakteriyal etkileri (ortadaki kuyu :kontrol)

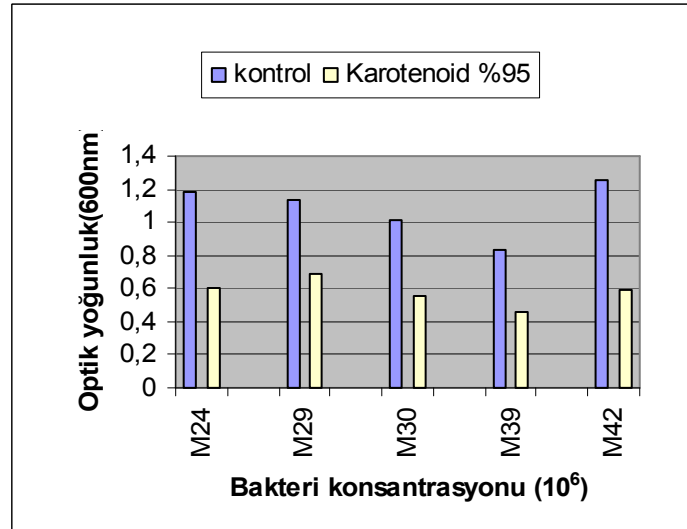
Çalışmamızda kullandığımız difüzyon yönteminde agar içerisine giren ve mikroorganizma ile etkileşen karotenoid ekstraktının miktarı tam olarak bilinmemektedir. Bunun nedeni; farklı karotenoid ekstraktlarının besiyerine difüze olma katsayılarının birbirinden farklılık göstermesi, dolayısıyla difüze olan madde miktarının değişiklik göstermesidir. Bu nedenden dolayı da karotenoid ekstraktlarının minimal inhibisyon konsantrasyon değerinin belirlenmesi oldukça güçtür. Buna karşın kullandığımız MIC yönteminde mikroorganizma ile etkileşen test maddesi miktarı tam olarak bellidir ve test maddesinin, dilüsyonları yapılarak düzenli şekilde azalan konsantrasyonlar elde etmek bu sayede de MIC konsantrasyonunu belirlemek mümkün olmuştur. Bu yöntemin bir avantajı da çok düşük miktarlarda test maddesi ile MIC değeri belirleme imkanı sağlamasıdır.

S. aureus (B5) üzerine antibakteriyal etkili *Rhodotorula glutinis* suşlarının MIC değerleri; M24 (84,4mg/ml), M29 (107 mg/ml), M30 (92,5 mg/ml), M39 (87mg/ml), M42 (91,2mg/ml) nolu suşların 10^3 kob/ml bakteri sayısı için MIC değerleri %85 'lik [M24 71,74mg/ml), M29 (90,95mg/ml), M30 (78,62mg/ml), M39 (73,75mg/ml), M42 (77,52)] karotenoid konsantrasyonu olup, bakteri sayısı 10^6 kob/ml çıktığında MIC değerleri %95 'lik [M24 (80,18mg/ml), M29 (101,65mg/ml), M30 (87,87mg/ml), M39 (82,15mg/ml), M42 (86,64mg/ml)] karotenoid konsantrasyonudur. *S. aureus* (B5) üzerine antibakteriyal etkili *Rhodotorula glutinis* suşlarının MBC değerleri; M24 (80,18mg/ml), M29 (101,65mg/ml), M30 (87,87mg/ml), M39 (82,15mg/ml), M42 (86,64mg/ml) nolu suşların 10^3 kob/ml

bakteri sayısı için MBC değerleri %95 'lik karotenoid konsantrasyonu olup, bakteri sayısı 10^6 kob/ml çıktığında MBC değerleri belirlenememiştir (Şekil 4.1 ve 4.2).



Şekil 4.1. *Rhodotorula glutinis*'den elde edilen %85'lik karotenoid ekstraktlarının 10^3 kob/ml sayısındaki *Staphylococcus aureus* (B5) üzerine antibakteriyal etkileri



Şekil 4.2. *Rhodotorula glutinis*'den elde edilen %95'lik karotenoid ekstraktlarının 10^6 kob/ml sayısındaki *Staphylococcus aureus* (B5) üzerine antibakteriyal etkileri

Kısaca bakteri sayısı 10^6 kob/ml olduğunda karotenoid konsantrasyonlarının bakterisidal etkisi gözlenmemiştir. Sonuçlardan da anlaşıldığı üzere karotenoidlerin *S. aureus* (B5) üzerine antibakteriyal etkisinin karotenodin konsantrasyonuna göre değişmediği ancak, elde edildiği *Rhodotorula glutinis* suşuna ve ortamdaki bakteri sayısına göre değiştiği saptanmıştır. Ortamdaki bakteri sayısının artması durumunda, *R. glutinis* suşlarının antibakteriyal etkilerinin giderek azaldığı ve bakteri sayısı 10^8 kob/ml olduğunda antibakteriyal etkinin oluşmadığı belirlenmiştir.

Mundo ve ark., (2004), değişik floradan ve coğrafi bölgelerden 27 bal örneği üzerine yaptıkları mikrobiyolojik analizlerde; balın *Staphylococcus aureus* üzerine inhibe edici özellik gösterdiklerini tespit etmişlerdir.

Fleischer ve ark., (2002), Bixa orellana bitkisi tohumlarının *S. aureus* üzerinde antibakteriyal etkisi olduğunu saptamışlardır.

Yine Lu ve ark, (2005), propolisin etanolik ekstraktının, *S. aureus* üzerine antibakteriyal etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Dağcı ve Dığrak., (2005), bazı meyve ekstraktlarının antibakteriyal ve antifungal etkisini araştırdıkları bir çalışmada ise; elde edilen ekstraktların aseton, etil alkol ve sulu ekstraktlarının *S. aureus* üzerinde etkili olduğunu tespit etmişlerdir.

Lonergan ve ark., (1992), *Centaurea sonchifolia* bitkisinin toprak üstü kısımlarından izole edilen onopordopikrin'in antibakteriyal etkisi disk difüzyon yöntemi ile incelenmiş ve araştırma sonucunda, onopordopikrin'in *S. aureus* 'a karşı etkili olduğu belirtilmiştir.

4.2. *Rhodotorula glutinis*'den Elde Edilen Karotenoid Ekstraktlarının *Bacillus subtilis* (B9) Üzerine Antibakteriyal Etkisi

Yapılan araştırmada, *Rhodotorula glutinis* 'e ait çeşitli suşlardan elde edilen karotenoidlerin *Bacillus subtilis* (B9) üzerine antibakteriyal etkisi incelenmiş M24 (84,4mg/ml), M30 (92,5mg/ml), M39 (86,48mg/ml) ve M42 (91,2mg/ml) suşlarından elde edilen karotenoid ekstraktlarının etkili olmadığı, M28 (123mg/ml) ve M37 (56,4mg/ml) nolu suşlardan elde edilen karotenoid ekstraktlarının ise

ortamdaki *B. subtilis* (B9) sayısının 10^6 kob/ml olması durumunda antibakteriyal etki göstermediği belirlenmiştir.

M29 (107mg/ml), M35 (94,2mg/ml), M40 (95,1mg/ml) ve M47 (93,07mg/ml) nolu suşlardan elde edilen karotenoid ekstraktları ise, ortamda bulunan *B. subtilis* (B9) sayısının 10^6 kob/ml olması durumunda antibakteriyal etkinin azalmasına karşın hala devam ettiği belirlenmiştir. *B. subtilis* (B9) sayısının 10^8 kob/ml olması durumunda ise *Rhodotorula glutinis* suşlarından elde edilen karotenoid ekstraktlarının antibakteriyal etki göstermediği belirlenmiştir. Ayrıca maydanozdan izole edilen M35 (94,2mg/ml) nolu suşun *B. subtilis* üzerine en fazla antibakteriyal etki gösterdiği, en az antibakteriyal etkiyi ise patlıcandan izole edilen M28 (123mg/ml) nolu karotenoid suşunun gösterdiği saptanmıştır (Çizelge 4.3 ve 4.4).

Çizelge 4.3. *Rhodotorula glutinis*'den elde edilen karotenoid ekstraktlarının 10^3 kob/ml sayısındaki *Bacillus subtilis* (B9) üzerine antibakteriyal etkileri*

Maya Suş no	1. deneme	2. deneme	3. deneme	Ortalama
M24	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M28	10	6	8	8
M29	8	11	10	9,6
M30	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M35	11	13	12	12
M37	8	10	10	9,3
M39	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M40	10	11	12	11
M42	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M47	12	9	13	11,3

* inhibisyon zonu:mm

Çizelge 4.4. *Rhodotorula glutinis* 'den elde edilen karotenoid ekstraktlarının 10^6 kob/ml sayısındaki *Bacillus subtilis* (B9) üzerine antibakteriyal etkileri*

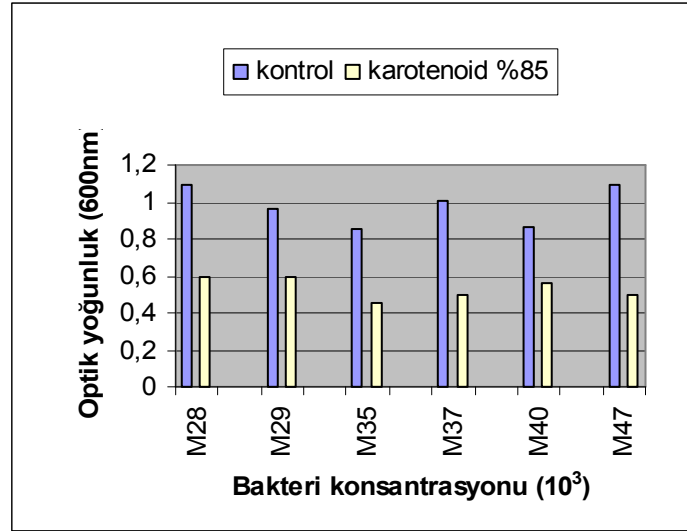
Maya Suş no	1. deneme	2. deneme	3. deneme	Ortalama
M24	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M28	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M29	6	6	6	6
M30	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M35	7	7	6	6,6
M37	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M39	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M40	6	6	6	6
M42	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M47	6	6	7	6,3

* inhibisyon zonu:mm

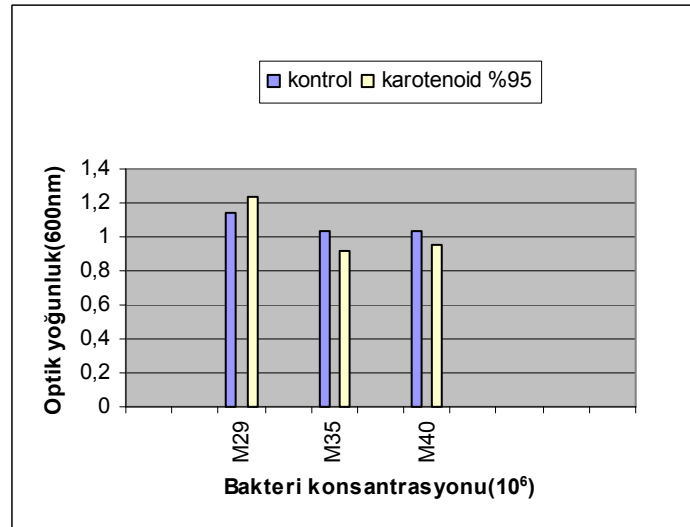


Resim 4.2. *Rhodotorula glutinis* 'den elde edilen karotenoid ekstraktlarının *B. subtilis* (B9) üzerine antibakteriyal etkileri (ortadaki kuyu :kontrol)

Bacillus subtilis (B9) üzerine antibakteriyal etkili *Rhodotorula glutinis* suşlarının MIC değerleri; M28 (123mg/ml), M29 (107mg/ml), M35 (94,2mg/ml), M37 (56,4mg/ml), M40 (95mg/ml), M47 (93,1mg/ml) nolu suşların 10^3 kob/ml bakteri sayısı için MIC değerleri %85'lik [M28 (104,5mg/ml), M29 (90,95mg/ml), M35 (80,07mg/ml), M37 (47,94mg/ml), M40 (80,83mg/ml), M47 (79,1mg/ml)] karotenoid konsantrasyonu olup, bakteri sayısı 10^6 kob/ml çıktığında en yüksek karotenoid konsantrasyonu olan %95 'lik karotenoid konsantrasyon değerinde dahi MIC değeri belirlenememiştir (Şekil 4.3 ve 4.4).



Şekil 4.3. *Rhodotorula glutinis*'den elde edilen %85'lik karotenoid ekstraktlarının 10³ kob/ml sayısındaki *Bacillus subtilis* (B9) üzerine antibakteriyal etkileri



Şekil 4.4. *Rhodotorula glutinis*'den elde edilen %95'lik karotenoid ekstraktlarının 10⁶ kob/ml sayısındaki *Bacillus subtilis* (B9) üzerine antibakteriyal etkileri

M28 (80,18mg/ml), M29 (101,65mg/ml), M35 (89,49mg/ml), M37 (53,58mg/ml), M40 (90,34mg/ml), M47 (89,01mg/ml) nolu suşların 10³ kob/ml bakteri sayısı için MBC değeri %95 lik karotenoid konsantrasyonu olarak saptanmıştır. Kısaca bakteri sayısı 10⁶ kob/ml olduğunda karotenoid konsantrasyonlarının bakteri üzerine inhibisyon ve bakterisidal etkisi

gözlenmemiştir. Sonuçlardan da anlaşıldığı üzere spor yapma özelliğine sahip *Bacillus subtilis* (B9)'in, karotenoid ekstraktlarına karşı dirençliliğinin araştırmada kullanılan diğer bakterilerde olduğu gibi, karotenoid konsantrasyonuna göre değil, elde edildiği *Rhodotorula glutinis* suşu ve ortamdaki bakteri sayısına göre değiştiği saptanmıştır.

Al-Howiriny (2003), *Salvia lanigera* bitkisinin uçucu yağını ekstrakte etmiş ve bu ekstraksiyonun *Bacillus subtilis*'e karşı oldukça iyi inhibisyon etkisi gösterdiğini rapor etmiştir. Abbas ve Halkman (2004), sumak (*Rhus coriaria*) suyu ekstraktlarının *B. subtilis* üzerine antibakteriyel etkili olduğunu saptamışlardır. Singh ve ark., (2004), doğal kumaş boyalarının arasında *B. subtilis* üzerine en fazla antibakteriyel etkiyi gösteren *Quercus infectoria* boyası olduğunu saptamışlardır.

4.3. *Rhodotorula glutinis*'den Elde Edilen Karotenoid Ekstraktlarının *Bacillus cereus* (B41) Üzerine Antibakteriyel Etkisi

Yapılan araştırmada, *Rhodotorula glutinis*'e ait çeşitli suşlardan elde edilen karotenoidlerin *Bacillus cereus* (B41) üzerine antibakteriyel etkileri incelenmiş, yine *Bacillus subtilis* (B9)'de olduğu gibi, M24 (84,4mg/ml), M30 (92,5mg/ml), M39 (86,48mg/ml) ve M42 (91,2mg/ml) suşlarından elde edilen karotenoid ekstraktlarının etkili olmadığı, M29 (107mg/ml), M37 (56,4mg/ml) ve M47 (93,7mg/ml) suşlarından elde edilen karotenoid ekstraktlarının ise ortamdaki *Bacillus cereus* (B41) sayısının 10^6 kob/ml ve 10^8 kob/ml olması durumunda antibakteriyel etki göstermediği belirlenmiştir. M28 (123mg/ml), M35 (94,2mg/ml) ve M40 (95,1mg/ml) suşlarından elde edilen karotenoid ekstraktlarında ise, ortamda bulunan *B. cereus* (B41) sayısının 10^6 kob/ml olması durumunda antibakteriyel etkinin azalmasına karşın hala devam ettiği belirlenmiş olup *B. cereus* (B41) sayısının 10^8 kob/ml olması durumunda ise *Rhodotorula glutinis* suşlarından elde edilen karotenoidlerin antibakteriyel etki göstermediği belirlenmiştir. *B. cereus* üzerine en fazla antibakteriyel etkiyi maydanozdan izole edilen M35 (94,2mg/ml) nolu suşun

gösterdiği, en az etkiyi ise topraktan izole edilen M37 (56,4mg/ml) nolu suşun gösterdiği saptanmıştır (Çizelge 4.5 ve 4.6).

Çizelge 4.5. *Rhodotorula glutinis* 'den elde edilen karotenoid ekstraktlarının 10^3 kob/ml sayısındaki *Bacillus cereus* (B41) üzerine antibakteriyal etkileri*

Maya Suş no	1. deneme	2. deneme	3. deneme	Ortalama
M24	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M28	9	7	10	8,6
M29	7	9	8	8,3
M30	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M35	11	10	12	11
M37	6	7	7	6,6
M39	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M40	8	10	9	9
M42	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M47	8	7	10	8,3

* inhibisyon zonu:mm

Çizelge 4.6. *Rhodotorula glutinis* 'den elde edilen karotenoid ekstraktlarının 10^6 kob/ml sayısındaki *Bacillus cereus* (B41) üzerine antibakteriyal etkileri*

Maya Suş no	1. deneme	2. deneme	3. deneme	Ortalama
M24	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M28	6	6	6	6
M29	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M30	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M35	6	7	7	6,6
M37	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M39	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M40	6	7	6	6,6
M42	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M47	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok

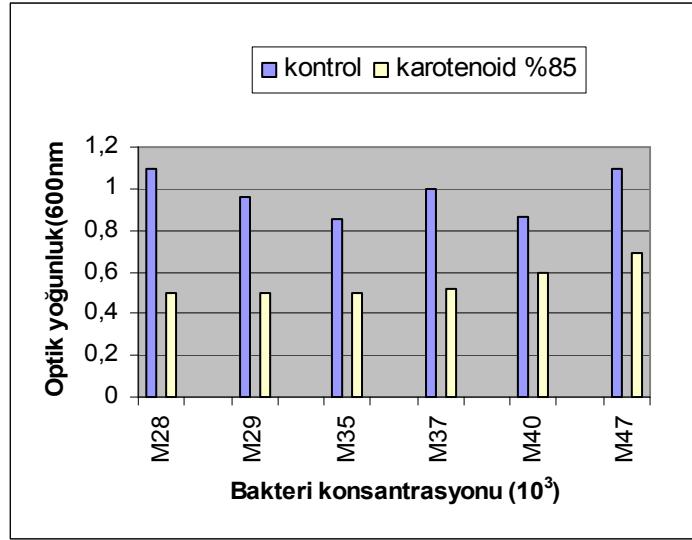
* inhibisyon zonu:mm



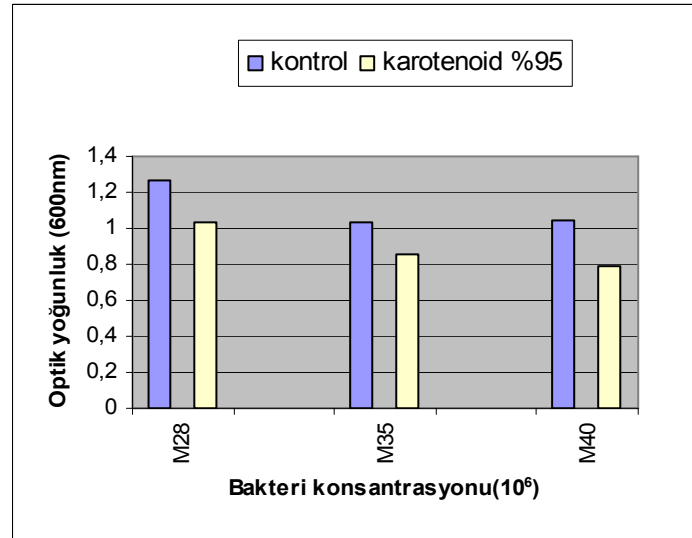
Resim 4.3. *Rhodotorula glutinis*'den elde edilen karotenoid ekstraktlarının *B. cereus* (B41) üzerine antibakteriyal etkileri (ortadaki kuyu :kontrol)

Bacillus cereus (B41) üzerine antibakteriyal etkili *Rhodotorula glutinis* suşlarının MIC değerleri; M28 (123mg/ml), M29 (107mg/ml), M35 (94,2mg/ml), M37 (56,4mg/ml), M40 (95mg/ml), M47 (93,1mg/ml) nolu suşların 10^3 kob/ml bakteri sayısı için MIC değerleri %85'lik [M28 (104,5mg/ml), M29 (90,95mg/ml), M35 (80,07mg/ml), M37 (47,94mg/ml), M40 (80,83mg/ml), M47 (79,1mg/ml)] karotenoid konsantrasyonu olup, bakteri sayısı 10^6 kob/ml çıktığında en yüksek karotenoid konsantrasyonu olan %95 'lik karotenoid konsantrasyon değerinde dahi MIC değeri belirlenememiştir (Şekil 4.3 ve 4.4).

M28 (116,85mg/ml), M29 (101,65mg/ml), M35 (89,49mg/ml), M37 (53,58mg/ml), M40 (90,34mg/ml), M47 (89,01mg/ml) nolu suşların 10^3 kob/ml bakteri sayısı için MBC değeri %95 'lik karotenoid konsantrasyonu olarak saptanmıştır. Kısaca bakteri sayısı 10^6 kob/ml olduğunda karotenoid konsantrasyonlarının bakteri üzerine inhibisyon ve bakterisidal etkisi gözlenmemiştir.



Şekil 4.5. *Rhodotorula glutinis*'den elde edilen %85'lik karotenoid ekstraktlarının 10³ kob/ml sayısındaki *Bacillus cereus* (B41) üzerine antibakteriyal etkileri



Şekil 4.6. *Rhodotorula glutinis*'den elde edilen %95'lik karotenoid ekstraktlarının 10⁶ kob/ml sayısındaki *Bacillus cereus* (B41) üzerine antibakteriyal etkileri

Sonuçlardan da görüldüğü üzere, spor yapma özelliğine sahip *Bacillus cereus*'un, karotenoid ekstraktlarına karşı dirençliliğinin, araştırmada kullanılan diğer bakterilerde olduğu gibi, karotenoid konsantrasyonuna göre değişmediği ancak, elde edildiği *Rhodotorula glutinis* suşu ve ortamdaki bakteri sayısına göre değiştiği

saptanmıştır. Ayrıca araştırmada kullanılan her iki *Bacillus* türü bakterinin de aynı *Rhodotorula glutinis* suşlarına karşı hemen hemen aynı derecede hassas ve dirençli olduğu gözlenmiş olup,gerek *Bacillus subtilis* gerekse *Bacillus cereus* bakterisi üzerine karotenoid konsantrasyonu sırasıyla 84.4, 92.5, 87 ve 98.2 mg/ml olan, M24, M30, M39 ve M42 nolu suşların antibakteriyal etkisine rastlanmamıştır.

Pradhan ve ark., (1999), yeşil biber (*Piper nigrum* L.)’de bulunduğu bildirilen iki yeni fenolik bileşiğin *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* ve *Escherichia coli*’ye karşı antimikrobiyal etkinliğini incelemişlerdir. İncelenen 3,4-dihydroxyphenyl ethanol glucoside ve 3,4-dihydroxy-6-(N-ethylamino) benzamide maddeleri test edilen 4 patojen bakterinin üremesini inhibe edici özellikte bulunmuşlardır.

Meena ve Vijay (1994), kimyon, zencefil, kişniş, fesleğen ve karanfil ile eugenol ve allilisotiyosiyanat (hardaluçucu yağı)’ın antimikrobiyal aktivitesinin test edildiği bir çalışmada *Lactobacillus acidophilus*, *Bacillus cereus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Mycoderma* sp. ve *Aspergillus niger* test mikroorganizmaları olarak kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, hardal yağı en yüksek antimikrobiyal etkiyi göstermiştir. Test edilen mikroorganizmalar içinde dayanıklılığın, *B. cereus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus niger* ve *Mycoderma* sp. sırasına göre azaldığı tespit edilmistir.

4.4. *Rhodotorula glutinis*’den Elde Edilen Karotenoid Ekstraktlarının *Salmonella* Enteritidis (B42) Üzerine Antibakteriyal Etkisi

Yapılan araştırmada, *Rhodotorula glutinis*’e ait çeşitli suşlardan elde edilen karotenoidlerin *Salmonella* Enteritidis (B42) üzerine antibakteriyel etkileri incelenmiş sadece M39 (86,48mg/ml) nolu suşdan elde edilen karotenoid ekstraktının etkili olmadığı gözlenirken diğer suşlardan elde edilen karotenoidlerde, ortamda bulunan *S. Enteritidis* (B42) sayısının 10^6 kob/ml olması durumunda bile antibakteriyal etkinin azalmasına karşın hala devam ettiği belirlenmiş olup *S. Enteritidis* (B42) sayısının 10^8 kob/ml olması durumunda ise *Rhodotorula glutinis* suşlarından elde edilen karotenoid ekstraktlarının

antibakteriyal etki göstermediği belirlenmiştir. *S. Enteritidis* üzerine en etkili *Rhodotorula glutinis* suşunun topraktan izole edilen M47 (93,07mg/ml) nolu suş olduğu, en az etki gösterenin ise havuçtan izole edilen M40 (95,1mg/ml) nolu suş olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.7 ve 4.8).

Çizelge 4.7. *Rhodotorula glutinis* 'den elde edilen karotenoid ekstraktlarının 10^3 kob/ml sayısındaki *Salmonella* Enteritidis (B42) üzerine antibakteriyal etkileri*

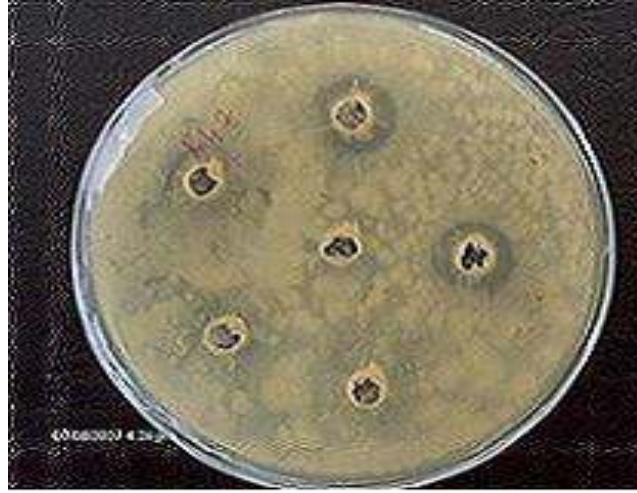
Maya Suş no	1. deneme	2. deneme	3. deneme	Ortalama
M24	13	12	13	12,6
M28	9	12	13	11,3
M29	12	10	14	12
M30	11	11	13	11,6
M35	10	14	16	13,3
M37	14	16	11	13,7
M39	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M40	13	11	10	11,3
M42	12	13	10	11,7
M47	14	15	16	15

* inhibisyon zonu:mm

Çizelge 4.8. *Rhodotorula glutinis* 'den elde edilen karotenoid ekstraktlarının 10^6 kob/ml sayısındaki *Salmonella* Enteritidis (B42) üzerine antibakteriyal etkileri*

Maya Suş no	1. deneme	2. deneme	3. deneme	Ortalama
M24	7	7	8	7,3
M28	6	6	6	6
M29	6	7	7	6,6
M30	6	6	6	6
M35	6	8	8	7,3
M37	8	8	6	7,3
M39	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M40	6	6	7	6,3
M42	7	7	6	6,6
M47	8	8	7	7,6

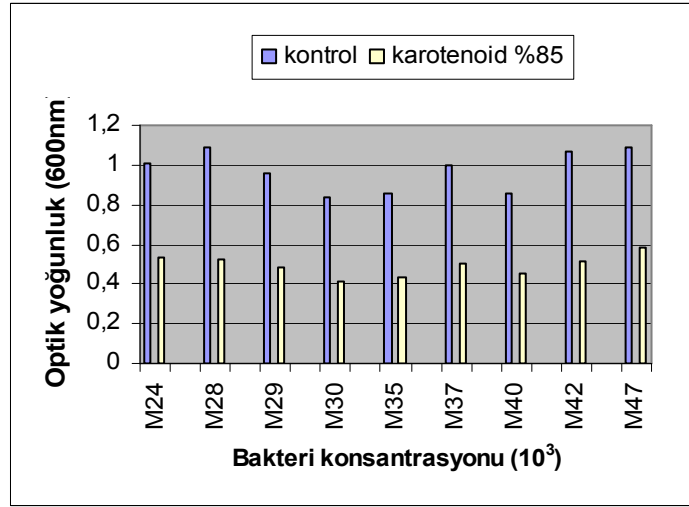
* inhibisyon zonu:mm



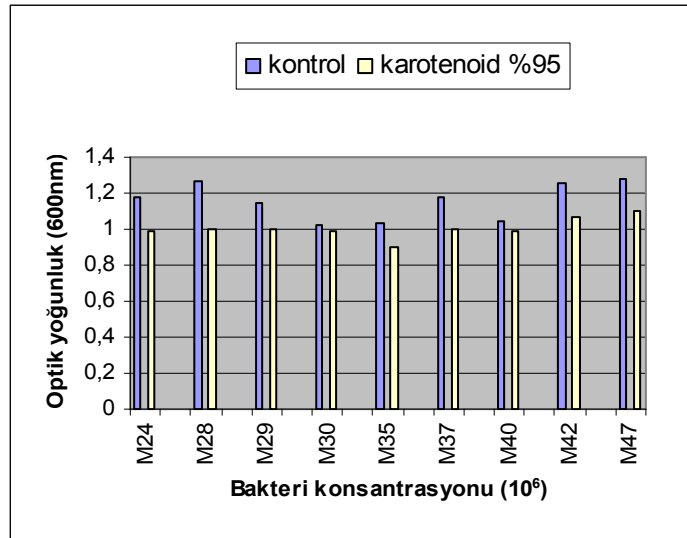
Resim 4.4. *Rhodotorula glutinis*'den elde edilen karotenoid ekstraktlarının *S. Enteritidis* (B42) üzerine antibakteriyal etkileri (ortadaki kuyu :kontrol)

Salmonella Enteritidis (B42) üzerine antibakteriyal etkili *Rhodotorula glutinis* suşlarının MIC değerleri; karotenoid konsantrasyonları sırasıyla, 84.4, 123, 107, 92.5, 94.2 ,89.4 ,95.1 ,98.2 ve 93.07 mg/ml olan, M24, M28, M29, M30, M35, M37, M40, M42 ve M47 nolu suşların 10^3 kob/ml bakteri sayısı için MIC değerleri %85'lik [M24 (71,74mg/ml), M28 (10,5mg/ml), M29 (90,95mg/ml), M30 (78,62mg/ml), M35 (80,07mg/ml), M37 (47,94mg/ml), M40 (80,83mg/ml), M42 (77,52mg/ml), M47 (79,1mg/ml)] karotenoid konsantrasyonu olup, bakteri sayısı 10^6 kob/ml çıktığında en yüksek karotenoid konsantrasyonu olan %95'lik karotenoid konsantrasyon değerinde dahi MIC değeri belirlenememiştir (Şekil 4.7 ve 4.8).

Karotenoid konsantrasyonları sırasıyla, 84.4, 123, 107, 92.5, 94.2, 89.4, 95.1 ,98.2 ve 93.07 mg/ml olan, M24, M28, M29, M30, M35, M37, M40, M42 ve M47 nolu suşların 10^3 kob/ml bakteri sayısı için MBC değerleri %95'lik [M24 (80,18mg/ml), M28 (116,85mg/ml), M29 (101,65mg/ml), M30 (87,87mg/ml), M35 (89,49mg/ml), M37 (53,58mg/ml), M40 (90,34mg/ml) , M42 (86,64mg/ml) , M47 (89,01mg/ml)] karotenoid konsantrasyonu olarak belirlenmiştir. Bakteri sayısı 10^6 kob/ml olduğunda karotenoid konsantrasyonlarının bakteri üzerine inhibisyon ve bakterisidal etkisi gözlenmemiştir (Şekil 4.7 ve 4.8).



Şekil 4.7. *Rhodotorula glutinis*'den elde edilen %85'lik karotenoid ekstraktlarının 10³ kob/ml sayısındaki *Salmonella* Enteritidis (B42) üzerine antibakteriyal etkileri



Şekil 4.8. *Rhodotorula glutinis*'den elde edilen %95'lik karotenoid ekstraktlarının 10⁶ kob/ml sayısındaki *Salmonella* Enteritidis (B42) üzerine antibakteriyal etkileri

Genel olarak, *Salmonella* Enteritidis (B42) suşunun, *Bacillus* suşlarına göre karotenidlere daha duyarlı oldukları gözlenmiştir. Ayrıca *Salmonella* Enteritidis'in, karotenoid ekstraktlarına karşı dirençliliğinin araştırmada kullanılan diğer

bakterilerde olduğu gibi, karotenoid konsantrasyonuna göre değişmeyip, elde edildiği *Rhodotorula glutinis* suşu ve ortamdaki bakteri sayısına göre değiştiği bulunmuştur.

Abbas ve Halkman (2004), sumak (*Rhus coriaria*) suyu ekstraktlarının *S. Enteritidis* üzerine antibakteriyal etki göstermediklerini saptamışlardır.

4.5. *Rhodotorula glutinis*'den Elde Edilen Karotenoid Ekstraktlarının *Escherichia coli* (B43) Üzerine Antibakteriyal Etkisi

Araştırmada, *Rhodotorula glutinis*'e ait çeşitli suşlardan elde edilen karotenoid ekstraktlarının *Escherichia coli* (B43) üzerine antibakteriyal etkileri incelendiğinde M28 (123mg/ml), M35 (94,2mg/ml), M37 (56,4mg/ml) ve M47 (93,07mg/ml) suşlarından elde edilen karotenoid ekstraktlarının etkili olmadığı gözlenirken diğer suşlardan elde edilen karotenoid ekstraktlarında, ortamda bulunan *Escherichia coli* (B43) sayısının 10^6 kob/ml olması durumunda antibakteriyal etkinin azalmasına karşın hala devam ettiği belirlenmiş olup *E. coli* (B43) sayısının 10^8 kob/ml olması durumunda ise *Rhodotorula glutinis* suşlarından elde edilen karotenoid ekstraktlarının antibakteriyal etki göstermediği belirlenmiştir. *E. coli* (B43) üzerine en fazla antibakteriyal etkiyi ağaç yaprağından izole edilen M29 (107mg/ml) nolu suşun gösterdiği, en az antibakteriyal etkiyi ise havuçtan izole edilen M40 (95,1mg/ml) nolu suşun gösterdiği saptanmıştır (Çizelge 4.9 ve 4.10).

Çizelge 4.9. *Rhodotorula glutinis* 'den elde edilen karotenoid ekstraktlarının 10^3 kob/ml sayısındaki *Escherichia coli* (B43) üzerine antibakteriyal etkileri*

Maya Suş no	1. deneme	2. deneme	3. deneme	Ortalama
M24	10	13	13	12
M28	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M29	12	13	13	12,7
M30	11	10	12	11
M35	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M37	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M39	8	13	14	11,7
M40	12	8	8	9,3
M42	6	12	11	9,6
M47	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok

* inhibisyon zonu:mm

Çizelge 4.10. *Rhodotorula glutinis* 'den elde edilen karotenoid ekstraktlarının 10^6 kob/ml sayısındaki *Escherichia coli* (B43) üzerine antibakteriyal etkileri*

Maya Suş no	1. deneme	2. deneme	3. deneme	Ortalama
M24	6	8	7	7
M28	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M29	7	7	7	7
M30	7	6	6	6,3
M35	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M37	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok
M39	6	7	7	6,6
M40	8	6	6	6,6
M42	6	6	6	6
M47	Etki yok	Etki yok	Etki yok	Etki yok

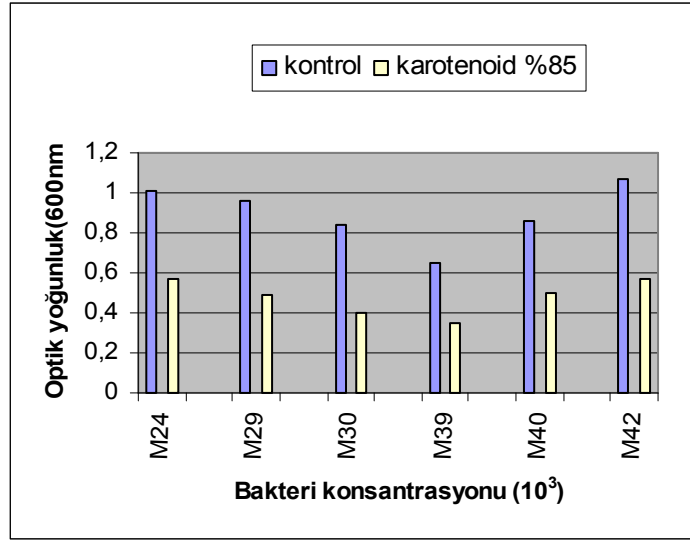
* inhibisyon zonu:mm



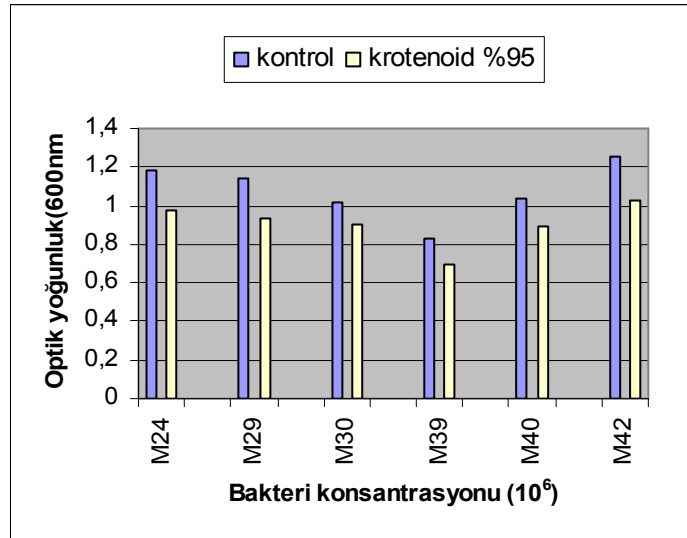
Resim 4.5. *Rhodotorula glutinis* 'den elde edilen karotenoid ekstraktlarının *E. coli* (B43) üzerine antibakteriyal etkileri (ortadaki kuyu :kontrol)

Escherichia coli (B43) üzerine antibakteriyal etkili *Rhodotorula glutinis* suşlarının MIC değerleri; karotenoid konsantrasyonları sırasıyla, 84.4, 107, 92.5, 87, 95.1 ve 98.2 mg/ml olan, M24 , M29, M30, M39, M40 ve M42 nolu suşların 10^3 kob/ml bakteri sayısı için MIC değerleri %85'lik [M24 (71,74mg/ml), M29 (90,95mg/ml), M30 (78,62mg/ml), M39 (73,75mg/ml), M40 (80,83mg/ml), M42 (77,52mg/ml)] karotenoid konsantrasyonu olup, bakteri sayısı 10^6 kob/ml çıktığında en yüksek karotenoid konsantrasyonu olan %95'lik karotenoid konsantrasyon değerinde dahi MIC değeri belirlenememiştir (Şekil 4.9 ve 4.10).

Karotenoid konsantrasyonları sırasıyla, 84.4, 107, 92.5,87 ,95.1 ve 98.2 mg/ml olan, M24, M29, M30, M39, M40 ve M42 nolu suşların 10^3 kob/ml bakteri sayısı için MBC değerleri %95'lik [M24 (80,18mg/ml), M29 (101,65mg/ml), M30 (87,87mg/ml), M39 (82,15mg/ml),M40 (90,34mg/ml), M42 (86,64mg/ml), M47 (89,01mg/ml)] karotenoid konsantrasyonu olarak belirlenmiştir. Bakteri sayısı 10^6 kob/ml olduğunda karotenoid konsantrasyonlarının bakteri üzerine inhibisyon ve bakterisidal etkisi gözlenmemiştir.



Şekil 4.9. *Rhodotorula glutinis*'den elde edilen %85'lik karotenoid ekstraktlarının 10^3 kob/ml sayısındaki *Escherichia coli* (B43) üzerine antibakteriyal etkileri



Şekil 4.10. *Rhodotorula glutinis*'den elde edilen %95'lik karotenoid ekstraktlarının 10^6 kob/ml sayısındaki *Escherichia coli* (B43) üzerine antibakteriyal etkileri

E. coli'nin karotenoid estraktlarına karşı dirençliliğinin araştırmada kullanılan diğer bakterilerde olduğu gibi, karotenoid konsantrasyonuna bağlı olmadığı, elde

edildiği *Rhodotorula glutinis* suşu ve ortamdaki bakteri sayısına göre değiştiği bulunmuştur.

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlara paralel olarak, pigmentlerin patojen bakteriler üzerine antimikrobiyal etkisinin araştırıldığı ve pigment olarak anotto ekstraktının kullanıldığı bir çalışmada, anotto ekstraktının *E. coli* üzerinde antibakteriyal etkiye sahip olmadığı saptanmıştır (Anon, 2003a).

Dağcı ve Dığrak (2005), Bazı meyve ekstraktlarının *E. coli* üzerine antibakteriyal etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Yine Siriponyutikorn ve ark. (2005), yaptığı bir çalışmada Tom-Yum çeşnisinin *E. coli* üzerinde antibakteriyal etkili olduğunu belirlemişlerdir.

5.SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan araştırmada, bir pigment olan ve mayalardan, özellikle daha önce yapılan çalışmalarla karotenoid üretim verimi yüksek olduğu belirlenen *Rhodotorula glutinis* 'den elde edilmiş olan 10 farklı karotenoid suşunun, 5 farklı gıda patojeni bakteri (*Staphylococcus aureus* (B5), *Bacillus subtilis* (B9), *Bacillus cereus*(B41), *Salmonella* Enteriditis (B42), *Escherichia coli* (B43)) üzerindeki antibakteriyel etkisi araştırılmıştır.

Staphylococcus aureus (B5) üzerine en fazla antibakteriyel etkiyi üzümünden izole edilen M24 (84,4mg/ml) nolu *Rhodotorula glutinis* 'e ait karotenoid suşu gösterirken, en az antibakteriyel etkiyi ise topraktan izole edilen M42 (91,2mg/ml) nolu karotenoid suşunun gösterdiği saptanmıştır. Karotenoid konsantrasyonu sırasıyla 123mg/ml, 94.2mg/ml, 56.4mg/ml, 95.1mg/ml ve 93.7mg/ml olan M28, M35, M37, M40 ve M47 nolu suşlardan elde edilen karotenoid ekstraktlarının *S. aureus* (B5) üzerine etkili olmadığı belirlenmiştir.

Spor yapma özelliğine sahip bakteriler olan *Bacillus subtilis* (B9) ve *Bacillus cereus* (B41) üzerine en fazla antibakteriyel etkiyi maydanozdan izole edilen M35 (94,2mg/ml), *B. subtilis* üzerine en az antibakteriyel etkiyi patlıcandan izole edilen M28 (123mg/ml), *B. cereus* (B41) üzerine en az etkiyi ise topraktan izole edilen M37 (56,4mg/ml) nolu suşların gösterdiği saptanmıştır. Karotenoid konsantrasyonu sırasıyla 84.4, 92.5, 86.48 ve 91,2 mg/ml olan M24, M30, M39 ve M42 nolu suşlardan elde edilen karotenoid ekstraktlarının gerek *B. subtilis* gerekse *B. cereus* üzerine etkili olmadığı belirlenmiştir.

M28 (123mg/ml) ve M37 (56,4mg/ml) nolu suşlardan elde edilen karotenoid ekstraktlarının ise ortamdaki *Bacillus subtilis* (B9) sayısının 10^6 kob/ml olması durumunda antibakteriyel etki göstermediği belirlenmiştir. Karotenoid konsantrasyonları sırasıyla 107, 94.2, 95.1 ve 93,07 mg/ml olan M29, M35, M40 ve M47 nolu suşlardan elde edilen karotenoid ekstraktlarında ise, ortamda bulunan *Bacillus subtilis* (B9) sayısının 10^6 kob/ml olması durumunda antibakteriyel etkinin azalmasına karşın hala devam ettiği *B. subtilis* (B9) sayısının 10^8 kob/ml olması durumunda ise *Rhodotorula glutinis* suşlarından elde edilen karotenoid

ekstraktlarının antibakteriyal etki göstermediği belirlenmiştir. Karotenoid konsantrasyonları sırasıyla 107, 56.4 ve 93.7 mg/ml olan M29, M37 ve M47 nolu suşlardan elde edilen karotenoid ekstraktlarında ise ortamdaki *Bacillus cereus* (B41) sayısının 10^6 kob/ml ve 10^8 kob/ml olması durumunda antibakteriyal etki göstermediği belirlenmiştir.

Salmonella Enteritidis (B42) üzerine en etkili *Rhodotorula glutinis* suşunun topraktan izole edilen M47 (93,07mg/ml) nolu suş olduğu, en az etki gösterenin ise havuçtan izole edilen M40 (95,1mg/ml) nolu suş olduğu belirlenmiştir. *S. Enteritidis* üzerine sadece M39 (86,48mg/ml) nolu suşdan elde edilen karotenoid ekstraktının etkili olmadığı gözlenmiştir.

Escherichia coli (B43) üzerine en fazla antibakteriyal etkiyi ağaç yaprağından izole edilen M29 (107mg/ml) nolu suşun gösterdiği, en az antibakteriyal etkiyi ise havuçtan izole edilen M40 (95,1mg/ml) nolu suşun gösterdiği saptanmıştır. Karotenoid konsantrasyonları sırasıyla 123, 94.2, 56.4 ve 93.07 mg/ml olan M28, M35, M37 ve M47 nolu suşlarından elde edilen karotenoidlerin *E. coli* (B43) üzerine etkili olmadığı gözlenmiştir.

Staphylococcus aureus (B5), *Bacillus subtilis* (B9), *Bacillus cereus* (B41), *Salmonella* Enteritidis (B43), *Escherichia coli* (B43) üzerine antibakteriyal etkili *R. glutinis* suşlarının 10^3 kob/ml bakteri sayısı için MIC değeri %85 'lik karotenoid konsantrasyonu olup, bakteri sayısı 10^6 kob/ml'ye çıktığında ise MIC değerinin %95 'lik karotenoid konsantrasyonu olduğu gözlenmiştir. 10^3 kob/ml bakteri sayısı için MBC değeri %95 'lik karotenoid konsantrasyonu olup, bakteri sayısı 10^6 kob/ml çıktığında MBC değeri belirlenmemiştir.

Elde edilen sonuçlara göre, araştırmada kullanılan patojen bakterilerden *Salmonella* Enteritidis'in (B42) en duyarlı bakteri olduğu, en dirençli bakterinin ise *Staphylococcus aureus* (B5) olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte, araştırmada kullanılan her iki *Bacillus* türü bakterinin de aynı *Rhodotorula glutinis* suşlarına karşı hemen hemen aynı derecede hassas ve dirençli olduğu gözlenmiş olup, gerek *B. subtilis* gerekse *B. cereus* bakterisi üzerine karotenoid konsantrasyonu sırasıyla 84.4, 92.5, 87 ve 98.2 mg/ml olan, M24, M30, M39 ve M42 nolu suşların antibakteriyal etkisine rastlanmamıştır.

Ayrıca, karotenoid ekstraktlarının araştırmada kullanılan gıda patojeni bakteriler üzerine antibakteriyal etkisinin karotenodin konsantrasyonuna göre değişmediği fakat, elde edildiği *Rhodotorula glutinis* suşuna ve ortamdaki bakteri sayısına göre değişmesi söz konusudur. Ortamdaki bakteri sayısının 10^6 kob/ml olması durumunda karotenoidlerin antibakteriyal etkilerinin azaldığı, bakteri sayısı 10^8 kob/ml olduğunda antibakteriyal etki göstermedikleri belirlenmiştir.

Araştırmanın genişletilerek gıdalarda patojen olarak bilinen diğer Gr (+) ve Gr (-) bakterilerle de tekrarlanması, gıdalarda sorun yaratan funguslar veya mayalar üzerinde de denenerek antimikrobiyal etki gösterip göstermediğinin araştırılması gerekmektedir. Karotenoidlerin renklendirici özelliklerinin yanında, antibakteriyel etkili madde olarak kullanılıp kullanılmayacağı gıda maddeleri üzerinde yapılacak denemelerle kesinlik kazanabilecektir.

KAYNAKLAR

- ABBAS, S.M.N.; HALKMAN, A.K., 2004. Antimicrobial Effect of Water Extract of Sumac (*Rhus corlarla* L.) on the Growth of Some Food-Borne Bacteria Including Pathogens. *International of Food Microbiology*, 97 (1): 63-69.
- ACHEAMPONG, E.A.; MARTIN, A.M., 1995. Kinetic Studleson the Yeast *Phafla rhodozyma* *Journal of Basic Microblology*, 35 (3):147-155.
- AGNOL, R.D.; FERRAZ, A.; BERNARDI, A.P.; ALBRTNG, D.; NÖR, C.; SARMENTO, L.; LAMB, L.; HASS, M.; POSER, G.V.; SCHAPOVAL, E. E.S., 2003. *Phytomedicine*, Volume 10, Issues 6-7, 511-516 .
- AĞAOĞLU, S.; DOSTBİL, N.; ALEMDAR, S., 2005. The Antibacterial Efficiency of Some Herbs Used in Herby Cheese. *Yüzüncüyıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16(2): 39-41.
- AHN, G.H., 1996. Asthaxantin Production from the red Yeast *Phafia rhodozyma*. *Microorganisms and Industry*, 22(2):128-136 .
- AKÇELİK, M.; KAMURAN, A.; ÇAKIR, I.; DOĞAN, H.B.; GÜRGÜN, V.; HALKMAN, A.; KADİR, K.D.; KULEAŞAN, H.; ÖZKAYA, D.F.; TUNÇIL, N.; TÜKEL, Ç. , 2000. Sim Matbaacılı Ltd. Şti, Ankara, 522s.
- AKSOYCAN, N.; ERDEM, B.; SAGANAK, İ., 1991. *Salmonella* Enteritidis ile Oluşan Besin Zehirlenmesi. *İnfek. Derg.*, 5(1): 65.
- AL-HOWİRİNY, T.A., 2003. Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Salvia lanigera*, 6(2): 133-135.
- ALLPORT, D.C.; BU'LOCK, J.D., 1958. The Pigmentation and Cell Wall Meterial of *Daldivla sp.*, *J.Chem. Soc*, 4090-4094.
- ALTUĞ, T., 2001. Gıda Katkı Maddeleri. Meta Basım, Bornova, İzmir, 281s
- ANDRES, C., 1987. Natural Color System, Systems Overcome Potential Deficiencies of Natural Products. *Food Processing*, 2: 46-50.
- ANONYMOUS, 2006. <http://www.nutrasanus.com/carotenoid.html>

- ANONYMOUS, 2007a. <http://www.zmo.org.tr/etkinlikler/6tk05/051nihatakin>
- ANONYMOUS, 2007b. <http://www.konak.bel.tr/veteriner/gida.htm>
- ANONYMOUS, 2007c. www.vm.cfsan.fda.gov
- ANONYMOUS 2007d. web.inonu.edu.tr/~iozerol/iozerol/bakteriyoloji
- ANONYMOUS, 2007e. <http://microbiology.okstate.edu/faculty/demedl/notes/Industrial%20microbiology.html>
- ANONYMOUS, 2007f. <http://textbookofbacteriology.net/Staph.html>
- ARDA, M.; AKAY, Ö.; AYDIN, N.; ÖZGÜR, M., 1994. Kanatlı Hayvan Hastalıkları. Medisan Yayın Serisi No:14 Ankara.
- ARONSON, J.N.; WERMUS, G.R., 1965. Effects of m-tyrosine on Growth and Sporulation of Bacillus species. Journal of Bacteriology, 90: 38-46.
- ASTORG, P., 1997. Food Carotenoids and Cancer Prevention: An Overview of Current Research. Trend in Food science and Technology, 12(8): 406-413.
- AYDOĞAN, G.; KIVANÇ, M., 2002. Bakteriler Tarafından Üretilen Antimikrobiyal Maddelerin Aktivitelerinin Belirlenmesi. Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 26470-Eskişehir. XVI. Ulusal Biyoloji Kongresi Özetler kitabı 53s.
- BAĞDATLIOĞLU, N.; DEMİRBÜKER, B., 1999. Gıda İşlemede Karotenoidlerde Meydana Gelen Gelişmeler. Gıda, 9: 48-51.
- BARNETT, J.A.; PAYNE, R.W.; YARROW, D., 1990. Yeasts Characteristics and Identification, Cambridge University Press., Cambridge, London, New- York, 887s.
- BAYTOP, T., 1984. Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi. İstanbul Üniversitesi Yayınları, Eczacılık Fakültesi, No: 40, İstanbul.
- BEYNON, J.L.; BERTNGER, J.E.; JHONSTON, A.W.B., 1980. Plasmids and Hosts Rangeln *Rhizobium leguminosarum* and *Rhizobium phaseoh*. Journal of General Microbiology, 120: 421-429.
- BHOSALE, P.; GADRE, R.V., 2001. Production of β -caroten by a *Rhodotorula glutinis* mutant in Sea Water Medium. Biosource Technology, 76: 53-55.

- BILGEHAN, H., 1995. *Bacillus* Genusu: Klinik Mikrobiyolojik Tanı, Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları, İzmir, 529-532s.
- BINDU, S.; SOMASHEKAR, D.; JOSEPH, R., 1998. A Comparative Study on Permeabilization Treatments for Phytse of *Rhodotonda graciliis*. Lett. Appl. Microbiol. 27: 336-340.
- BIRTIGH, A.; JOHANNSEN, M.; BRUNNR, G., 1995. Supercritical-fluid Extraction of Oil-Palm Components. The Journal of Supercritical Fluids., 8: 46-50.
- BORCAKLI, M., 1999. Gıda Üretiminde Antimikrobiyel Maddelerin Kullanımı ve Mikrobiyolojik Güvencenin Sağlanması. Gıda Derg., 10: 43-53.
- BORENSTEIN, B.; BUNNEL, R.H., 1966. Carotenoids Properties Occurance and Utilization in Foods. Advances in Food Research . Academic Press Inc., New York and London. Vol. 15: 195-276.
- BRITTON, G., 1992. Carotenoids Natural Food Colorants, Edited by G .A.F. Hendry and J.D.Houghton, Published in USA, by avi. An Imprint of Van Nosrand Rainhold New-York.
- BÜGET, E.; ANG-KÜÇÜKER, M.; DİNÇER, N. ; ANG, Ö., 1992. Türkiye’de ve Çesitli Ülkelerde Önemi Artan Bir Bakteri : *Salmonella enteritidis*. İnfek. Derg., 6 (3): 231-234.
- CHAPMAN, P.A.; RHODES, P.; RYLANDS, W., 1988. *Salmonella* Typhimurium Phage Type 141 Infections in Sheffield During 1984 and 1985: Association with Hens’ eggs. Epidemiol. Infec., 101: 75-82.
- CHEN, M.H.; JOHNS, M.R., 1993. Effect of PH and Nitrogen Source on pigment Production by *Monascus purpureus*. Appl. Microbiol Biotechnol., 40: 132-138.
- CHENG, M.S.; TSENG, Y.Y., 1989. Efficacy of Antimicrobial Substances from *Monascus* Metabolites on Preservation of Meat. Abs.of the 35th Inter. Congress on Meat. Copenhagen (20-25.08.1989).
- COOPPER, G.L.; NICHOLAS, R.A.; BRACEWELL, C.D., 1989. Serological and Bacteriological Investigations of Chickens from Flocks Naturally Infected with *Salmonella enteritidis*. Vet. Rec., 125: 567-572.

- COMI, G.; D'AUBERT, S.; CANTONI, C., 1982. Alternations in Fruit Yoğurt. Latte (Italy), 7(8): 543-546.
- ÇETE, S.; ARSLAN, F.; YAŞAR, A., 2005. *Aloe vera* ve *Nerium oleander*'in Bazı Mikroorganizmalara Karşı Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması ve Bu Bitkilerin Siklosporinli Karaciğer Dokusundaki Ksantin Oksidaz Enzim Aktivitesine Etkilerinin İncelenmesi G.Ü. Fen Bilimleri Dergisi, 18(3): 375-380.
- DAĞCI, E. K. ve DIĞRAK, M., 2005 . Bazı Meyve Ekstraktlarının Antibakteriyal ve Antifungal Aktiviteleri. KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi, 8(2):1-8.
- DANISOVA, C. , 1989. Natural Food-Grade Colorants, Prumysl potravín, 40(6), 321-324s
- DELAFIELD, I. P. ; DOUDOROFF , M. ; PALLERONT , N. J.; LUSTY, C. J. ; CONTOPOULOS, R. ,1965. Decomposition of Poly-beta-hydroxybutyrate by *Pseudomonas*. Journal of Bacteriology , 90: 1455-1466.
- DEMAIN, A.L., 1999. Pharmaceutically Active Secondary Metabolites of Microorganisms. Appl. Microbiol. Biotechnol., 52: 455-463.
- DEMİRAĞ, K.; UYSAL, V., 2001. Renklendiriciler, T. Altuğ (editör), Gıda Katkı Maddeleri, 176-200s .
- DENİZCİ, A.,1990. *Phaffia rhodozyma* NRRLY-10921 Mayası ile Astaksantin Pigmentinin Üretimi ile İlgili Bir Araştırma. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 50s.
- DİKE, A. O. ; LATTNER, F. ; ZOLLITSCH, W. , 1992. The Supplementation of Layers' Feed with the Yeast *Phaffia rhodozyma*-as Pigment Carrier, Archiv für Geflügelkunde, 5: 205-209.
- DORMAN, H. J. D. and DEANS, S. G. , 2000. Antimicrobial Agents from Plants: Antibacterial Activity of Plant Volatile Oils. J. App. Microb., 88: 308-316.
- DURANGO, A. M. ; SOARES, N. F. F. ; ANDRADE, N. J. , 2005. Microbiological Evaluation of An Edible Antimicrobial Coating on Minimally Processed Carrots. Food Control, in Press., 17(5): 336-341.

- EHRICH, J. , BAUERMANN, U. and THOMANN, R. , 1995. Antimicrobial effect of CO₂ spice extracts from summer savory to cinnamon. *Lebensmitteltechnik*, 27(11): 51-53.
- ELLIOT , J. G. , 1999. Application of Antioxidant Vitamins in Foods and Beverages. *Food Technology*, 53: 46-48.
- ELTEM, R. ; UÇAR, F. , 1998. Bir Soda Gölü Olan Denizli Acıgöl'den İzole Edilmiş 23 *Bacillus* susunun Antimikrobiyal Aktivite Spektrumlarının Saptanması, *KÜKEM Dergisi*, 2(1): 57-64.
- FABRE,C.E. ; SANTERRE,A. L. ; LORET,M.O. ; BABERIAN,R.; PARE-GOMA, G.;BLANC, P.J.,1993. Production and Food Applications of the Red Pigments of *Monascus ruber*,*Journal of food science*, 58(5): 1099-1110.
- FELL, J.W. ; BOEKHOUT, T.;FONSECA,A.; SAMPAIO, J.P., 2000.Basidiomyceto Yeasts in the Mycota.Systematics and Evolution Editör: McLaughlin DJ, McLaughlin EG, Lemke PA Springer-Verlag, 7: 3-35.
- FLEISCHER, T.C. ; AMEADE,E.P.K. ; MENSAH, M.L.K. ; SAWER ,I. K., 2002. Antimicrobial Activity of leaves and seeds of *Bixa orellana*. *Fitoterapia* 74 (2003):136-138.
- FRENGOVA,G.;SIMOVA,E.;PAVLOVA,K.;BESHKOVA, D. ;GRIGOROVA, D., 1994. Formation of Carotenoids by *Rhodotorula glutinis* in Whey Ultrafiltrate, *Biotechnology & Bioengineering*, 44(8): 888-894.
- GARCÍA - RÍVERA , J., and CASADEVALL , A. , 2001. Melanization of *Cryptococcus neoformans* reduces its susceptibility to the antimicrobial effects of silver nitrate.*Med. Mycol.*, 39: 353-357.
- GAVRILOV, A.S. ; KISELEVA, A.L.; MATUSHKINA, S.A.; KORDYKOVA ,N.P.;FEOFILOVA;E.P.,1996. Industrial Production of Lycopene by a Microbiological Method, *Applied Biochemistry and Microbiology*, 32(5): 492-494.
- GINTER E.,1992. A New Concept of Atherogenesis: The Role of Oxygen Radicals. *Vnitr Lek.*, 38 (11): 1096-1104.
- GORDON, R.F.1977. Avian Salmonellosis. *Poult. Dis.*, 24-33.

- GOODNOUGH, M.C. and JAHNSON, E.A., 1991. Control of *Salmonella enteritidis* Infections In poultry by Polymyxin B and Trimethoprim. App. Environ. Microbiol., 785-788.
- GUPTA, M. ; MAZUMDERU, K. ; CHAUDHURI, I. ; CHAUDHURI, R. K. ; BOSE, P. ; BHATTACHARYA, S. ; MANIKANDAN, L. ; PATRA, S., 2002. Antimicrobial Activity of *Eupatorium ayapana*. Fitoterapia, 73: 168-170.
- HAAN, A.D.E. ; BURKE, R.M. ; JAM-DE, B., 1991. Microbial Production of Food Colorants, Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent, 56(4b):1655-1660.
- HAKIM, M.S., 1982. Medicinal and Aromatic Plants in History-The History of Medicinal and Aromatic Plants 13. Karachi.
- HASSAN, J.O. and CURTISS, R., 1990. Control of Colonization by Virulent *Salmonella typhimurium* by Oral Immunization of Chickens with Avirulent, cya, crp *S.typhimurium* Institute Pasteur /Elsevier, Res. Microbiol., 141: 839-850.
- HATİPOĞLU, M. ; SÜER, İ. ; ANTER, C. ; YILMAZ, N. ; KERMAN, M. 1969. Ankara Piyasasında Satılan Yumurtalarda Enterobakteriler Yönünden Araştırma. Etlik Vet. Bakt. Enst. Derg., 3 (78): 92-97.
- HENRY, B.S., 1980. Colours- Alternatives to Synthetics . Food Processing Industry, 11:46-47.
- HUMPHREY, T.J. ; BASKERWILLE, A. ; MAWER, S. ; ROWE, B. ; HOPPER, S., 1989 *Salmonella enteritidis* Phage Type 4 from the Content of Intact Eggs: A Study Involving Naturally Infected hens. Epidemiol. Infect., 103: 415-23.
- INUMA, M. ; TOSA, H. ; TANAKA, T. ; KANAMARU, S. ; ASAI, F. ; KOBAYASHI, Y. ; MIYAUCHI, K. and SHIMANO, R., 1996. Antibacterial Activity of Some Garcinia Benzophenone Derivatives against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. Biol. Pharm. Bull., 19 (2): 311-314.
- IVENS, B.E. ; HOLMES, R.K., 1980. Isolation and Characterization of Melanin-Producing (mel) Mutants of *Vibrio cholerae*. Infect. Immun., 27: 721-729.
- JORDAN, F.T.W., 1990. Parasitic Diseases. In: F.T. W. JORDAN, (EDs.), Poultry Diseases, 3rd ed. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp: 226-250.

- KALELİ, D. ve ÖZKAYA, F. 2000. *Bacillus cereus*. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayınları, Sim Matbaacılık Ltd. Ankara, 395-401s.
- KARAALİ, A. ve ÖZÇELİK, B., 1993. Gıda Katkısı Olarak Doğal ve Sentetik Boyalar Gıda, 18(6): 389- 396.
- KARAGÜL, E.; DÜNDAR, V.; ÖZYÜREK, S.; AKGÜL, A.; SELÇUK, S., 1992. Haydarpaşa Numune Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları Poliklinigine Başvuran *Salmonella enteritidis*'in Neden Olduğu Gastro-enterit Olguları. İnfek. Derg., 6 (3): 197-198.
- KEŞLİ, R.; CANDER, S.; ÇELEBİ, S., 2004. *Stafilokok* Suşlarında Fusidik Asit Direnci Kocatepe Tıp Dergisi, 5: 33-36.
- KIRTIKAR, K.R. and BASU, B.D., 1994. Indian Medicinal Plants, 2nd Ed., 3:1730s.
- KRINSKY, N.I. 1988. The Evidence for the Role of Carotenes in Preventive Health, lin.Nutr., 7: 107-112.
- KRINSKY, N.I. 1989. Antioxidant Function of Carotenoids, Free Radical Biology and Medicine, 7,: 617-635.
- KURASHIGE, M.; OKIMASU, E.; INOUE, M. and UTSUMI, K., 1990. Inhibition of oxidative injury of biological membranes by astaxanthin. Physiol. Chem. Pys. & Med. NMR, 22: 27-38.
- LAKSHMI, S.; NEYRA, C.A., 1987. Cyst. Production and Brown Pigment Formation in Ageing cultures of *Aspergillus brasiliense* ATCC9145. Journal of Bacteriology, 169: 1670-1677.
- LEISTNER, L., 1986. Schimmelpilz - gereifte Lebensmittel. Fleischwirtschaft, 66: 168-173.
- LI, H., VEENENDAAL, E.; SHUKOR, N.A.A.; COBBINAH, J.R.; LEIFERT, C., 1995. Populations on The Tropical Timber Tree Species *Milicia Excelsa* Letters in Applied, 21: 322-326.
- LIN, T.F.; DEMAİN, A.L., 1991. Effect of Nutrition of *Monascus sp.* on formation of Red pigments. Applied Microbiology and Technology, 36: 70-75.

- LONERGAN, G.; ROUTSI, E.; GEORGIADIS, T.; AGELIS, G.; HONDRELIS, J.,LARSEN,L.K.,CAOLAN,F.R.,1992. Isolation, NMR Studies and Biological Activities of Onopordopicrin from *Centaurea sonchifolia* , J. Nat. Prod., 55(2): 225-8.
- LU, C.L.; CHEN, Y.W.; CHOU, C.C., 2005. Antibacterial Activity of Propolis Against *Staphylococcus aureus*. International Journal of Food Microbiology, 102(2): 213-220.
- MALGALITH,P.Z.,1992. Pigment Microbiology, Chapman & Hall, London, 152s.
- MARTIN,A.M.; LU,C.; PATEL,T.R.,1993. Growth Parameters for the Yeast *Rhodotorula rubra* Grown in Peat Extracts., Journal of Fermentation and Bioengineering, 76(4): 321-325.
- MEENA ,M.R. ve VIJAY,S.,1994. Antimicrobial activity of essential oils from oils from spice. J.Food Sci.Technol., 31(1): 68-70.
- MEYER,A.S.,SUHR,K.I., and NIELSEN, P.,2000. Natural Food Preservatives. In T. Ohlsson and N. Bengtsson(eds), Minimal processing technologies in the food industry. CRC Press, USA.
- MİNBAY, A.ve AKAY,Ö.,1979. Tavuk Yetistiriciliginin Güncel Hastalık Sorunu Vet. Hek .Dern.Derg., 49(4): 1-7.
- MISHU, B.; KOEHLER, J. ; LEE, L.A. ; RODRIQUE, D.; BRENNER, F.H.; BLAKE, P.,TAUXE, R.V. 1994. Outbreaks of *Salmonella enteritidis* Infections in the United States 1985-1991. J. infec.. Dis.,169: 547-52.
- MOORE, M. M.; BREEDVELD, M. W.; AUTOR, A.P.,1989. The Role of Carotenoids in Preventing Oxidative Damage in The Pigmented The Yeast, *Rhodotorula mucilaginosa* Archives of Biochemistry and Biophysics., 270(2): 419-431.
- MOREIRA,M.R.; PONCE, A.G.; del- VALLE,C.E.; ROURA,S.I., 2005. Inhibitory parameters of Essential oils to Reduce a Foodborne Pathogen.LWT 38: 565-570.
- MUNDO,M. M. ; PADILLA-ZAKOUR, O. I. ; WOROBO, R. W. , 2004. Growth Inhihbitin of Foodborne Pathogens and Food Spoilage Organisms by Select Raw Honeys. International Journal of Food Microbiology, 97:1–8.

- MUNG, T.H. and KONDRATEVA, L.M., 1981. A New Melanin Synthesizing Species *Micrococcus melaninogenerans*. Mikrobiologiya , 50:122-127 s.
- NAVARRO GARCIA, V.M.; GONZALEZ , A.; FUENTES, M. ; AVILES , M. ; RIOS, M. Y.;ZEPEDA, G.; ROJAS, M.G., 2003. Antifungal Activity of Nine Traditional Mexican Medicinal Plants. Journal of Ethnopharmacology, 87: 85-88.
- NICOLAUS, R.A.; PIATELLI, M.; FATTORUSSO, E., 1964. The Structure of Melanins and Melanogenesis-iv. Tetrahedron, 20: 1163-1172.
- O'BRIEN, J.D.P., 1990. Aspects of *Salmonella enteritidis* Control in Poultry. World's Poult. Sci., 46: 120-124.
- OGUNNARIUO, L. and HAMILTON, M., 1975. Brown and Red Pigmented *Pseudomonas aeruginosa*. Differentiation Between Melanin and Ppyrorubin. Journal of Medical Microbiology, 8: 199-203.
- ORSI, R. O.; SFORCTN, J.M.; FUNARI, S.C.R.; BANKOVA, V., 2005. Effects of Brazilian and Bulgarian Propolis on Bactericidal Activity of Macrophages Against *Salmonella typhimurium*. International Immunopharmacology, Volume 5: 359-368.
- PARK,J.H.;SEOK,S.H.; CHO,S.A.; BAEK,M.W.; LEE,H.Y.; KİM,D.J.; CHUNG, M.J.; KİM,S.D.;HONG,U.P.,2005.Antimicrobial Effect of Lactic Acid Producing bacteria culture condensante mixture (LCCM) against Salmonella enteritidis.International Journal of Food Microbiology, 101: 111-117.
- PAVALENKO, G. V. ; LOFFSYANSKAYA, M. S. ; NEMIRONSKAYA, N. L., 1981. Melanin Pigment of Glucanobacter oxydans. Mikrobiologiya, 50: 718-722.
- PİCHHARDT, K., 2004. Gıda Mikrobiyolojisi Gıda Endüstrisi İçin Temel Temel Esaslar ve Uygulamalar. Literatür Yayınları. Manisa.176-178s.
- POLLACK, A., 2002. Drug Research Yields a Decreasing Return, The New York Times, 20 Nisan.

- PRABHKARAN, K.; KIRCHHEMER, W.F.; HARRIS, E. B., 1968. Oxidation of Phenolic Compounds by *Mucobacterium Leprae* and Inhibition of Phenolase by Substrate Analogues and Copper Chelators. *Journal of Bacteriology*, 95: 2051-2053.
- PRADHAN, K.J.; VARIYAR, P.S.; BANDEKAR, J.R., 1999. Antimicrobial Activity of Novel Phenolic Compounds from Green Pepper (*Piper nigrum L.*). *Lebensm. Wiss.-undTechnol.*, 32(2): 121-123.
- PRZBYLA, A., 1980. Colors, Processed Prepared Foods, 149(9): 108-112.
- RAO, A.V. and AGARVAL, S., 1998. Bioavailability and In Vivo Antioxidant Properties of Lycopene From Tomato Products and Their Possible Role in The Prevention of Cancer. *Nutr. Cancer.*, 31: 199-203.
- 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.
- REED, G.; NAGODAWITHANA, T.W., 1991. *Yeast Technology*. Van Nostrand Reinhold New York, 466s.
- REYNDERS, M.B.; RAWLINGS, D.E.; HARRISON, S.T.L., 1996. Studies on the Growth, Modelling and Pigment Production by the Yeast *Phaffia rhodozyma* During Fed-Batch Cultivation, *Biootechnology Letters*, 18(69): 649-654.
- RODRIGUEZ, E.; CALZADA, J.; ARQUÉZ, L.; NÚÑEZ, M.; MEDINA, M., 2005. Antimicrobial Activity of Pediocin-Producing *Lactococcus lactis* on *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* 0157:H7 in Cheese. *International Dairy Journal*, 15: 51-57.
- ROHM, H.; LECHNER, F.; LEHNER, M., 1990. Microflora of Austrian Naturel-set Yogurt. *Journal of Food Protection.*, 53(6): 478-480.
- SALDAMLI, I., UYGUN, Ü., 2004. Gıda Katkı Maddeleri ve Kanseri. <http://www.un.org.tr/who/nutrition/gidakatkimadde.htm>

- SARNA, T. ; MENON, L. A. ; SEALY, R. C., 1984. Photoinduced Oxygen Consumption in Melanin Systems II: Action Spectra and Quantum Yields for Pheomelanins. *Photochemistry and Photobiology.*, 39: 805-809.
- SEDMAK, J.J.; WEERASINGHE, D.K.; JOLLY, S.O., 1990. Extraction and Quantitation of Asthaxantin from *Phaffia rhodozima*. *Biotechnol. Tech.*, 4: 107-112.
- SEN, M.;SEN, P., 1965. Interspecific Transformation of *Azotobacter*. *Journal of General Microbiology* , 41: 1-6.
- SERKEDJIEVA, J.,1997. Antiinfective Sactivity of a Plant Preparation from *Geranium sanguineum*L. *Pharmazie*, 52: 799-802.
- SCHLEGEL, H., 1992. Produktion Sekundärer Metabolite , *Allgemeine Mikrobiologie*, Georg-Thieme Verlag, 362-371s.
- SLAVIKOVA, E. ; VADKERTIOVA , R., 2000. The Occurrence of Yeasts in the Forest Soils. *Journal of Basic Microbiology*, 40(3): 207-212.
- SIMPSON , K. L. ; NAKAYAMA, T. O. M. ; CHICHESTER, C. O., 1964. Biosynthesis of Yeast Carotenoids. *Journal of Bacteriology*, 88(6): 1688-1694.
- SINDAMBIawe, J. B. ; CALOMME, M. ; COS, P.;TOTTE , J.; PIETERS, L.; VLIETINCK and VANDEN BERGHE, D.,1999. Screening of seven selected Rwandan medicinal plants for antimicrobial and antiviral activities.J. *Ethnopharmacol.*, 65: 71-77.
- SINGH, R.; JATN, A.; PANWAR, S.; GUPTA, D.; KHARE, S.K., 2004. Antimicrobial Activity of Some Natural Dyes. *Dyes and Pigments*, 66: 39-102.
- SIRIPONYUTIKORN, S.; THUMMWARATMASIK, P.; HUANG, Y.W., 2005. Antimicrobial and Antioxidation Effects of Thai Seasoning, Tom- Yum. *LWT- Food Science and Technology*, 38: 347-352 .
- SUBMUTH, R.; EBERSPAECHER , J. ; HAAG,R.; SPRINGER, W., 1987. *Biochemisch Mikrobiologisches Prakticum*. Thieme Verlag-Stuttgart, 409 s.
- SWEENEY, J.M. and MARSHA, C. 1973. Liver Storage of Vitamin A in Rats Fed With Carotene Stereoisomers. *J. Nutr.*, 103: 20-23.

- TAMER, M., 2002. İlaç Devleri Yeni İlaç Keşfedemiyor. Milliyet, 23 Nisan.
- TAORMINA, P.J.; NJEMIRA, B.A.; BEUCHAT, L.R., 2001. Inhibitory Activity of Honey Against Food-borne Pathogens as Influenced by the Presence of Hydrogen Peroxide and Level of Antioxidant Power. International Journal of Food Microbiology, 69(3): 217-225.
- TERESHINA, V.M. ; FEOFELOVA, E .P.; MEMORSKAYA , A.S.; VAKULOVA, L.A.;TERENT'EV, P.B., 1996. Effect of Azines on Lycopene Formation in the Mycelial Fungus *Blakeslea trispora*, Industrial of Microbiology, 32(4): 388-390.
- THIEM, B.; GOSLINSKA, O., 2003. Antimicrobial Activity of *Rubus chamaemonis* Leaves. Fitoterapia, 75: 93-95.
- THOMAS, R.D, 1989. Grade A egg as a Source of *Salmonella enteritidis* Infection. JAVMA, 261(14): 2064.
- TORRISSEN, O.J. and CHRISTIANSEN, R., 1995. Requirements for Carotenoids in Fish Diets. J. Appl. Ichthyol., 11: 225-230.
- TUNAİL, N. 2000. Mikrobiyal Enfeksiyonlar ve İntoksikasyonlar. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayınları, Sim Matbaacılık Ltd. Ankara. 102s.
- URAL, A., 1983. Gıdalarda Renk ve Kalite ilişkisi. Gıda Dergisi, 8(1): 21-27s.
- ÜNLÜTÜRK, A.; TURANTAŞ, F.; ACAR, J.; KARAPINAR, M.; TEMİZ, A.; AKTUĞ-GÖNÜL, Ş. ve TUNÇEL, G., 1998. Gıda Mikrobiyolojisi. Ed. Ünlütürk, A. ve Turantaş, F., 1. Baskı. Mengi Tan Basımevi, Çınarlı, İzmir, 605s.
- VANDAMME, E.J., 1989. Biotechnology of vitamins, Pigments and Growth Factors. Elsevier Applied Science, London and New York, 444s.
- VANDAMME, E. J., 1992. Production of Vitamins, Coenzymes and Related Biochemicals by Biotechnological Processes, Journal of Chemical Technical Biotechnology, 53: 313-327.

- VEGA, P. J., BALABAN, M. O.; O-KEEFE, S. F.; CORNELL, J. A., 1996. Supercritical Carbondioxide Extraction Efficiency for Carotenes from Carotts by RSM.J. of Food Sci., 61(4): 757-765.
- VERASTEGUI, M. A. ; SANCHEZ, C.A. ; HEREDIA, N. L. and GARCIA-ALVARADO, J.S., 1996. Antimicrobial Activity of Extracts Three Major Plants from the Chihuahuan Desert. J. Ethnopharmacol., 52: 175-177.

ÖZGEÇMİŞ

2001 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandım, 2002 yılının şubat ayında Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümüne yatay geçiş yaptım.2005 yılında Çukurova Üniversitesinden mezun oldum.2005 yılının eylül ayında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Biyoteknoloji ana bilim dalında yüksek lisans'a başladım.