

## Bazı Baharatlarda Antimikrobiyal Madde Üreten Bakterilerin Belirlenmesi

Fatma Bozanoğlu<sup>1</sup>, Prof. Dr. Hasan Yetim<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Erciyes Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Kayseri

<sup>2</sup>Gelişim Üniversitesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, İstanbul

Son yıllarda kimyasal antimikrobiyal maddeler üzerine yapılan bilimsel çalışmalar sonucu bu maddelerin birçok olumsuz etkisinin olduğu bildirilmiştir. Ayrıca sentetik antimikrobiyal maddelerin yaygın olarak kullanımının bir sonucu olarak patojen bakterilerin oluşturduğu direnç mekanizmaları da artmıştır.

Yine doğal ve/veya doğal bileşenler kullanılarak üretilen gıda ürünlerine olan ilgi, tüketiciler ve üreticiler arasında da önemli bir artış göstermiştir. Bu durum, yeni antimikrobiyal maddelerin araştırılmasına ivme kazandırmıştır.

Bu araştırmada bazı baharat örneklerinden kimyasal ve sentetik antimikrobiyal ajanların yerine kullanılabilir doğal antimikrobiyal ajanları üretebilen mikroorganizmaların belirlenebilmesi amaçlanmıştır.

Çalışma için Kayseri ilindeki aktardan 33 çeşit baharat temin edilmiş ve antimikrobiyal madde üreten bakteriler için taranmıştır. Baharat örnekleri steril peptonlu su (% 0.1) içerisinde homojenize edilmiştir ve seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Daha sonra 4 farklı besiyerine (Nutrient Agar, Tryptic Soy Agar, Brain Heart Agar, Plate Count Agar) yayma yöntemiyle ekim yapılmıştır ve 30±1 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Antimikrobiyal madde üreten bakterilerin izolasyonu için ekim yapılan petrilardan farklı koloniler seçilmiş ve seçilen kolonilerden alınan mikroorganizmaların, *Listeria innocua*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Sacharomyces cerevisiae* test mikroorganizmalarını içeren yumuşak Tryptic Soy Agar üzerine ekimi yapılmıştır ve besiyerleri 37±1 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucu zon oluşumu ve hangi bakteriye karşı aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Daha sonra antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenen izolatlardan elde edilen metabolitler test mikroorganizmalarını içeren yumuşak TSA üzerine inoküle edilmiş ve 37±1 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon bölgesi gözlemlenmiş ve belirgin bir önleme alanının (zon) oluşumu, bakterinin antimikrobiyal madde sentezlemiş olması olarak kabul edilmiştir.

Antimikrobiyal madde üreten bakterilerin tanımlanması PCR temelli yöntemlerle 16S rRNA bölgesine göre belirlenmiştir. Bunun için bakteri ve/veya bakterilerin DNA'ları izole edilmiş ve thermal cyler ile amplifiye edildikten sonra PCR ürününün üretilip üretilmediği jel de yürütülerek görüntüsü incelenmiştir. Bu PCR ürünü saflaştırılmış ve tanımlanması için sekans analizine gönderilmiştir. Analiz sonucunda elde edilen DNA dizisi ile Gen Bankasının verileri karşılaştırılmış olup bakteri izolatları tanımlanmıştır.

Bu besiyerlerinde gelişen kolonilerin antimikrobiyal aktivitelerini tespit etmek için gerçekleştirilen analizler sonucunda 19 adet mikroorganizmanın (4 adet *Listeria innocua*, 9 adet *Micrococcus luteus* ve 6 adet *Escherichia coli*) antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir. Antimikrobiyal aktivite gösterenlerden elde edilen izolatların inkübasyonu sonrası elde edilen bazı ekstraktların da yine *Listeria innocua*, *Micrococcus luteus* ve *Escherichia coli*'ye karşı etki gösterdiği saptanmıştır. Hem Gram-negatif ve hem de Gram-pozitif test mikroorganizması üzerine etki gösteren bir izolat veya ekstrakt belirlenmemiştir. Ekstraktlardan en yüksek düzeyde antimikrobiyal aktivite gösterenlerin elde edildikleri izolatlardan 7 adetinin genotipik olarak tanımlaması yapılmıştır. Tanımlama sonucunda 6 izolatın, spor oluşturan bakterilerden (4 adet *Bacillus* sp. ve 2

adet *Paenibacillus* sp.) olduğu belirlenmiş, 1 izolatın ise *Micrococcus* sp.'e ait olduğu saptanmıştır.

Antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenen bakteriler, genotipik olarak tanımlandığında baskın bakteri türünün sporlu bakterilerden *Bacillus* sp'e ait olduğu görülmektedir.

Araştırmada antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenen bakteriler, *Bacillus* sp., *Paenibacillus* sp. ve *Micrococcus* sp. olarak tanımlanmıştır. Literatür araştırması yapıldığında *Bacillus* sp., *Paenibacillus* sp. bakterilerinin bir çok suş'unun antimikrobiyal aktivitesinin olduğu daha önce de belirlenmiştir. Ancak *Micrococcus* sp. bakterisine ait bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle bu bakteriden elde edilen metabolitin daha önce tanımlanmamış bir antimikrobiyal madde olabileceği düşünülmektedir. Bu araştırmada çalışılan baharatlarda çok sayıda ve farklı antimikrobiyal madde üreten bakterilerin bulunabileceği ve bu bakterilere ait metabolitlerin daha ileri çalışmalar ile incelenmesi gerektiği kanaatine varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Antimikrobiyal, Baharat, *Bacillus* sp., *Micrococcus* sp., *Paenibacillus* sp., PCR