

FERMENTE SUCUKTAN İZOLE EDİLEN BAZI *Debaryomyces hansenii* SUŞLARINDA KATALAZ ENZİM AKTİVİTESİ*

CATALASE ACTIVITIES BY SOME *Debaryomyces hansenii* STRAIN ISOLATED FROM FERMENTED SAUSAGE

Zerrin ERGİNKAYA ¹, Walter P. Hammes²

¹ Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Adana- TÜRKİYE

² Hohenheim Üniversitesi Gıda Teknolojisi Bölümü, Mikrobiyoloji Bilim Dalı, Stuttgart- ALMANYA

ÖZET: Bu çalışmada, fermente sucuklardan izole edilen bazı *Debaryomyces hansenii* suşlarının ürettiği katalaz enziminin özellikleri polarografik yöntemle araştırılmıştır. Denemeye alınan suşların katalaz enzim aktiviteleri ölçülmüş ve daha, sonra enzim aktivitesinin ortamda bulunan glukoz, H₂O₂ ve gelişme fazı ile olan ilişkisi araştırılmıştır. Ayrıca, dondurulmuş maya hücresi ile dodurulmamış maya hücresindeki enzim aktiviteleri de karşılaştırılmıştır.

Katalaz aktivitesinin hücre artışına bağlı olarak arttığı ve durgun faz döneminin başlangıcında yükseldiği, ortamda bulunan H₂O₂ miktarının 0,28 mol/l ve glukoz miktarının ise %0,1 olduğunda ise katalaz aktivitesinin en yüksek düzeye ulaştığı gözlenmiştir. Ayrıca dondurulmuş hücrelerde katalaz aktivitesinin yüksek olduğu da bu çalışmada bulunmuştur.

ABSTRACT: Specifications of enzyme catalase produced by *Debaryomyces hansenii* strains which have been isolated searched by polarographic method. Catalase activities of strains which were included in the experiments were tested and then the relation of glucose, H₂O₂ concentration in the ingredient and growth phase was enzyme activities which are in frozen yeasts cells and fresh yeast cell have been compared.

It has been observed that, catalase activities depend on the increase of cells and rise at the beginning of stationer phase period when the amount of H₂O₂ concentration is 0,28 mol/l and the amount of glucose is 0,1 % in the ingredient the catalase activities reaches the highest point moreover, it has been found that catalase activities in frozen cells is high.

GİRİŞ

Katalaz, hemen hemen tüm aerob mikroorganizmalarda, bitki ve hayvan hücrelerinde bulunan bir enzimdir. Endüstride kullanılmak amacı ile karaciğerin yanı sıra *Micrococcus luteus*, *Penicillium chrysogenum* ve *Aspergillus niger*'den izole edilmektedirler. Mikrobiyal katalaz enzimi ilk kez, *M. luteus*'dan izole edilerek saflaştırılmıştır. *M. luteus*'un dışında diğer katalaz aktivitesine sahip önemli mikroorganizmalar ise; *Rhodospseudomonas spheroides*, *Neurospora crassa*, *Comamonas compransons*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* ve *Saccharomyces cerevisiae*'dir (Strahl, 1989).

Debaryomyces hansenii, doğada özellikle de tuzlu ortamlarda ve gıdalarda çok sık rastlanan mayalardan biridir. Bu mayalar, yuvarlak veya oval olup, karbonhidratların çoğunu fermente edemezler. Sıvı besiyeri ortamında beyaz renkli zar oluştururlar. Ana hücreden yavru hücrenin ayrılmasından sonra, ana hücrede kenarları düzgün olmayan askosporlar oluştururlar. Aseksüel formu *Candida famata*'dır. *D.hansenii*, fermente sucuk üretiminde *Micrococcaceae* familyasına ait bazı bakterilerin laktik asit bakterileri ile birlikte kombine halde starter kültür olarak kullanılmaktadır. Laktik asit bakterileri, fermente sucukların olgunlaşma dönemi sırasında H₂O₂ üretirler. Oluşan H₂O₂, özellikle patojen mikroorganizmalar için bakteriyostatik veya bakterisit etki yapmaktadır. Ancak, aynı zamanda da özellikle fermente sucuklarda oksidasyona neden olmakta ve üründe yeşil renkte olan nitrosyl hemochrome (porfirinlerin oksidasyonu) oluşmaktadır (RACCAH ve BACKER, 1978). Mikrokoklar, stafilokoklar ve mayalara ait katalaz aktivitesi, ürünü peroksitlerin olumsuz etkilerinden (ransidite oluşumu) korurlar. Bu nedenle de söz konusu mayalar, fermente sucuklara, aroma renk oluşumundaki etkilerinin yanı sıra, katalaz aktivitelerinden dolayı "antioksidan" olarak da ilave edilmektedirler (LUCKE, 1986).

Bu çalışmada, fermente sucuktan izole edilen (ERGİNKAYA, 1992) ve starter kültür olarak kullanılan *D.hansenii* suşunda katalaz aktiviteleri belirlenmiş ve değişik ortam ve koşullardaki enzim aktivitelerindeki değişimler incelenmiştir.

* Bu araştırma Zerrin Erginkaya'nın doktora tezinden alınmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

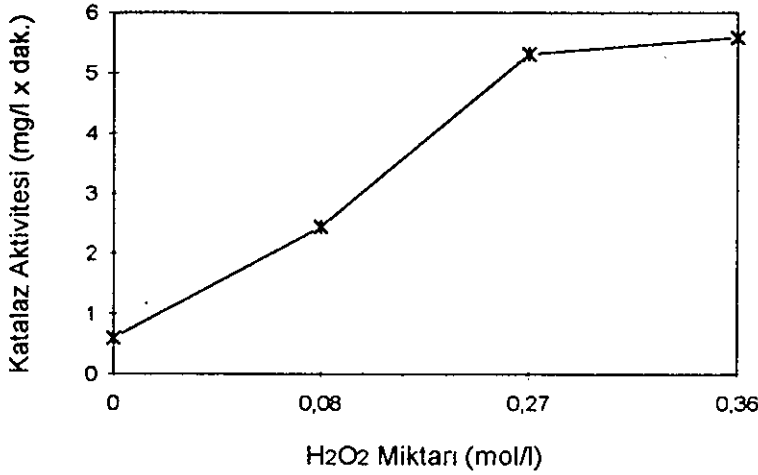
Araştırmada materyal olarak fermente sucuktan izole edilen *Debaryomyces hansenii* (Dh1 ve Dh2) suşlarının yanı sıra, besiyeri olarak; Yeast Malt - Broth ve Wort-Broth (Merck) kullanılmıştır.

Katalaz aktivitesinin saptanması ise, polarografik prensiple çalışan ve ortamdaki çözünür oksijenin O_2 elektrodu ile ölçülmesi prensibine dayanarak çalışan cihazla (Oxi 530) gerçekleştirilmiştir (STRAHL, 1989). H_2O_2 'in saptanması ise ABTS yöntemi kullanılarak, ortamdaki renk reaksiyonu ile gerçekleştirilmiştir (CARTER, 1980).

BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu araştırmada, *D. hansenii* suşlarının katalaz enzim aktiviteleri belirlenmiş ve daha sonra katalaz enzim aktivitesinin; ortamda bulunan glukoz, H_2O_2 ve gelişme fazı ile olan ilişkisi araştırılmıştır. Ayrıca, dondurulmuş ve dondurulmamış hücrelerdeki enzim aktiviteleri de yapılan bu çalışma ile karşılaştırılmıştır.

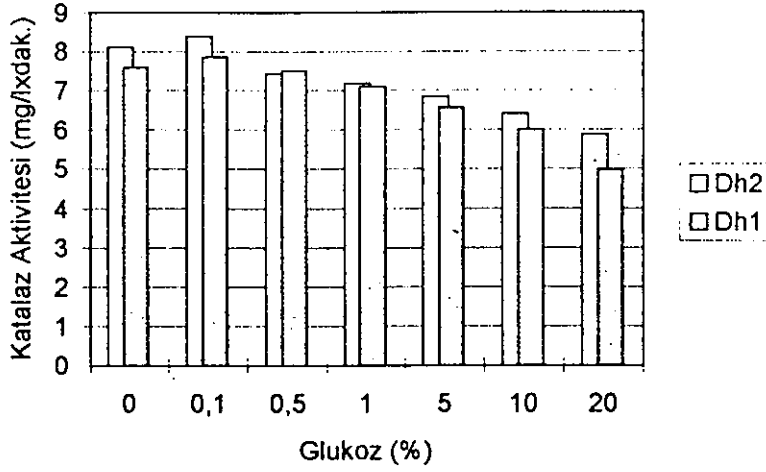
Araştırmanın ilk aşamasında, katalaz aktivitesinin H_2O_2 konsantrasyonu ile olan ilişkisi incelenmiştir. *D. hansenii*'ye ait katalaz aktivitesi 0,04-0,36 mol/l arasında H_2O_2 kullanılarak ölçülmüştür. Yapılan ölçümlerde *D. hansenii*'nin, H_2O_2 konsantrasyonunun 0,28 mol/l olduğunda katalaz aktivitesi hızının yavaşladığı belirlenmiştir (Şekil 1). Daha yüksek H_2O_2 konsantrasyonlarında ise enzim aktivitesi hızının azaldığı gözlenmiştir.



Şekil 1. Değişik H_2O_2 miktarları ile katalaz aktivitesi arasındaki ilişki

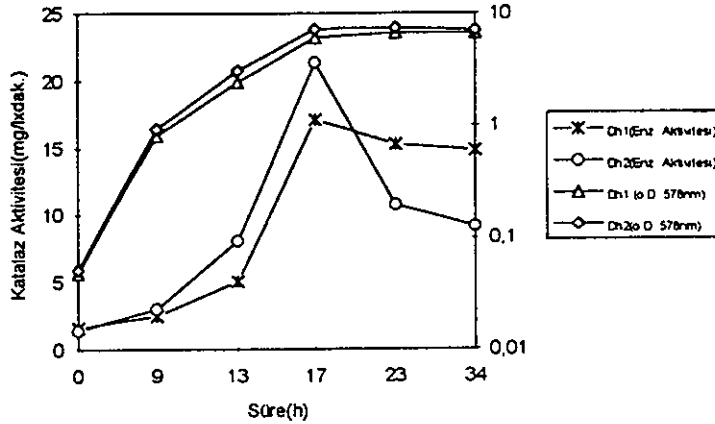
Ortamda belirli miktarın üzerinde H_2O_2 bulunması durumunda, *D. hansenii*'nin katalaz aktivitesi hızının yavaşlaması nedeni ile daha sonra yapılan enzim aktivitesi ölçümlerinde 0,27 mol/l H_2O_2 kullanılmıştır.

Glukoz konsantrasyonuna bağlı olarak *D. hansenii*'nin katalaz enzim aktivitesinin değişiminin araştırılmasında, besi ortamına %0-20 arasında glukoz ilave edilerek, *D. hansenii*'ye ait bazı suşların (Dh1 ve Dh2) katalaz aktiviteleri ölçülmüştür. Yüksek konsantrasyonlarda glukoz içeren ortamda, katalaz aktivitesinin azaldığı gözlenmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. Değişik konsantrasyonlarda glukoz içeren ortamlarda gelişen *D. Hansenii* suşlarında katalaz aktivitesi.

D. hansenii gelişme fazının katalaz aktivitesine olan etkisi, *D. hansenii*'ye ait suşlar (Dh1 ve Dh2) %0,2 glukoz içeren ortama aşılandıktan sonra, gelişme fazının değişik evrelerinde belirli aralıklarla örnekler alınarak bulunmuştur (Şekil 3).

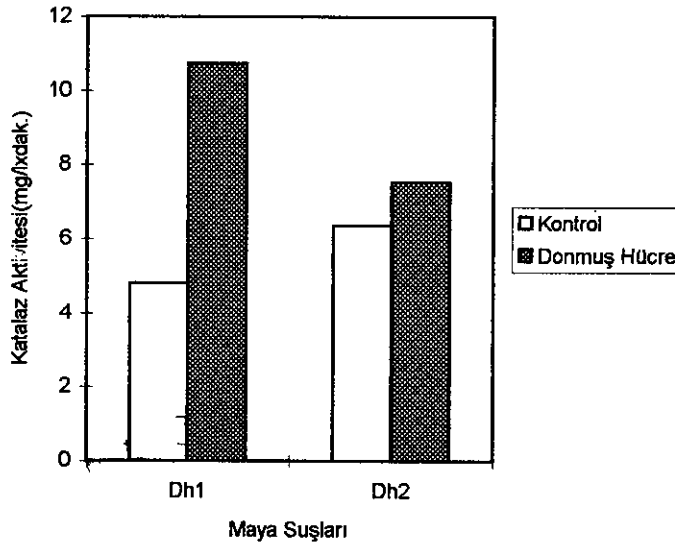


Şekil 3. *D. Hansenii*'nin gelişimi ile katalaz aktivitesi arasındaki ilişki.

Denemeye alınan her iki *D. hansenii* suşunda (Dh1 ve Dh2), en yüksek katalaz aktivitesi değerleri, duraklama döneminin başlangıcında bulunmuştur. Bu dönemde çoğu zaman mikroorganizma sayısı ulaşabildiği maksimum değere gelmektedir ve üreme durmaktadır. Duraklama dönemine geçişten hemen sonra enzim aktivitesinin hızla düştüğü gözlenmiştir.

Katalaz aktivitesi ölçülen her iki maya suşu karşılaştırıldığında Dh2 suşunun, Dh1 suşuna göre daha yüksek enzim aktivitesi gösterdiği gözlenmiştir. Yüksek katalaz enzim aktivitesine sahip maya suşları, sucuk içerisinde starter kültür olarak kullanıldığı taktirde, ortamda bulunan ve diğer mikroorganizmalar tarafından üretilen H_2O_2 'yi parçalayarak, ürünü peroksitlerin olumsuz etkilerinden koruyacaktır.

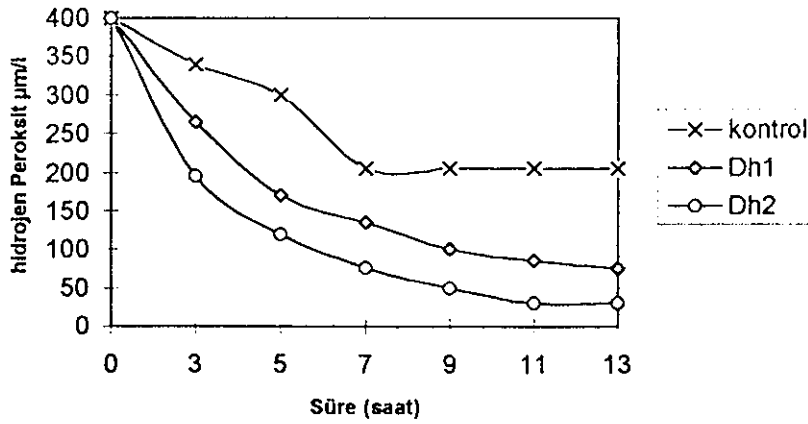
Ayrıca, araştırmada *D. hansenii*'ye ait bazı suşların dondurulduktan sonra katalaz aktiviteleri ölçülmüştür. Ayrıca kontrol olarak hiçbir işlem görmemiş taze hücrelerde de enzim aktivitesi ölçülerek karşılaştırılmıştır (Şekil 4).



Şekil 4. Dondurma işlemi uygulanan bazı *D. hansenii* suşlarında katalaz aktivitesi.

Dondurma işlemi uygulanan hücrelerdeki katalaz aktivitesinin, taze hücrelerde bulunan katalaz aktivitesinden daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Dh2 suşunun taze hücredeki enzim aktivitesi Dh1 suşuna göre daha fazla olmasına karşın dondurulmuş hücrelerde bunun tam tersi, yani Dh2 suşunda enzim aktivitesi daha düşük bulunmuştur.

Son olarak, *D. hansenii*'nin H_2O_2 'i parçalama özelliği ABTS yöntemi ile araştırılmıştır (CARTER, 1980). Denemede kontrol olarak maya suşu içermeyen ortam kullanılarak, iki farklı *D. hansenii* suşunun ortamdaki H_2O_2 'i parçalama hızı ve miktarı belirlenmiştir (Şekil 5).



Şekil 5. H_2O_2 'in *D. hansenii* aracılığı ile parçalanması.

Denemeye alınan her iki suşun H_2O_2 'i parçalama hızları ve katalaz aktiviteleri karşılaştırıldığında birbirine yakın sonuçlar alındığı gözlenmiştir. Yüksek katalaz aktivitesine sahip olan Dh2 suşu, aynı zamanda ortamdaki H_2O_2 'i de diğer suşa göre daha kısa sürede parçalamıştır. Ancak, her iki suş da ortamdaki H_2O_2 'in tamamını parçalayamamışlardır.

KAYNAKLAR

- CARTER, R.S. 1980. The Deactivation Behaviour of Immobilized Glucose Oxidase / Katalase on Hydrogen Peroxide Decomposing Supports. Doktora tezi, Zürich University, Zürich.
- ERGINKAYA, Z. 1992. Fermente Sucukların Olgunlaşması Sırasında Bazı Mayaların Fonksiyonları. Doktora tezi, Ç.Ü. Fen Bilimleri Ens.
- LUCKE, F.K. 1986. Mikrobiologische Vorgänge bei der Herstellung von Rohwurst und Rohschinken. Fleischwirtsch., 3:302-309.
- RACCACH, M., BACKER, C. 1987. Formation of Hydrogen Peroxide by Meat Starter Cultures. Journal of Food Protection, 10: 798- 799.
- STRAHL, A. 1989. Charakterisierung der Häm - aktivierbaren Katalase von Lactobacillus pentosus DSM 20314. Master Tezi, Univ. Hohenheim, Ins. für Lebensm. Tech., Stuttgart.

**GIDA Dergisi 1997 Yılı Reklam Fiyatları aşağıdaki şekilde belirlenmiştir.
Fiyatlar bir sayı için olup KDV dahil değildir.
Triokrom ofset baskıya uygun filmlerin gönderilmesi gereklidir.**

**Arka Kapak : 15.000.000.-TL.
Kapak İçleri : 12.000.000.-TL.
İç Sayfa (1/1) : 8.000.000.-TL.**

**Gıda Teknolojisi Derneği
Yönetim Kurulu**

**GIDA Dergisi 1997 Yılı Dizgi Ücreti 2.000.000. TL. olarak yeniden belirlenmiştir.
Ayrı basım; talep eden araştırmacılara 500.000 TL. ek ücret karşılığında verilecektir.**

**Gıda Teknolojisi Derneği
Yönetim Kurulu**