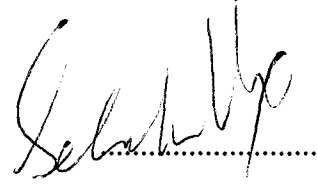
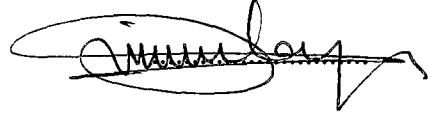


JURİ ÜYELERİ

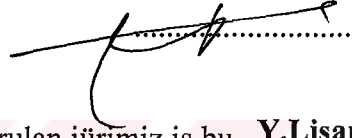
Prof.Dr.Selahattin SERT



Prof.Dr.Mükerrem KAYA



Prof.Dr.Ö.Faruk ALGUR



13.09.2001 tarihinde **27/229** kararla kurulan jürimiz iş bu **Y.Lisans** tezini **18.10.2001** tarihinde kabul etmiştir.

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ET TEKNOLOJİSİNDE KORUYUCU KÜLTÜRLER VE
BAKTERİYOSİNLER

105294

Dilara (TEKİN) KASİL

Yönetici: Prof. Dr. Mükerrerem KAYA

105294

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM BAKANLIĞI
DOKÜMANİSTASYON MERKEZİ

Yüksek Lisans Tezi

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET.....	i
SUMMARY.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
1.GİRİŞ.....	1
2.STARTER KÜLTÜRLER.....	11
2.1.Laktik Asit Üretimi.....	12
2.2.Nitrat Redüktaz ve Katalaz Aktiviteleri.....	13
3.KORUYUCU KÜLTÜRLER.....	16
4.LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN ANTAGONİZM MEKANİZMALARI.....	18
4.1.Besin İçin Rekabet.....	19
4.2.Organik Asit Üretimi.....	19
4.3.Bakteriyosinler.....	21
4.4.Hidrojen Peroksit.....	21
4.5.Düşük Moleküler Ağırlıklı Metabolitler.....	21
5.BAKTERİYOSİNLER.....	23
5.1.Bakteriyosin Üretimi ve Aktivitesini Etkileyen Faktörler.....	25
5.2.Bakteriyosinlerin Özellikleri.....	27
5.3. <i>Pediococcus</i> Bakteriyosinleri.....	32
5.4. <i>Lactobacillus</i> Bakteriyosinleri.....	38
5.4.1. <i>Lactobacillus helveticus</i>	40
5.4.2. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	40
5.4.3. <i>Lactobacillus plantarum</i>	42

5.4.4. <i>Lactobacillus sakei</i>	43
5.5. <i>Lactococcus</i> Bakteriyosinleri.....	48
5.6. <i>Carnobacterium</i> Bakteriyosinleri.....	55
5.7. <i>Leuconostoc</i> Bakteriyosinleri.....	57
5.8. <i>Enterococcus</i> Bakteriyosinleri.....	58
6.ET KAYNAKLI BAKTERİYOSİNOGENİK SUŞLAR.....	60
6.1. Sınıf I Bakteriyosinleri Üreten Et Kaynaklı Bakteriyosinogenik Suşlar..	61
6.2. Sınıf II Bakteriyosinleri Üreten Et Kaynaklı Bakteriyosinogenik Suşlar	62
7.ET ve ET ÜRÜNLERİNDE BAKTERİYOSİN ve BAKTERİYOSİN	
ÜRETEN SUŞLARIN KULLANIMI.....	65
8.SONUÇ ve ÖNERİLER.....	72
KAYNAKLAR.....	74

ÖZET

Modern teknikler ve güvenlik önlemlerinin (örneğin, HACCP) tanımlanması ile gıda biyoteknolojisinde sağlanan gelişmelere rağmen gıda güvenliği halen daha çözüm bekleyen bir problemdir. Gıda kaynaklı hastalık ve intoksikasyonlarla ilgili bildirilen rakamlar halen daha artmakta olup, gıda kaynaklı hastalıklarda (salmonellosis, listeriyosis gibi) görülen en büyük patlamalar son on iki on üç yılda olmuştur. Tüketicilerin daha az korunmuş gıda istekleri ve bu istekleri karşılamak için yeni gıda sistemlerinde sağlanan gelişmeler patojenlerin çoğalmasını önlemek için yeni engeller geliştirilmesini zorunlu kılmıştır.

Bu çalışmada et ve et ürünlerinin raf ömrünü uzatmak ve güvenilir ürünler elde etmek amacıyla son yıllarda sıkça gündeme gelen koruyucu kültürler ile bakteriyosinler incelenmiş ve bunların et teknolojisindeki kullanım alanları ile ilgili çalışmalar derlenmiştir.

Koruyucu kültürler, patojenleri inhibe etmek ve/veya raf ömrünü artırmak amacıyla kullanılan ancak ürünün duyuşal özelliklerini de mümkün olduğunca az değiştiren antagonistik kültürlerdir. Starter kültürlerde metabolik aktivite (örneğin asit üretimi) teknolojik öneme sahipken antimikrobiyal etki ikincil bir etki oluşturabilmektedir. Koruyucu kültürlerde ise durum tam tersidir. Ancak koruyucu kültür kullanımı ilave bir güvenlik faktörü olarak düşünölmelidir.

Bakteriyosin üreten laktik asit bakterilerinin “koruyucu kültür” olarak kullanımı gün geçtikçe artmaktadır. Bakteriyosinlerin patojenleri inhibe edici etkisi özellikle düşük asitli, soğukta muhafaza edilen et ürünlerinde son derece önemlidir. Laktik asit bakterilerinin bakteriyosinlerinin inhibitör spektrumunu üretici organizmanın yakın ilişkili olduğu organizmalarla sınırlı olduğundan Gram negatif patojen ve bozucu bakterilere karşı etkili değillerdir.

SUMMARY

Despite of the recent improvements in modern technologies and safety concepts (e. g. HACCP) in food biotechnology, the problem of food safety still remains to be unsolved. The reported number of food-borne illnesses and intoxications is still increasing. The largest outbreaks of food-borne diseases (e.g. salmonellosis, listeriosis) occurred in the last 12 - 13 years. The consumers demands for less preserved foods and development of new food systems to fulfil these demands, urges new hurdles for pathogen growth.

In this study, the protective cultures and bacteriocins which are very common in food processing in last years have been investigated to extend the shelf-life of meat and meat products and studies in the literature about the way of their usage in meat technology have been compiled.

Protective cultures, which are used to inhibit pathogens or /and to extend the shelf-life of meat product, nevertheless effect the sensorial characteristics at minimum, are antagonistic cultures. While metabolic activity (e.g. acid production) has a technological importance in starter cultures, antimicrobial effect may cause a secondary effect. However; this situation is reverse for protective cultures. The usage of protective culture is suggested as an extra security factor.

Usage of bacteriocin-producing lactic acid bacteria as "protective cultures" is increasing day by day. The effect of lactic acid bacteria's bacteriocins to inhibit the pathogens is very important for the meat products which have low pH and stored in cold conditions. Since inhibitory spectrums of bacteriocins are limited with closely related species, they are not active against Gram negative pathogen and spoilage bacteria.

TEŞEKKÜR

Tez yöneticiliğimi üstlenerek bu çalışmanın hazırlanmasında bana en büyük desteği sağlayan, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım ve her zaman yararlanacağım sayın hocam Prof. Dr. Mükerrerem KAYA'ya teşekkürü bir borç bilirim.

Erzurum, 2001

Dilara (Tekin) KASİL



1. GİRİŞ

Fermente gıda üretimi, bilinen gıda işleme tekniklerinin en eskilerinden biridir. Süt, et ve sebze fermentasyonları, uygarlığın bilinen ilk yıllarına kadar uzanmaktadır. Bu işlemler doğal olarak karşılanmakta ve bunlarda mikroorganizmaların rolü henüz daha bilinmemektedir. Pek çok üründe üretim, nesilden nesile geleneksel metotların kullanımı ile gerçekleştirilmekteydi. Ancak bu zamanlarda ürünler az miktarda üretilmekteydi (Caplice ve Fitzgerald, 1999).

19. yüzyılın sonlarına kadar fermente bir ürün yapılacağı zaman üründen bir kısım ayrılır ve bu ayrılan kısım bilahare starter olarak sonraki fermentasyon işleminde kullanılırdı. Asya, Avrupa ve Afrika' da, çoğu fermente ürün halen bu şekilde hazırlanmaktadır (Metz, 1993).

Gıdalardaki fermentatif değişikliklerle mikroorganizmaların varlığı arasındaki bağlantı şaraptaki bozulmaların incelenmesi sırasında 1866 yılında Pasteur tarafından bulunmuştur. Gıda endüstrisinde saf starter- kültürlerin kullanımına ait bilimsel ve pratik temeller 1890'larda Almanya'da Weigmann ve ABD'de Conn tarafından atılmıştır. 1892 yılında Kopenhag'daki Chr. Hoisen laboratuvarı süt işleme endüstrisinde kullanım için saf starter kültür suşları satmaya başlamıştır (Metz, 1993).

19. yüzyılın ortalarına doğru gıda fermentasyonlarında bizim anladığımız anlamda üretimde iki önemli gelişme yaşanmıştır. Bunlardan birincisi, endüstriyel gelişim sonucu kentlerde yaşayan insan sayısında bir artış olmuştur. Bu da geleneksel yöntemlerle az miktarlarda yapılan gıda maddelerinin büyük insan kitlelerine yetmeyeceği anlamındadır. İkincisi 1850'lerden sonra mikrobiyolojinin bir bilim dalı haline gelmesiyle fermentasyon işleminin anlaşılmasıdır. Böylece bakteri, maya ve küflerin fermente gıdalardaki gelişimi anlaşılmış ve bunların çoğalmasının daha kontrollü ve daha etkin fermentasyonlara neden olduğu gözlenmiştir (Metz, 1993; Caplice ve Fitzgerald, 1999).

Fermente gıdaların üretimindeki endüstriyel ve bilimsel gelişmeler sevindiricidir. Daha net bir ifade ile geleneksel olarak kullanılan geri mayalama veya doğal fermantasyonlar, endüstriyel boyutta artık geniş bir şekilde kullanılmamaktadır. Özellikle fermente süt ürünleri için karakterize edilen fermantasyondan sorumlu olan mikroorganizmalardan, 19. yüzyılın sonralarına doğru süt işleme fabrikalarında önemli derecede yararlanılmıştır. Bu gelişmeler günümüzde süt fermantasyonlarının en çok araştırılan ve en iyi yapılan gıda fermantasyonlarının arasında olmasına neden olmuştur. Örneğin; pek çok fermente gıdanın üretiminde önemli rolü olan laktik asit bakterileri, genellikle süt kaynaklıdır. 20. yüzyıl boyunca gelişmeler hızla artmış ve günümüzde bu bakterilerin kontrolü 20. yüzyıl öncesine göre hayal edilemez seviyelere ulaşmıştır. Bu, kısmen de olsa kontrollü bir metot kullanılarak milyonlarca litre sütün bir günde peynire işlenmesinin ve üründe en iyi kalitenin elde edilmesinin nasıl gerçekleştiğini göstermektedir (Caplice ve Fitzgerald, 1999).

Uzun yıllar gıdaları daha uzun süre koruyabilmek için çeşitli yöntemler denenmiştir. Gıdaların genellikle ısıtma işlemi, soğutma, dondurma, kurutma veya fermantasyon yöntemleriyle korunmasına çalışılmıştır. Bazen kimyasal maddeler de kullanılmış olmasına rağmen, bu kimyasal maddelerin koruyucu olarak gıdalara katılmaları son yıllarda ortaya çıkmıştır. Böylelikle üretilen ürünlerin özelliklerini kaybetmeden daha uzun süre dayanmaları sağlanarak depolama, ambalajlama ve pazarlamada çeşitli kolaylıklar sağlanmıştır (Güven, 1998).

Gıda güvenliği, tüketicinin korunmasının tam olarak sağlanması bakımından son derece önemlidir. Ancak mikrobiyolojideki gelişmelere rağmen gıda zehirlenmeleri dünya çapında artış göstermektedir. Gıda kaynaklı hastalıklarda (salmonellosis, listeriosis ... gibi) gözlenen en büyük patlamalar son 12 - 13 yılda olmuştur. Modern teknikler ve güvenlik önlemlerinin tanımlanmasıyla gıda biyoteknolojisinde sağlanan gelişmelere rağmen gıda güvenliği halen daha çözüm bekleyen önemli bir konudur (Hugas, 1998; Kelly et al., 1996).

Gıdalardaki arzu edilmeyen bakterilerle mücadele sorunu son yıllarda gıda tüketimindeki pek çok eğilimden etkilenmiştir. Her geçen gün artan sayıda tüketici, az işlenmiş kimyasal koruyucu kullanılmaksızın hazırlanmış, düşük asit, şeker ve yağ içeriği ile karakterize edilen hafif ürünleri ve tüketime hazır, dilimlenmiş, dondurulmuş mamülleri tercih etmektedirler. Tüketime hazır ve yeni gıda tiplerinin fazlalığı aslında çeşitli problemleri de beraberinde getirmektedir. Bu tip ürünler mikrobiyal güvenlik açısından özel dikkat gerektirirler. Bu gıdalar bozulma yapan bakteriler ile psikrotrofik patojenlerin gelişmesi açısından şüphelidir. Bu gıdalara minimum ısı işlem uygulanır ve bu da patojenleri öldürmeye yetmez. Ayrıca bu gıdalarda prezervatif ya çok az kullanılmıştır ya da hiç kullanılmamıştır. Bunlara soğukta muhafaza ve vakum ambalajlama gibi ürünün tazeliğini ve besin değerini önemli ölçüde etkilemeden raf ömrünü artırıcı işlemler uygulanır. Araştırmacılar psikrotrofik gıda patojenlerinin özellikle aerob ve fakültatif anaerobların az sayıda bile olsalar uzun süreli bir depolama sonucunda çoğalıp gıdayı güvensiz hale getirebileceklerini belirtmişlerdir. *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila* ve *Clostridium botulinum*'un proteolitik olmayan tipleri (Tip B ve E), soğukta muhafaza edilen gıdalardan izole edilmişlerdir (Nielsen et al, 1990; Lewus et al., 1991; Holzapfel et al., 1995; Kelly et al., 1996) .

L.monocytogenes ve *A. hydrophila* 5°C 'den düşük sıcaklıklarda, *Staphylococcus aureus* 5 – 12°C arasındaki sıcaklıklarda gelişir. Soğukta muhafaza bunların kontrolü için yeterli değildir. *L. monocytogenes* buzdolabı sıcaklığında gelişebildiğinden Amerika'da bu organizma için tüketime hazır gıdalarda sıfır tolerans limiti konulmuştur. *S.aureus* ise buzdolabı sıcaklığında yavaş gelişip enterotoksin üreterek gıda zehirlenmesine neden olur. *A. hydrophila* da et ürünlerinde bulunabilmekte ve gastrointestinal rahatsızlıklara yol açabilmektedir (Lewus et al.,1991) .

Gıdalardaki bu patojenlerin kontrolünde laktik asit bakterileri büyük paya sahiptir. Laktik asit bakterileri özelliklerine, kullanım amaçlarına göre starter veya koruyucu kültür olarak kullanılmaktadır. Hammes ve Hertel (1998), starter kültürün tanımını “fermantasyon ortamında arzu edilen metabolik aktiviteyi sağlayan canlı ya da dinlenme formundaki (living or resting form) mikroorganizmalar içeren preparatlar ” olarak yapmışlardır.

Süt endüstrisinde uzun zamandan beri starter kültürler kullanılarak fermente ürünler hazırlanırken starter kültürler kullanılarak fermente sosis üretimi yapılan işletme oranı %50'nin altındadır. Aslında pek çok et ürününün üretiminin esası fermantasyon işlemine dayanır. Fermente sosis üreticilerinin çoğu halen daha geri aşılama (daha önceden başarılı olan bir fermantasyondan sosis karışımına aşılama yapma), tecrübeye dayalı prensiplerle işletme florası tarafından aşılama ya da tuzlanmış eti düşük sıcaklıklarda olgunlaştırarak fermentatif mikroorganizmaları zenginleştirme gibi doğal aşılama teknikleri kullanmaktadırlar. Mikrofloranın bu şekilde farklı yollardan oluşturulması arzu edilmeyen değişikliklere yol açabilmekte ve üründe hatalara neden olmaktadır. Oysa yüksek oranlarda (10^7 - 10^9 / g) arzu edilen mikroorganizmaların ilavesi fermantasyon hatalarını azaltmakta veya önlemektedir (Smith ve Palumbo, 1983; Geisen et al., 1992).

Mikroorganizmalar starter kültür olarak süt, et ve sebze işleme, bira ve şarap yapımı gibi pek çok gıda üretim prosesinde başarı ile kullanılmaktadır. Fermente gıdalarda starter kullanımı, ürün ve üretimi optimize etmenin bir yoludur. Günümüzde et endüstrisinde sosis üretiminde yüksek kaliteyi sağlama, varyasyonları azaltma, organoleptik karakteristikleri artırma yönünde gelişmeler sağlanmıştır. Fermantasyon süresinin azaltılması son ürünlerdeki nitrat ve nitrit miktarının düşürülmesi ve organoleptik karakteristiklerinin iyileştirilmesinden dolayı 40 yılda starter kültürlerde önemli gelişmeler olmuştur. Starter kültür kullanımı ile;

- Üretim güvenliği, patojenik mikroorganizmaların gelişimi ve fermantasyon hatalarıyla ilgili risklerin kısmen azalması,
- Üretim modeli, fermantasyon zamanının kısaltılması, üretim süresinin standardize edilmesi ve üretim hattı kapasitesinin artırılması sağlanmıştır (Metz, 1993; Geisen ve Holzapfel, 1996; Hugas ve Monfort, 1997).

Fermantasyon yapabilme özellikleri, sağlık ve beslenmedeki olumlu etkilerinden dolayı, laktik asit bakterileri gıda endüstrisi için önemli mikroorganizma grubunu oluştururlar (Yıldırım ve Yıldırım, 2000). Gıda fermantasyonlarının çoğunda önemli rol oynarlar ve süt, et, sebze ve fırın ürünlerinin üretiminde farklı suş varyeteleri ile yer alırlar (Abee ve ark., 1995).

Laktik asit bakterileri geleneksel gıda fermentasyonlarında flavor ve aroma gelişimine katkıları ve bozulmayı geciktirmelerinden dolayı kullanılırlar (Zamfir et al., 1999). Bunların en önemli katkılarından birisi de ham ürüne oranla raf ömrünü uzatmalarıdır (Abee et al., 1995; Enan ve ark., 1996).

Teknolojik açıdan bakılacak olursa laktik asit bakterileri antimikrobiyal madde üretimi gibi önemli özelliklere sahiptirler (Hugas ve Monfort, 1997). Laktik ve asetik asit oluşumu sonucunda pH'nın düşmesi diğer bakteriler üzerinde antogonistik bir etki yapar (Ahn ve Stiles, 1990a). Ayrıca gıdalardaki patojenler ile bozulmaya neden olan bakterilerin gelişimi, besin maddeleri için rekabet ve laktik ve asetik asitten farklı olarak hidrojen peroksit, etanol, diasetil, CO₂, antibiyotik benzeri maddeler ve bakteriyosin gibi starter derivatlarının varlığına bağlı olarak inhibe edilir (Ahn ve Stiles, 1990 a; Lewus et al., 1991; Stoffels et al., 1992; Abee et al., 1995; Carolissen-Mackey et al., 1997; Zamfir et al., 1999; Zhu et al., 2000; Aymerich et al., 2000; Yıldırım, 2001; Scannell et al., 2001; Messi et al., 2001).

Yüksek oranda koruyucu olmamasına rağmen bazı laktik asit bakterileri bakteriyosin üretirler. Laktik asit bakterileri tarafından üretilen belirli bakteriyosinler *Bacillus cereus*, *C. perfringens*, *Listeria* türleri ve *S. aureus*'u içeren değişik gıda kaynaklı patojenleri inhibe ederler (Lewus et al., 1991). İşlenmiş ürünlerde istenmeyen mikroorganizmaların çoğalmasını sınırlayan muhtemel diğer bir yöntem ise; ürünün duyuşal karakteristiğini değiştirmeksizin biyolojik korumayı hedefleyen, özellikle de bakteriyosin üreten laktik asit bakterileri suşlarının koruyucu kültür olarak kullanılmalarıdır (Kelly et al., 1996).

Aroma ve tekstürde istenen değişiklikleri sağlayan starter kültürler koruyucu kültürlerden önemli bir farkla ayrılır. Bu da, gıdanın kendisini önemli ölçüde değiştirmeden bozucu ve patojen mikroorganizmaları, metabolik ürünleri veya yarışma faaliyeti ile önlemesidir (Geisen ve Holzapfel, 1996). Starter kültürlerin fermente et ürünlerinde aroma ve renk gelişimi ile dayanıklılığı sağladığı; koruyucu kültürün ise gıda zehirlenmelerine neden olan istenmeyen mikroorganizmaları inhibe ederek mikrobiyal

stabiliteyi artırdığı belirtilmektedir (Geisen et al., 1992). İdeal şartlarda kullanılacak mikroorganizmanın hem starter hem de koruyucu fonksiyonları göstermesi arzu edilmektedir. Günümüzde starter ve koruyucu kültürler tek başlarına veya çoklu suşlar halinde gıdalara ilave edilmektedirler (Geisen ve Holzapfel, 1996).

Starter kültürlerle koruyucu kültürler farklı amaçlar için farklı şartlarda uygulanan aynı kültürler olabilir. Starter kültürlerde metabolik aktivite (örn: asit üretimi) teknolojik öneme sahipken antimikrobiyal etki ikincil bir etki oluşturabilmektedir; korucuyu kültürlerde durum tam tersidir (Holzapfel et al., 1995).

Koruyucu kültürler, ilk bakışta gıdaların mikrobiyolojik güvenliğini artırıcı potansiyelleri ile ilave bir güvenlik faktörü olarak düşünülmektedir. Ancak etkinlikleri iyi işleme şartları ile de desteklenmelidir. Böylece bozucu ve patojen mikroorganizmaların gelişme ve yaşama imkanları azaltılmış olur (Holzapfel et al., 1995).

Laktik asit bakterileri, bakteriyosin üretimi bakımından incelenmiş ve pek çok laktik asit bakterilerinin bakteriyosin ürettiği bulunmuştur. Bakteriyosin üreten laktobasiller doğal olarak fermente süt ürünleri, et ve bitki fermentasyonları, starter kültürler, insan - hayvan ve bitki izolatlarından elde edilirler (Klaenhammer, 1988; Yıldırım ve Yıldırım, 2001; Yıldırım, 2001).

Pek çok bakteriyosin üreticisi laktik asit bakterisi suşunun fermente gıdalarda starter kültür olarak kullanıldığı ve bu suşların bakteriyosin üretmeyen suşlarla kıyaslandığında bozulmaya neden olan bakterileri inhibe etmede daha etkin oldukları gözlenmiştir (Nielsen et al., 1998). Gıdalarda bulunan çok sayıda laktik asit bakterisi suşu *L.monocytogenes*, *S. aureus*, *C. botulinum* gibi gıda patojenlerine karşı bakteriyosin üretir (Rodriguez et al., 1997). Bakteriyosinlerin patojenleri inhibe edici etkisi özellikle yüksek asitliğin mümkün olmadığı az işlenen ve soğukta muhafaza edilen etlerde çok önemlidir. Özellikle *L.monocytogenes* 'in buzdolabı sıcaklığında çoğalabilmesi ve *C. botulinum* sporlarının ısıya dayanıklı olması buzdolabında saklanan bu tip et ürünlerinde oldukça önemlidir (Okereke ve Montville, 1991).

Bakteriyosin üretimi laktik asit bakterileri arasında yaygın bir durumdur (Bar et al., 1987; Nielsen et al., 1998). Enterokoklar (D grubu streptokoklar) üzerinde yapılan bir çalışmada test edilen 100 suşun 50 'sinden fazlasının bakteriyosin ürettiği tespit edilmiştir. *L. monocytogenes* ve diğer *Listeria* türlerinin diğer cinslerden elde edilen değişik bakteriyosinler tarafından inhibe edildiği bildirilmiştir (Siragusa, 1992).

Starter kültürler tarafından üretilen bakteriyosinler değişik fermente gıdaların kalite ve güvenliğinin sağlanmasında etkili olan önemli ajanlardır (Yıldırım ve Johnson, 1998). İstenmeyen bakterilere karşı antogonistik aktivite gösteren ve yararlı starter ve starter olmayan laktik asit bakterilerine hiç bir etkisi olmayan bir bakteriyosin, ideal bir gıda koruyucu olarak değerlendirilmektedir (Villani et al., 1993).

Pek çok bakteri, rekabet halinde olduğu türlere karşı antagonistik aktivite gösteren ve ribozomal olarak sentezlenen peptidleri, bakteriyosinleri içerir (Bhunia et al., 1991; Yıldırım et al., 2000). Bakteriyosinler hassas türlere karşı bakteriyosidal ya da bakteriyostatik etki tarzına sahip olan, bakteriler tarafından üretilen protein tabiatındaki bileşiklerdir (Ahn ve Stiles, 1990 a; Manca de Nadra et al., 1998; Nielsen et al., 1998; Zamfir et al., 1999; Yıldırım ve Yıldırım, 2001). Genellikle üretici suşla yakından ilişkili bakterilere karşı aktiftirler, ancak bazılarının etki spektrumunu daha genişler. Bakteriyosinler muhtemelen hassas suşlara karşı üretici suşlara bir büyüme avantajı sağlayarak işlev görürler (Hillier ve Davidson, 1991).

Bakteriyosinler, gıdanın fizikokimyasal yapısını bozmaksızın (asidifikasyon, protein denaturasyonu) patojen ve bozucu bakterileri inhibe eden önemli metabolitlerdir (Yıldırım ve Yıldırım, 2001).

Bakteriyosinler genellikle ısıya dayanıklı olmasına karşın tripsin, pepsin ve diğer proteazlar gibi proteolitik enzimlerle inaktive edilirler. Pek çok yapısal gruba ayrılabilirler: küçük peptidlerden ($MA < 10$ kDa) lantibiyotik tipi bakteriyosinleri içeren büyük proteinlere ($MA > 30$ kDa) ve aktivite için esansiyel olan lipid ve polisakkarit gibi

kompleks bir molekül grubu içerenlere kadar pek çok yapısal gruba ayrılabilirler (Schillinger ve Holzapfel, 1996; Nielsen et al., 1998). Yapısal bakteriyosin genleri operon benzeri gen salkımlarında mevcuttur ki bunlar aynı zamanda bağışıklık, işleme, düzen ve translokasyon fonksiyonları için proteinleri kodlayan genleri de içerir (Schillinger ve Holzapfel, 1996).

Bakteriyosinler moleküler ağırlık, biyokimyasal özellikler, konakçı hassasiyeti ve etki tarzı açısından önemli derecede farklılık gösteren çok geniş bir heterojen bakteriyel engel özelliği sergileyen maddelerdir (Klaenhammer, 1988).

Yeterince tanımlanamayan antagonistik maddeler "bakteriyosin benzeri" olarak ifade edilirler. Gram negatif bakterilerin aksine Gram pozitif bakterilere karşı etkili olan bazı bakteriyosinler daha geniş bir aktivite spektrumuna sahiptirler. Gram pozitif bakteriler tarafından üretilen inhibitör maddeler için bakteriyosin tanımı kullanıldığında bu maddenin peptid yapısında olduğu ve bakteriosidal etkiye sahip olduğu anlaşılmaktadır (Juven et al., 1991).

Bakteriyosinler gıdaya saflaştırılmış ürün olarak doğrudan ilave edilebileceği gibi alternatif olarak peynir, fermente et ürünleri gibi gıdalarda kullanılan bakteriler, bozucu mikroorganizmaların gelişimini önleyecek miktarda bakteriyosin de üretebilir (Hillier ve Davidson, 1991).

Geçen son bir kaç yılda bakteriyosinlerin gıda prezervatifi olarak kullanılabilmelerine dair yapılan çalışmalar önemli ölçüde artmıştır. Bakteriyosinlere ilginin artmasının nedenlerinden birisi protein tabiatında olmaları ve dolayısıyla insan ve hayvan sindirim sistemlerinde kolayca parçalanmalarıdır. 1988 yılında nisin kullanımına dair Amerika' da FDA' nın verdiği izin, gıdalarda bakteriyosin uygulamasının potansiyeli olduğunu göstermiştir (Yıldırım ve Yıldırım, 2001).

Laktik asit bakterileri ve bunların bakteriyosinleri ile et ve et ürünlerinde *L. monocytogenes*' in kontrolü üzerine pek çok araştırma yapılmıştır. Genelde güvenilir

olarak tanınan ve laktik asit bakterileri tarafından üretilen bakteriyosinlerin kullanımları gıdalarda *L. monocytogenes*'i kontrol etmek için önemli bir yöntem olarak kabul edilmiştir. Nisin ve diğer bakteriyosinlerin *L. monocytogenes*'e karşı etkinliği bildirilmiştir (Bruno et al., 1992; Ming et al., 1997; Kalmokoff et al., 1999; Bredholt et al., 1999).

L. monocytogenes, yüksek tuz seviyelerine karşı oldukça toleranslı olması ve nisbeten düşük pH'larda gelişebilmesi nedeniyle gıdalarda kontrolü güç olan bir patojendir. Örneğin 25°C'de pH 7' de %10 NaCl içeren ortam da çoğalabilir, 4 °C'de, %20' lik NaCl' de 8 hafta canlı kalabilir ve 30 °C 4,39 gibi düşük bir pH' da çoğalmasını sürdürebilir (Martinis et al., 1997). Gram pozitif fakültatif anaerob olan *L.monocytogenes*'in neden olduğu listeriosis hamile kadınlar, yeni doğmuş bebekler, küçük çocuklar ve bağışıklık sistemi zayıf yetişkinlerde hayati tehlikeye yol açabilir (Bruno et al., 1992).

Çiğ ve ısıl işlem görmemiş gıdalarda *L. monocytogenes*' in varlığı çevre şartlarındaki yaygın dağılımından dolayı kaçınılmazdır. Toprak, bitki, kanalizasyon ve sudan izole edilmiştir. Isıl işlem sonrasında da gıdalar *L. monocytogenes* ile kontamine olabilmektedir (Bruno et al., 1992 ; Motlagh et al., 1992).

L. monocytogenes, hem kesimhanelerde ve hem de proses çevresinde yaygındır. *L. monocytogenes*' in bulunma oranı taze etlerde % 0 - 92, tüketime hazır ürünlerde % 3 - 13 arasında değişir. Etlerde *L. monocytogenes*'i de içeren istenmeyen bakterileri kontrol etmek için kullanılan doğal metotlar "gıda katkı maddelerine duyarlı" tüketiciler açısından da oldukça önemlidir (Degnan et al., 1992).

Tüketime hazır gıdalar ve “new generation”dondurulmuş gıdalarda düşük seviyelerde bile *L. monocytogenes* halk sağlığı üzerinde önemli bir tehdittir. Çünkü 4 °C'de bile gelişebilirler ve ≥ 21 günlük raf ömrüne sahip olan bu gıdalarda yüksek seviyelere ulaşabilirler. Herhangi bir sıcaklık dalgalanması durumunda daha çabuk çoğalırlar. Bu gıdaların çoğu herhangi bir prezervatif içermez. Bu durum tüketici isteklerinin bu yönde olmasından kaynaklanmaktadır (Motlagh et al., 1992; Juven et al., 1998).

Geleneksel yöntemler uygulanarak üretilen gıdaların koruma faktörlerinin etkisi ile (buzdolabında muhafaza, düşük pH, yüksek tuz konsantrasyonu) patojen mikroorganizma içermediği düşünülmektedir. Halbuki *L. monocytogenes* ile bulaşmış çiğ materyalden yapılmış fermente gıdaların üretimi ve muhafazası süresince canlı kalarak gelişimini sürdürdüğü bilinmektedir (Harris et al., 1991).

Son yıllarda gıda kaynaklı starter kültürlerden elde edilen antimikrobiyal metabolitlerin özellikle de belirli bakteriyosidal peptidler veya bakteriyosinlerin işlenmiş gıdalarda potansiyel biyolojik korucu olarak kullanımları hususu yoğun ilgi görmüştür (Motlagh et al., 1992). *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* tarafından üretilen nisin ve *Pediococcus* türleri tarafından üretilen pediocinler, *L. monocytogenes* gibi Gram pozitif bakterilere karşı bakteriyosidal etkiye sahiptir (El-Khateib et al., 1993; Motlagh et al., 1992). Pediocinler *L. monocytogenes*'i farklı derecelerde inhibe ederler ve süt ürünleri, taze et ve işlenmiş et ürünlerinde etkilidirler (El-Khateib et al., 1993).

Doğal veya katkısız ürünlere karşı artan tüketici talepleri doğrultusunda kimyasal katkı kullanımını azaltacak ya da bunların yerine geçecek doğal inhibitör maddelerin gıda prezervatifi olarak kullanımı büyük ilgi görmektedir (Zhu et al., 2000). Laktik asit bakterisi bakteriyosinlerinin sindirim sistemi proteazları tarafından parçalandıkları ve çoğu laktik asit bakterisinin GRAS özelliğine sahip olması bunların doğal biyolojik koruyucu olarak görülmelerine neden olmaktadır (Aymerich et al., 2000). Ancak bozulmaya neden olan bakteriler ile patojenleri inhibe etmek için laktik asit bakterilerinin biyolojik koruyucu kültür olarak kullanımları bir koruma yöntemi olarak değil de ilave bir engel olarak düşünülmesi gerekmektedir (Anderson, 1997).

2. STARTER KÜLTÜRLER

Fermente et ürünlerinde starter kültürlerin kullanımı ile prosesin kontrol altına alınabilmesi ve standardizasyonu mümkün olmuştur (Scannell et al., 2001). Et teknolojisinde arzu edilen mikroorganizmaların kullanımı dört farklı amaca yöneliktir. Bunları ;

- 1- Güvenliği artırmak (patojenlerin inaktivasyonu)
 - 2- Stabiletayı geliştirmek (abiyotik reaksiyonlar ya da bozucu mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirilen olumsuz değişiklikler inhibe edilerek raf ömrünün uzatılması)
 - 3- Çeşitlilik sağlamak (yeni duysal özellikler sağlamak için ham materyalin modifikasyonu)
 - 4- Sağlık üzerine olumlu etkilerde bulunmak (bağırsak sistemi üzerine olumlu etkilerinden dolayı)
- şeklinde sıralamak mümkündür (Lücke, 2000).

Starter kültürler, genelde gıdanın duysal özelliklerini değiştirmek amacıyla kullanılır. Et fermentasyonlarında laktik asit bakterileri genellikle güvenliği artırmak, stabiletayı geliştirmek ve çeşitliliği sağlamak amaçlarına yönelik olarak kullanılırken, katalaz pozitif koklar, mayalar (*Debaryomyces*) ve küfler (*Penicillium*) gibi diğer organizmalar genellikle arzu edilir duysal özelliklerin stabilize edilmesi ve gerçekleşmesini sağlamak amacıyla yöneliktir (Metz, 1993; Lücke, 2000; Scannel et al., 2001) .

Laktobasiller; Gram pozitif, çubuk şekilli bakterilerdir. Spor oluşturmazlar. Genellikle aerotoleranttır, anaerobik mikroorganizmalar olmaları nedeniyle havanın oksijenini kullanmazlar ve enerjilerini fermentasyon işleminden sağlarlar. Fermentasyonda oluşturdıkları metabolitlere göre *Lactobacillus* cinsi bakteriler homofermentatif ve heterofermentatif olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Homofermentatif laktobasiller şekerlerden yalnızca laktik asit üretirken, heterofermantatif olanlar laktik asite ilaveten asetik asit, etanol ve CO₂ üretirler . Heterofermantatif laktobasiller gaz oluşturmalarından dolayı sucuk, fermente sosis gibi fermente - kuru et ürünlerinde gözenek oluşumuna ya da vakum ambalajlanmış bu tip ürünlerde ya da ham'lerde baloncuklara neden

olduğundan olgunlaştırılmış et ürünlerinin üretiminde arzu edilmezler. Laktobasiller katalaz enzimine sahip olmadıklarından su, O₂ veya kendilerinden kaynaklanan hidrojen peroksiti parçalayamazlar (Geisen et al., 1992).

Koklar (*Staphylococcus*, *Micrococcus*); Gram pozitif, kok şekilli bakterilerdir. Oksijensiz ortamlarda ya çok az ya da hiç gelişemezler ve bundan dolayı fermente kuru et ürünlerinin yüzeye yakın yerlerinde bulunurlar. Laktobasillere göre daha az besine ihtiyaç duyarlar ve kullanılabilir şekerleri absorbe edebilirler. Ayırt edici bir özellik hücre duvarının yapısıdır. *Staphylococcus* cinsi bakteriler hücre duvarını tahrip eden bir enzim olan lysostaphin tarafından parçalanırken *Micrococcus* bu enzime dayanıklıdır ve bu reaksiyon iki cins arasındaki farkı belirlemek amacıyla kullanılır (Geisen et al., 1992).

Maya ve küfler; fermente et ürünleri üretiminde önemlidir ve yalnızca kuru sosislerin yüzeylerinde bulunurlar. Besin istekleri seçici olmayıp düşük pH ve su aktivitesi değerlerine karşı toleranslıdır (Geisen et al., 1992).

Fermente kuru, yarı kuru sosis ve sucuk gibi et ürünlerinde starter kültür olarak kullanılan mikroorganizmaların en önemli özellikleri laktik asit, katalaz üretilmeleri ve nitrat redüktaz aktivitelerine sahip olmalarıdır. Aşağıda bu özellikler üzerinde detaylı bir şekilde durulmuştur.

2. 1. Laktik Asit Üretimi

Fermente et ürünlerinde laktik asit bakterileri tarafından gerçekleştirilen en önemli değişiklik laktik asit üretimi ile pH'nın düşürülmesidir. pH: 5,3 ya da daha altındaki değerlerde et proteinlerinin koagülasyonuna bağlı olarak ürün daha çabuk stabil hale gelir, kuruması kolaylaşır (düşük su bağlama), aside hassas mikroorganizmaların inhibisyonu sağlanır. Laktik asit üretiminin hızı laktik asit bakterilerinin başlangıç sayısı, sıcaklık ve şeker tipine bağlıdır (glukoz ve sakkaroz çabuk fermente olurken laktoz daha yavaş fermente olur). Ancak pH'nın pH 5.4'ün altına düşmesi renk ve aroma oluşumu üzerinde etkili olan katalaz pozitif kokların olumsuz yönde etkilenmesine neden olur.

Laktik asit bakterileri ayrıca aroma oluşumuna da etki ederler. Starter kültür olarak kullanılan laktik asit bakterileri homofermantatif olup karbondioksit (CO₂) ve asetik asit gibi istenmeyen metabolitleri pek üretmezler (Tablo 2.1). Bazı *Lactobacillus* türleri O₂ varlığında hidrojenperoksit üretirler (*L.sakei* ve *L.curvatus* suşları) ve katalaz aktiviteleri olmamasından dolayı parçalanamayan hidrojenperoksit çoklu doymamış yağ asitlerini ve kürlenme pigmentlerini okside edebilir ve bu da erken acılaşma ve renk hatalarının oluşumuna neden olur (Geisen et al., 1992).

Tablo 2.1 : Teknolojik Öneme Sahip Laktik Asit Bakterilerinin Fizyolojik Karakteristikleri (Geisen et al., 1992).

Karakteristik	<i>L.plantarum</i>	<i>L.sakei</i>	<i>P.pentosaceus</i>	<i>P.acidilactici</i>
Katalaz	-	-	-	-
Glikozdan gaz	-	-	-	-
Laktik.a.konfigurasyonu	DL	DL	DL	DL
Asit Üretimi				
D-sakkaroz	++	++	++	+
D-maltoz	++	+	++	-
D-laktoz	++	++	++	-
D-mannit	++	-	-	-
D-sorbit	++	-	-	-
D-ksiloz	-	-	+	++
D-selebiyoz	++	+	++	++
Tuz varlığında gelişme				
% 8	++	++	++	++
% 10	- / az	- / az	+	++
Sıcaklıkta gelişme				
2 °C	-	+	-	-
4 °C	+	++	-	-
15 °C	++	++	++	++
45 °C	++	-	++	++
Lipolitik aktivite	-	belirlenmedi	-	-

++ : test edilen bütün suşlarda mevcut.

- : test edilen suşlarda mevcut değil .

+ : test edilen bütün suşlarda mevcut değil .

2. 2. Nitrat Redüktaz ve Katalaz Aktiviteleri

Kokların femente et ürünlerinde iki önemli etkisi vardır. Nitrat redüktaza sahip olduklarından nitrata nitrite indirgeyebilirler. Nitrit, stabil kür edilmiş et renginin elde edilmesi açısından önemlidir. Nitrat redüktaz aktivitesine sahip bakteriler nitriti amonyağa dönüştürme yeteneğine sahiptirler ve bu da et ürünü ile nitritin tüketici tarafından vücuda alınmasını azaltır. Kütleme salamuralarındaki Gram negatif bakteriler de nitrata indirgenmesine yardımcı olurlar. Mikrokok ve stafilokoklar oksijen istekleri ve minimum gelişme sıcaklıklarının yüksek olması (10°C) nedeniyle kütleme salamuralarında sınırlı olarak kullanılabilirler. Oksijen isteklerinden dolayı fermente kuru sosis karışımlarında güçlüklerle gelişirler. Bu nedenle bu bakterilerin sucuk ve fermente sosis hamurlarına yeterli oranda ($10^6 - 10^7$ / g) inokule edilmesi gerekir. Bu bakterilerin diğer önemli bir özelliği hidrojen peroksiti parçalayıp zararsız hale getiren katalaz enzimine sahip olmalarıdır. Lipolitik aktivitelerine bağlı olarak ürün aromasının gelişimi üzerinde etkileri vardır. Aside dayanıksızdırlar ve metabolik olarak yalnızca 5.4'den yüksek pH'da aktiftirler. Bu da kolay fermente olabilir şekerlerin ilavesi ile hızlı pH düşüşü sonucunda bu mikroorganizmaların inaktive olacağı ve olumlu etki yapmalarının önleneceği anlamındadır (Geisen et al., 1992; Gökalp vd., 2001).

Yapılan bir araştırmada bir et starter kültüründe arzu edilen karakteristikler incelemiştir. Araştırma sonuçlarına göre mikroorganizma; (a) tuz ve nitrite toleranslı (% 6 NaCl ve 100 ppm nitrit), (b) optimum gelişme sıcaklığı 32 °C olmak üzere 27 – 43 °C arasında gelişebilmeli, (c) arzu edilmeyen koku veren bileşikler üretmemeli ve (d) sağlığa zararlı olmamalıdır (patojen olmamalı ya da metabolizma ürünü olarak toksik bileşikler üretmelidir). Eğer starter kültür bir laktik asit bakterisi ise homofermentatif olmalıdır. Aksi durumda laktik asitten başka oluşacak gaz ve diğer fermentasyon ürünleri istenmeyen flavor gelişimine ve bazı olumsuzluklara neden olurlar (Smith ve Palumbo, 1983).

Günümüzde fermente kuru ve yarı kuru sosis üretiminde kullanılan starter kültürler 2 kategoriye ayrılırlar. İlk sınıf starter preparatlar bitkisel orijinli laktik asit bakterini içerir

(*L. plantarum*, *P. pentosaceus*). İkinci sınıf starter kültürler ise özellikle etin fermantasyon ekolojisine adapte olan et kaynaklı laktik asit bakterileridir. *L. sakei* ve *L. curvatus* 2. sınıf laktik asit bakterileri arasında en çok kullanılanlarıdır ve sonuçlar bunların bütün fermantasyon ve olgunlaştırma işlemlerini kontrol ettiğini, spontan laktik asit bakterilerinin gelişimini inhibe ettiğini göstermektedir. Tablo 2.2' de et teknolojisinde yaygın olarak kullanılan starter kültürler görülmektedir. Birinci sınıf laktik asit bakterilerinin kullanıldığı fermantasyon prosesleri arzu edildiği gibi gerçekleşir ancak spontan laktik asit bakterileri gelişebilir ve son üründe arzu edilmeyen duyuşal özelliklerin gelişimine neden olabilirler. Pek çok *Lactobacillus* cinsi bakteri hidrojen peroksit oluşturarak rengin bozulmasına neden olur (Hugas ve Monfort, 1997).

Tablo 2. 2. Et Teknolojisinde Starter Kültür Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar (Hammes ve Hertel 1998).

BAKTERİLER			
Laktik asit bakterileri	Actinobacteria	Staphylococci	Halomanadaceae
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ^a	<i>Kocuria varians</i> ^b	<i>Staphylococcus xylosus</i>	<i>Halomonas elongata</i>
<i>L. alimentarius</i>	<i>Streptomyces griseus</i>	<i>S. carnosus</i> subs.	
<i>L. casei</i>	<i>Bifidobacterium</i>	<i>carnosus</i>	
<i>L. curvatus</i>	türleri	<i>S. carnosus</i> subs. <i>utilis</i>	
<i>L. plantarum</i>		<i>S. equorum</i>	
<i>L. pentosus</i>			
<i>L. sakei</i>			
<i>Lactococcus lactis</i>			
<i>Pediococcus acidilactici</i>			
<i>P. pentosaceus</i>			
	KÜFLER	MAYALAR	
	<i>Penicillium nalgiovense</i>	<i>Debaryomyces hansenii</i>	
	<i>P. chrysogenum</i>	<i>Candida famata</i>	
	<i>P. camemberti</i>		

a) Probiyotik kültürlerde kullanılır.

b) Önceleri *Micrococcus varians* olarak adlandırılmıştır

3. KORUYUCU KÜLTÜRLER

Koruyucu kültürler, üründe gıda zehirlenmesine neden olan organizmaların gelişimini baskı altına alabilen mikroorganizmalardır (Geisen et al., 1992; Kotzekidou ve Bloukas, 1995). Başka bir ifade ile yalnızca patojenleri inhibe etmek ve / veya raf ömrünü artırmak amacıyla kullanılan ancak ürünün duyuşal özelliklerini de mümkün olduğunca az değiştiren antagonistik kültürler " koruyucu kültür " olarak adlandırılır (Lücke, 2000).

Patojenlerin inhibisyonu için geliştirilen stratejiler patojen mikroorganizmalar için seçici değildir ve bu yüzden bozulmaya neden olmayan mikroorganizmalar da inaktif hale gelebilirler. Engel etkenler teknolojisinde bozulmaya neden olan mikroorganizmalar ile patojenlerin engellenebildiği daha seçici koruyucu faktörler (engeller) serisi oluşturmak amacı ile mevcut tekniklerle (sıcaklık, su aktivitesi, pH, Eh, prezervatifler gibi) yeni koruma tekniklerinin (gaz ambalajlama, biyolojik konservasyon, bakteriyosinler, ultra yüksek basınç uygulaması gibi) kombine halde kullanılması söz konusudur (Hugas, 1998).

Biyolojik koruma artan raf ömrüne paralel olarak doğal ve kontrollü mikroflora ve / veya onların antibakteriyal ürünlerinin kullanılarak gıdaların güvenliğinin artırılmasıdır (Stiles, 1996).

Et ürünlerinde son 10 yılda önemli değişiklikler olmuştur. Bu değişiklikler kalitede olduğu kadar gıda hijyeni ve beslenme istekleri sonucunda da ortaya çıkmışlardır. Dağıtım, küçük toptancılardan hipermarketler yönünde değişmiştir ve alışveriş sıklığı da azaldığından tüketici daha stabil ve daha güvenli, uzun raf ömürlü ve kimyasal koruyucu içermeyen ürünler istemektedir. Bu açıdan ürünlerde biyolojik koruma daha da önem kazanmıştır. Dilimlenmiş, tüketime hazır et ürünlerinde antilisteriyal aktiviteli bakteriyosin üreten laktik asit bakterilerinin yarışmacı mikroflora oluşturduğu gözlenmiştir (Hugas ve Monfort, 1997).

Koruyucu kültürler ilk bakışta gıdaların mikrobiyolojik güvenliğini artırıcı potansiyelleriyle ilave bir güvenlik faktörü olarak görülürler. Etkinlikleri iyi işleme şartları ile desteklendiği takdirde bozucu mikroorganizmalar ile patojenlerin gelişme ve yaşama riski azaltılmış olur. Ayrıca uygun olmayan şartlarda bekletme ve taşıma sırasındaki metabolik aktiviteler (asit ya da gaz oluşumu) mikrobiyal risk indikatörü olarak görülebilir (Holzapfel et al., 1995).

Laktik asit bakterileri genellikle “food grade”organizmalar olarak düşünülür. Yeni bin yılın insanları için pek çok gıda fermantasyonunda yer alan bu grubun herhangi bir sağlık riski taşımadığı ve bazılarının GRAS organizma olarak gösterildiği belirtilmiştir (Holzapfel et al., 1995). Tablo 3.1’de koruyucu bir kültürde arzu edilen özellikler özetlenmiştir.

Tablo3.1. Koruyucu Kültürlerde Arzu Edilen Özellikler (Holzapfel et al., 1995)

- Sağlık riski taşımamalıdır
▪ Toksin üretmemeli
▪ Sağlığa zararlı biyojenik aminler ve diğer metabolitleri üretmemeli
▪ Patojen olmamalı
- Üründe yararlı etkiler oluşturma
▪ Ürüne / substrata adaptasyonu iyi olmalı
▪ Kararlı bir koruyucu özellik göstermeli
▪ Mevcut şartlarda metabolik aktivite önceden bilinmeli
▪ Spontan organizmalarla rekabet edebilmeli
▪ Özel enzimatik aktiviteler göstermeli
- nitrat redüktaz
- katalaz
- İdeal üretim şartlarında ürün üzerinde herhangi bir olumsuz (duyuşsal) etkinin olmaması
- Olumsuz şartlarda indikatör olarak fonksiyon göstermeli

Bijolojik koruma gıda et teknolojisinde 4 farklı şekilde uygulanabilir (Stiles, 1996; Schillinger et al, 1996) .

Bakteriosin üreten laktik asit bakteri saf kültürünün ilavesi: Bu yöntemde başarı belirli çevresel ve teknolojik şartlarda (sıcaklık, pH, katkı maddeleri gibi) gıdadaki kültürün gelişim ve bakteriyosin üretimine bağlıdır. Et, laktik asit bakteri kültürü ilavesinden önce pastörize edilmeyecekse, etin fermantasyon yoluyla ya da biyolojik olarak korunmasında kullanılan laktik asit bakteri kültürü mikroflora ile rekabet edebilmelidir.

Ham bakteriyosin preparatının ilavesi: Bu preparat, kompleks bir substrat üzerinde bakteriyosin üreten bir laktik asit bakterisinin geliştirilmesi ile elde edilen fermantasyon sıvısı ya da konsantratıdır.

Saflaştırılmış ya da yarı saflaştırılmış maddelerin ilavesi: Bu medotla kullanılan bakteriosinin dozajı daha doğru ve daha çok fikir vericidir. Bununla birlikte uygulama gıda katkıları ile ilgili ulusal kurallarla sınırlıdır.

Sıcaklık artışına karşı mezofilik laktik asit bakterilerinin ilavesi: Bu durumda koruyucu suş, soğuk şartlarda başlangıç konsantrasyonunda kalacaktır. Sıcaklığın artış gösterdiği durumlarda suş, patojenik bakterilerin önünde rekabet edici seviyede çoğalarak sağlık açısından olumsuzluğu ortadan kaldıracaktır.

4. LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN ANTAGONİZM MEKANİZMALARI

Laktik asit bakterileri besin ve oksijen rekabeti, bağlanma / yapışma (attechment / adhesion) yerleri için rekabet, laktik asit ya da laktik ve asetik asitler, asetoin, diasetil, hidrojenperoksit, reuterin ve bakteriyosinler (Tablo 4.1) gibi geniş bir inhibitör madde üretimi gibi pek çok mekanizma ile bozulmaya neden olan bakteriler ile patojenleri inhibe ederler (Holzapfel et al., 1995; Hugas, 1998; Caplice ve Fitzgerald, 1999; Çon ve Gökalp, 2000).

Tablo 4.1. Laktik Asit Bakterilerinin Antimikrobiyal Aktiviteye Sahip Metabolik Ürünleri (Holzopfel ve ark;1995)

Ürün	Hedef Organizma
Organik asitler	
-laktik asit	Putrefaktif ve Gr(-) bakteriler, bazı mayalar
-asetik asit	Putrefaktif bakteriler, <i>Clostridium</i> , bazı maya ve küfler
Hidrojen peroksit	Özellikle proteince zengin gıdalardaki bozucu ve patojen organizmalar
Enzimler	
-H ₂ O ₂ li laktoperoksidaz sistemi	Patojen ve bozucu bakteriler (Süt ve Süt ürünleri)
-Lizozim	İstenmeyen Gr(+) bakteriler
Düşük molekül ağırlıklı metabolitler	
-reuterin (3-OH-propionaldehit)	Geniş bakteri spektrumu, maya ve küfler
-diasetil	Gr(-) bakteriler
-yağ asitleri	Çeşitli bakteriler
Bakteriosinler	
-Nisin	Bazı laktik asit bakterileri ve özellikle endospor oluşturan Gr(+) bakteriler
-Diğerleri	Bakteriyosin tipi ve üretici suşa bağlı olarak Gr(+) bakterilere karşı inhibitör.

4. 1. Besin İçin Rekabet

Besin için rekabet genellikle mikroorganizmanın yaşamında önemli olan bir besinin sınırlı olduğu ve yarışma halindeki iki organizma için de gerekli olduğu hallerde olur. Bu durumda substrata daha iyi adapte olup daha çabuk gelişen organizmalar daha şanslıdır. Fermente ürünlerde bu her zaman olmaz, çünkü bu ürünlerde her zaman yeterli besin maddeleri mevcuttur (Geisen et al., 1992).

4. 2. Organik Asit Üretimi

Laktik asit bakterilerinin karakteristik ürünü olan laktik asit, pH' yı putrefaktif (*Clostridium* cinsi bakteriler ve pseudomonaslar), patojen (*Salmonella* ve *Listeria*) ve toksijen (*S. aureus*, *B. cereus*, *C. botulinum*) bakterilerin inhibe edilebileceği ya da lize olacağı seviyelere indirir. Laktik asitin inhibisyon etkisi bir yandan pH' yı düşürme (bu aynı zamanda nitriti daha da etkin kılar) diğer yandan da disosiye olmamış formu ile

bakteriyostatik etkisinden kaynaklanmaktadır. Organik asitler mikroorganizmaları farklı derecelerde etkilerler. Bu, farklı asitlerin mevcut pH değerlerinde farklı oranda disosiyasyon olmalarının ve disosiyasyon olmamış asitlerin yağlar ve biyolojik membranlarda farklı oranlarda çözünmelerinin doğal bir sonucudur. Yağ çözünürlüğünde önemli olan disosiyasyon olmamış asit, bakteriyal hücreye difüze olur ve böylece intraselüler pH'ı azaltarak metabolik aktiviteyi yavaşlatır. Fermente sosis fermantasyonunda pH'ın 5,3'ün altına hızlı düşüşünün *Salmonella* ve *S. aureus*'un gelişimini inhibe etmeye yeterli olduğu bildirilmiştir (Geisen et al., 1992; Holzapfel et al., 1995).

Yüksek disosiyasyonundan dolayı asetik asit, laktik asitten daha güçlü inhibisyon gösterir; maya, küf ve propiyonik asit bakterilerini inhibe edebilir (Geisen et al., 1992; Holzapfel et al., 1995; Caplice ve Fitzgerald, 1999).

Fermantasyon aşamasında hızlı bir şekilde pH'ı düşürerek istenmeyen bakterilerin inhibisyonu mümkün olmaktadır. Ancak aşırı pH düşüşü üründe ekşi bir tada sebep olur. Bu da tüketici istekleri açısından önemlidir. pH düşüşü ilave edilen şeker miktarı ve tipinin kontrolü, olgunlaşma sıcaklığının ve ilave edilen laktik asit bakterilerinin ayarlanması ile kontrol edilebilir. Yapılan bir çalışmada % 0.3 glikoz ya da % 0.5 laktoz ilavesinin pH'ı 5.3 ve daha altına indirmeye yeterli olduğu ve bu pH'ın altında kuru sosislerde *Listeria*, *Salmonella* ve *S. aureus*'un gelişmesinin güçleştiği belirtilmiştir (Geisen et al., 1992).

Schilinger ve Lücke (1988) taze Mettwurst'ta şeker ilave etmeksizin ilave edilen *L. sakei*'nin *Salmonella*'nın gelişimini baskı altına aldığını göstermiştir. Bu inhibisyon etkin doğal yapısındaki şeker kalıntılarından laktik asit üretimi ve pH'ın düşmesi ile ilgilidir. Bu antagonistik etki yalnızca pH'ı en çok 5.8 olan çiğ et materyalinin kullanılması durumunda gözlenmiştir. Ancak daha yüksek bir pH'da *Lactobacillus* ilavesi dahi *Salmonella*'nın gelişimi önlenememiştir.

4. 3. Bakteriyosinler

Bakteriyosinler ribozomal olarak bakterinin vejetatif formu tarafından üretilen, birincil olarak üretici suşla yakından ilişkili oldukları organizmalara karşı aktif olan bir grup antimikrobiyal peptid ya da proteinlerdir (Holzapfel et al., 1995). Laktik asit bakterileri tarafından üretilen bakteriyosinler bakteriyel ribozomal sentezin modifiye ya da primer ürünleri olarak düşünülürler ve bunların nisbeten sınırlı bakteriyosidal aktivite spektrumları vardır (Juven et al., 1991; Geisen et al., 1992; Hugas, 1998; Caplice ve Fitzgerald, 1999). İleride bakteriyosinler hakkında daha geniş bilgi verilmiştir.

4. 4. Hidrojen Peroksit

Laktik asit bakterileri tarafından hidrojen peroksit oluşumu oksijen varlığında gerçekleşmektedir. H_2O_2 'nin biriktiği ve bazı mikroorganizmalara karşı inhibitör olduğu öne sürülmektedir. *Pseudomonas* türleri ve *S. aureus* gibi istenmeyen bakteriler hidrojen peroksit laktik asit bakterilerinden 2-10 kat daha hassastırlar (Holzapfel et al., 1995). Bu inhibisyon, membran lipidleri ve hücre proteinleri üzerine kuvvetli oksidasyon etkisi ile oluşmaktadır. Hidrojen peroksit aynı zamanda taze sütte hipotiyosiyonat ve diğer antimikrobiyal maddelerin oluşması ile laktoperoksidoz sisteminin aktif hale gelmesini de sağlar. Bununla birlikte flavo proteinler ve hidrojenperoksitin parçalanmasını sağlayan peroksidaz enzim sistemlerinin varlığından dolayı canlıda hidrojenperoksidin antibakteriyal etkiye sahip olup olmadığı kesin değildir (Caplice ve Fitzgerald, 1999).

4. 5. Düşük Moleküler Ağırlıklı Metabolitler

Bazı düşük molekül ağırlıklı birincil metabolitler, nisbeten kuvvetli antimikrobiyal aktiviteye sahiptirler (Tablo 4.2) .

Tablo 4. 2. Düşük Molekül Ağırlıklı Antimikrobiyal Ürünler (Helander et al, 1997) .

Bileşik	Üretici organizma	Hedef mikroorganizma
Alkoller	Maya , heterofermentatif LAB	Mikroorganizmaların tümü
CO ₂	Heterofermentatif LAB	Mikroorganizmaların çoğu
Diasetil	<i>Lactococcus</i> türleri	Mayalar (> 200 ppm) Gr (-) bakteriler(> 300 ppm) Gr (+) bakteriler
Reuterin	<i>Lactobacillus reuteri</i>	Geniş bir etki spektrumunu Gr (+) ve Gr(-) bakteriler ve küfler

Alkoller: Laktik kültürler tarafından etanol üretebilmesine rağmen gıda sistemlerinde üretim seviyesi az olduğundan antibimikrobiyal aktivitesi minimal seviyededir (Caplice ve Fitzgerald, 1999).

CO₂: Heksozlardan heterofermentatif bakterilerin faaliyeti sonucunda oluşur. Direkt olarak anaerobik bir ortam oluşturduğundan ve iç ve dış pH' yı düşürdüğünden bazı aerobik putrefaktif bakterilere karşı direkt olarak toksik etkiye sahipken, bazılarında gelişimini artırabilir (Holzapfel et al., 1995; Caplice ve Fitzgerald, 1999).

Diasetil: Sitrat metabolizmasının bir ürünüdür ve tereyağı ve diğer bazı fermente süt ürünlerinin aroma ve flavor gelişiminden sorumludur. Sitrik asitten *Lactococcus*, *Leuconostoc* ve *Pediococcus* türlerinin faaliyeti sonucunda üretilir. Gram negatif bakteriler ile maya ve küfler, Gram pozitif bakterilere oranla diasetile daha hassastırlar. Gıda fermentasyonlarında antibakteriyal etki gösterecek miktarlarda nadiren bulunurlar. Ayrıca keskin aromasından dolayı gıda korumada önemli bir rolü yoktur (Holzapfel et al., 1995; Caplice ve Fitzgerald, 1999).

Reuterin (3-hidroksipropionaldehit): Glikoz ve gliserol ya da gliseraldehit karışımında *Lactobacillus reuteri*'nin stationary fazda gelişimi boyunca üretilir. Bakterilere olduğu

kadar virüs, küf ve protozoaları etkileyen genel bir antimikrobiyal spekturuma sahiptir. Ribonükleotid redüktazın inhibisyonuna dayanan antimikrobiyal aktivitesi vardır ve balıkların biyolojik olarak korunmasında tavsiye edilir (Holzapfel et al., 1995; Caplice ve Fitzgerald, 1999).

5. BAKTERİYOSİNLER

Bakteriyosin teriminden bakteriler tarafından üretilen ve diğer mikroorganizmalara karşı inhibitör etki gösteren maddeler anlaşılmaktadır. Gıda endüstrisinde bakteriyosinlerin kullanım potansiyeli bu alanda araştırmaların artmasına neden olmuştur. Bakteriyosinler, gıda kaynaklı patojenleri inhibe ederek, gıdaların korunmasına yardım ederek, fermentasyonu kontrol ederek ve mikrobiyal aktiviteye bağlı olarak ürünün stabilite ve raf ömrünü artırırken gıdaların bozulmasını azaltarak ya da önleyerek gıdaların güvenliğini sağlamada etkili bir araç olarak düşünülmüşlerdir. Günümüzde bakteriyosinleri proseslere ve ürünlere dahil etmek için pek çok çalışma yapılmaktadır. Buna rağmen yalnızca nisin FDA tarafından GRAS olarak kabul edilmektedir (Klaenhammer 1993; Eckner, 1992).

Gıdalara ilave edilmeyen antibiyotiklerle kıyaslanırsa bakteriyosin veya bakteriyosin üreten laktik asit bakterilerinin gıdalara ilavesi özellikle sosis ve salam gibi düşük asitli emülsiyon tipi et ürünlerinde patojen mikroorganizmaların inhibisyonunda büyük önem taşımaktadır (Harris et al., 1989; Berry et al., 1991; Okereke ve Montville, 1991; Degnan et al., 1992). Protein tabiatında olmayan antibiyotikler gıdalarda istenmeyen mikroorganizmaların baskı altına alınmasına uygun değildir. Halbuki bakteriyosinler protein tabiatında olmalarından dolayı mide ve ince bağırsaktan geçerken mevcut proteazlarla aminoasitlere parçalanabilme yeteneğine sahiptirler ve böylece antibiyotiklerin aksine aktif bileşik olarak vücut tarafından absorbe edilmezler ve kalın bağırsağın florasına geçmezler. Şimdiye kadar bilinen bakteriyosinlerin çoğu 30-60 aminoasit rezidüsü içeren katyonik bileşiklerdir ve termostabildirler (Holzapfel et al., 1995; Hugas, 1998; Caplice ve Fitzgerald, 1999).

Bakteriyosinlerin genel özellikleri şöyle sıralanabilir:

- Yakın ilişkili oldukları türlerin aktivitelerine sınırlı inhibitör spektrumu
- Özel hücre reseptörlerine tutunma
- Bakteriyosin üretiminin plazmid kaynaklı determinasyonu ve konakçı hücrenin bakteriyosin bağışıklığı (Juven et al., 1991).

Bakteriyosinlerin hedefi stoplazmik membrandır ve Gram negatif bakterilerin dış membranlarındaki lipopolisakkaritin sağladığı koruyucu bariyerden dolayı bunlar yalnızca Gram pozitif hücrelere karşı aktiftirler (Hugas, 1998; Caplice ve Fitzgerald, 1999).

Bakteriyosin terimi ilk kez Jacob ve arkadaşları tarafından kullanılmıştır. Onların tanımı; türler arası antagonistik etkiler ile kolisin proteinlerine tekabül etmekteydi. Benzer tabiatta daha fazla madde bulundukça terimin kapsamı da genişledi. Günümüzde gıda endüstrisi ile bağlantılı olarak en iyi karakterize edileni nisin olmak üzere pek çok bakteriyosin mevcuttur (Eckner, 1992).

Bir bakteriyel ürünün bakteriyosin olarak tanımlanabilmesi için aşağıdaki kriterler dikkate alınmaktadır (Eckner, 1992; Gürsel, 1999):

- a . Aktivite için esansiyel , biyolojik bir kısma sahip olması .
- b . Bakteriyosidal etki göstermesi .
- c . Diğer bakteri suşlarına karşı sınırlı bir aktivite spektrumuna sahip olması .
- d . Spesifik hücre reseptörlerine tutunması .
- e . Üretimin ve konakçı hücre bağışıklığının plazmid kaynaklı genetik determinantlara bağlı olması.
- f . Üretimin letal biosentez yolu ile gerçekleşmesi .

Buna göre ilk iki faktörü karşılayanlar bakteriyosin, henüz yeterince tanımlanamayanlar ise bakteriyosin benzeri metabolit olarak adlandırılırlar (Gürsel, 1999).

Bakteriyosinlerden biyokoruyucu olarak yararlanma konusunda artan bir ilgi bulunmakla birlikte bunların etkinliği sınırlı düzeydedir. Bakteriyosinler gıdalarda bozucu etki

gösteren ve patojen olan Gram negatif bakterilerle, maya ve küflere karşı etkili değildirler. Bozulmaya yol açan ve patojen olan Gram pozitif bakterilerin (vejetatif hücre ve sporlara) hepsini etkilememekte ve konakçı bakteri aralığı geniş ya da dar sınırlar arasında değişim göstermektedir. Ayrıca duyarlı Gram pozitif suşlarda bile, bakteriyosin varlığında çoğalabilen dayanıklı variant hücrelere rastlanabilmektedir. Bu nedenle, bakteriyosinlerin birkaçı kombine halde kullanılmak suretiyle etkinlikleri ve antibakteriyal spektrumları artırılabilir (Gürsel, 1999).

Bakteriyosinlerin inhibitör spektrumu yakın ilişkili olduğu organizmalarla sınırlıdır. Bu nedenle koruyucu kültürler tarafından üretilen bakteriyosinler diğer arzu edilir kültürleri inhibe edebilir. Ayrıca yukarıda da belirtildiği gibi Gram negatif patojen ve bozucu bakterilere karşı etkili değildirler (Tagg et al., 1976).

5. 1. Bakteriyosin Üretimi ve Aktivitesini Etkileyen Faktörler

Gıdalarda bakteriyosin üreten laktik asit bakterileri veya bakteriyosinlerin etkinliğine tesir eden faktörler şunlardır (Schillinger et al., 1996):

- Bakteriyosin üreten laktik asit bakterilerini etkileyen faktörler ;
 Bakteriyosin üretimi için uygun olmayan şartlar (örneğin pH, sıcaklık, besin)
 Bakteriyosin üretim yeteneğinin kendiliğinden kaybı
 Faj infeksiyonu
 Gıdada mevcut diğer mikroorganizmalar tarafından inhibisyonu
- Bakteriyosinleri etkileyen faktörler ;
 Bakteriyosine dayanıklı patojen ya da bozucu bakterilerin varlığı
 Proteazlar ve oksidasyon işlemleri gibi proteinlerin biyolojik aktivitesini destabilize eden şartlar
 Protein yüzeylerine ya da yağ parçaları gibi bileşiklere bağlanma
 Diğer katkılar tarafından inaktive edilme
 Zayıf çözünürlük ve gıda matrisinde düzensiz engellenme
 Bakteriyosin stabilitesi ve aktivitesi üzerinde pH etkileri

Üretim şartları bakteriyosin üretimini etkileyebilir. Bazı Gram pozitif türler yalnızca katı kültür ortamlarında bakteriyosin üretebilirler. Sıvı ortamın viskozitesinin artırılması oral streptokoklar tarafından üretilen bakteriyosin miktarını arttırdığını göstermiştir. Ortamda bulunan belirli bileşikler, protein takviyesi, manganez gibi metal iyonları ve şekerler, bakteriyosin üretimi için gerekli olabilir. Sıcaklık, gelişme fazı, redoks potansiyeli ve pH da bakteriyosin üretimini önemli ölçüde etkiler (Eckner,1992).

Ortamın kompozisyonu: 15 bakteriyosin üreticisi *Lactococcus* suşunun araştırılması sırasında, bakteriyosin üretimi için 5 farklı ortam kıyaslanmış ve sonuçta farklı neticelere ulaşılmıştır. Başka bir çalışmada ise, maksimum pediocin PA-1 üretiminin MRS sıvı besi yerinde % 2 maya ilavesi ile gerçekleştiği bildirilmiştir. Ortamda kullanılan bazı bileşikler bakteriyosin koruyucu etkiye sahiptir. Bazı bakteriyosinler için antibakteriyal aktivite sıvı ortamda değil, katı ortamda kendini gösterir. Örneğin *L. acidophilus*'tan elde edilen lactocin B ve *L. plantarum*'dan elde edilen plantacin B, agarda belirlenebilirken sıvı kültür ortamında belirlenememiştir (Schillinger, 1990).

Gelişme fazı: Üretilen bakteriyosin miktarı üretici bakterinin gelişme fazına bağlıdır. Helveticin J, sakacin A ve plantaricin A'nın maksimum birikiminin orta ya da geç logaritmik fazda olduğu ve bundan sonra herhangi bir artış olmadığı bildirilmiştir. Aksine lactocin 27'nin en yüksek üretiminin erken durgun fazda olduğu bildirilmiştir. Uzun bir inkübasyon periyodunda aktivite kaybı, organizmaların kendileri tarafından üretilen proteolitik enzimler tarafından gerçekleştirilen inaktivasyonun bir sonucu olabilir. Aynı zamanda bakteriyosinlerin gelişimin ileri basamaklarındaki artan asidik şartlara dayanıklı olmamaları da bir olasılıktır (Schillinger,1990).

pH: Bakteriyosin üretim ve stabilitesi üzerinde, ortamın başlangıç pH'sı da etkilidir. Lactocin B üretimi pH'nın 5,9'den 7,0'ye yükselmesi durumunda artmakta ve başlangıç pH'sı 5,9'un altına düştüğünde azalmaktadır. Aksine helveticin J'nin pH 5,5'de maksimum üretiminin mümkün olduğu görülmüştür. Lactostrepsinler pH 4,6-5,0'da tamamen aktiftirler ve antibakteriyal aktiviteleri pH 4,6'dan 7,0'ye yükseldiğinde

tamamen kaybolur. Lactocin F'nin üretimi MRS sıvı besi yerinde pH 7,0'de sabit kaldığında maksimum olabilir (Schillinger,1990).

İnkübasyon sıcaklığı ve süresi: Bakterinin gelişmesi için optimum olan sıcaklık bakteriyosin aktivitesinin gözlenebilmesi için de optimum sıcaklık değeridir. Laktik asit bakterileri için bu sıcaklık genellikle 32°C'dir. İnkübasyon süresi uzadıkça bakteriyosin aktivitesi azalmaktadır. Bunun nedeni artan asitlik ile bakteri tarafından açığa çıkarılan proteazlardır (Yıldırım ve Yıldırım, 2000).

Gıda sistemlerinde uygulanması durumunda, yukarıdaki faktörlere ilaveten hücre konsantrasyonu, lipid içeriği, proteolitik enzimler gibi faktörler de bakteriyosin etkinliğine tesir eder. Gıdanın yapısındaki 2 ve 3 değerli katyonların varlığı, Gram pozitif bozucu bakteri ve patojenlere karşı nisin etkinliğini azaltabilir (Abee et al., 1995).

5. 2. Bakteriyosinlerin Özellikleri

Proteazlara duyarlılık: Bakteriyosinlerin çoğu bir veya daha fazla proteolitik enzime karşı duyarlıdırlar. Çoğu bakteriyosin pepsin, tripsin ve pronaz gibi proteazlar tarafından inaktive edilirler. Nisin, α -kimotripsine hassas, tripsine karşı ise dayanıklıdır. Pediocin AcH pepsin, α - kimotripsin ve tripsine karşı duyarlıdır. Proteolitik enzimlere duyarlılığın yanında leuconocin 5, pediocin SJ-1, carnocin LA54A ve helveticin J α -amilaza karşıda duyarlıdır (Schillinger, 1990; Klaenhammer, 1993).

Bakterilere ve endosporlara karşı etki mekanizmaları: Bakteriyosinlerin etki mekanizması üzerinde çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Buna göre; proteinin farklı kısımlarındaki farklı yükler sitoplazmik membranın sınırlı olarak değişimine neden olabilir. Çünkü bu gibi proteinler zayıf bir deterjan etkisine sahiptirler. Etkileşimin iki basamakta gerçekleştiği ifade edilir. İlk basamak bakteriyosinin bir hücre yüzey reseptörüne adsorbe olmasıdır. Bu tutunmada herhangi bir hücresel zarar olmaz ve adsorbsiyon tersine çevrilebilir. Belirli bir süreden sonra ikinci basamak hücrede letal bir değişime neden olarak oluşur. Veriler, bakteriyosinlerin letal moleküller gibi davrandığını

göstermektedir. Bu “quantal” öldürme olarak isimlendirilir ki bu da bakteriyosin molekülünün bir hücreyi öldüreceğini gösterir. Bunun mekanizması tam olarak çözülememiştir. Araştırmacılar, adsorbsiyonun hücre yüzeyinde değişime neden olduğunu göstermişlerdir. Gram pozitif organizmalarda enerji üretimi, makromolekül sentezi, membran transportu ve / veya membran geçirgenliğinde anormallikler saptanmıştır. Bu işlemlerdeki değişiklikler ilk olarak etkilenen sistemlere bağlı olarak diğer hücresel anormalliklere neden olabilir. Tripsin, esansiyel protein bileşiklerine muhtemel enzimatik saldırılarla bakteriyosinleri etkisiz hale getirebilir. Ancak bu yalnızca bakteriyosin serbest halde iken ya da hücre yüzeyine adsorbsiyondan kısa bir süre sonra olabilir (Eckner, 1992).

Hassas hücrelerin sitoplazmik membranı bakteriyosinlerin hedefidir (Montville et al., 1992; Abee et al., 1995). Bakteriyosinler membran yüklü fosfolipid başlarına ya da protein yapısındaki bir reseptöre bağlanırlar. Bunu membrana ekleme ve proton motive gücünde (PMF) azalmaya neden olan por oluşumu ve küçük eriyiklerin akışı izler (Gänzle et al., 1999). Bakteriyosin monomerleri, hidrofilik rezidüleri içeriye ve hidrofobik rezidüleri dışarıya doğru olan bir gözenek (por) oluşturmak için ilk önce sitoplazmik membrana bağlanır, içeri girer ve oligomerleşirler (Barrel-Steve mekanizması) (Lücke, 2000). Nisin ve birçok sınıf II bakteriyosinin (lactococin A, B, G, lacticin F, pediocin JD ve pediocin AcH) membran aktif peptidler oldukları ve membranda gözenek oluşturarak hücre membranını parçaladıkları bulunmuştur. Bakteriyosin uygulanmış bakteriler düşük hücre içi ATP düzeyine sahiptirler. ATP kaybına ATP'nin hücre dışına sızması veya ATP hidrolizi neden olabilir. Membran geçirgenliğindeki bu değişiklikler, bakterinin sitoplazmasını dış etkenlerden koruyamamasına ve sonuçta bakterinin inhibisyonuna ve ölümüne neden olmaktadır (Yıldırım ve Yıldırım, 2000).

Stabilite ve çözünürlükleri: Laktik asit bakteri bakteriyosinleri genellikle 100°C de 20 dak. veya daha uzun süreyi tolere edebilmekte ve aktivitelerinde değişiklik olmaksızın otoklav koşullarına (121°C'de 15 dak) dayanabilmektedirler. Nisin ve pediocin AcH asidik koşullarda yüksek sıcaklıktaki ısı işlemlere daha dayanıklıdırlar. Otoklav

işleminde sonra nisin aktivitesinde pH 5,0'de % 40'lık pH 6,8'de % 90'lık bir kayıp meydana geldiği gözlenmiştir. Yüksek pH değerleri bakteriyosinlerin amino asit dizisinde veya yapılarında geri dönüşümsüz değişikliklere neden olmaktadır (Yıldırım ve Yıldırım, 2000).

Bakteriyosinler polar olmayan çözücülerde daha iyi çözünürler. Sıvı besi ortamlarındaki çözünürlükleri pH'ya bağlıdır. Örneğin nisin pH 2,5'deki çözünürlüğü yalnızca % 12 iken pH 5,0'de % 4'e düştüğü, nötral ve alkali pH'larda ise neredeyse sıfır olduğu bulunmuştur (Yıldırım ve Yıldırım, 2000).

Antimikrobiyal spektrum: İnhibitör spektrumuna göre, nispeten geniş bir aralıktaki Gram pozitif bakterileri inhibe edenler ve üretici suşla yakından ilişkili türlere karşı antibakteriyal bir etki sergileyenler olmak üzere 2 tip bakteriyosin mevcuttur. Nisin, yalnızca laktik asit bakteri türlerine karşı aktif olmayıp pek çok Gram pozitif organizmaya karşı da aktiftir ve *Clostridium* ve *Bacillus* sporlarının gelişimini de önleyebilir. *P. pentasaceus*'den elde edilen pediocin A ve *P. acidilactici*'den elde edilen pediocin AcH *S. aureus* ve *C. perfringens*'i içeren sınırlı bir aktivite spektrumuna sahiptir. İncelenen bütün *Lactobacillus* bakteriyosinleri ikinci sınıfa aittir ve sınırlı bir antibakteriyal spektrumuna sahiptirler. Bunların çoğu yalnızca ilgili *Lactobacillus* türü ile yakın ilişkili diğer suşları inhibe ederler (Schillinger, 1990).

Bakteriyosinlerin inhibitör aktiviteleri Gram pozitif bakteriler üzerinde yoğunlaşmış haldedir. Bu bakteriyosinler tarafından Gram negatif bakterilerin inhibisyonu belirlenememiştir. Gram negatif ve Gram pozitif hücre duvarlarının bileşimini kıyaslayan bir araştırma yapılmıştır. Her iki tipte de sitoplazma ve dış çevre arasındaki sınırı teşkil eden sitoplazmik membran, Gram negatif bakterilerde Gram pozitif bakterilere oranla daha ince bir peptidoglikan tabaka ile çevrilidir. Gram negatif bakteriler fosfolipid, protein ve lipopolisakkaritten oluşan dış membran diye adlandırılan ilave bir tabakaya daha sahiptir ve bu membran pek çok molekül için geçirgen değildir. Bununla birlikte bu tabakadaki gözenekler 600 Da'nun altındaki moleküllerin serbest difüzyonuna imkan tanır. Laktik asit bakterileri tarafından üretilen en küçük bakteriyosin ise yaklaşık 3

kDa'dur ve bu da hedef olan sitoplazmik membrana ulaşmak için çok büyüktür (Klaenhammer, 1993; Abee et al., 1995).

Yapılan bir çalışmada, dış membran tahrip edilince *E. coli*'nin nisine hassas hale geldiği vurgulanmıştır. O günden beri konu hakkında yapılan çalışmalarda EDTA gibi polisakkarit tabakasındaki magnezyum iyonlarını bağlayan chelating maddelerinin kullanımı ile Gram negatif bakterilerin bakteriyosin, antibiyotik ve deterjanlara karşı hassasiyetinin arttığı belirtilmiştir. Isıl olmayan antimikrobiyal etkilerinden dolayı son yıllarda yüksek hidrostatik basınç (UHP) ve pulsed electric field (PEF) gıda korumada kullanılmaktadır. UHP ve PEF, sitoplazmik membranın yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünü bozarak mikrobiyal hücreleri tahrip ederler. Bakteriyosinin UHP ve PEF ile birlikte uyguladıklarında sahip oldukları antibakteriyal etkinlik, bakteriyosin, UHP ve PEF'in tek başına uygulandıklarında elde edilenden daha fazladır (Abee et al., 1995).

Salmonella gibi Gram negatif bakterilerin dış membran geçirgenliği; chelating maddeler kullanılarak, hemen hemen öldürücü ısı işlem veya dondurma ya da ultra yüksek basınç uygulamaları ile bakteriyosinlere hassas hale getirilebilir. Ancak bu gibi kombinasyonların et sistemlerinde çalışıp çalışmayacağı açık değildir (Lücke, 2000).

Mevcut bilgiler ışığında laktik asit bakterileri bakteriyosinleri 4 sınıfta toplanabilmektedir (Tablo 5.1). (Klaenhammer, 1993; Holzapfel et al., 1995; Hugas, 1998; Enhanner et al., 2000):

Sınıf I - lantibiyotikler (antibiyotik aktiviteye sahip lantionine içeren peptidler); dehidro amino asitler ve thioeter amino asitler içermesi ile diğer bakteriyosinlerden ayrılan küçük peptidlerdir.

Sınıf II - (<10kDa) ısıya dayanıklı lantibiyotik formunda olmayan küçük hidrofobik membran aktif peptidlerdir. Bunlara peptid bakteriyosinler de denir ve ayırt edici N - terminal ardışık, biyokomponent oluşturmaları, fonksiyonel bir sülfidril grubunun mevcudiyetine dayanarak 3 alt sınıfa ayrılırlar:

Sınıf II a; tek peptidli, *Listeria* 'ya karşı etkili pediocin benzeri bakteriyosinleri kapsar. Pediocin AcH, pediocin PA - 1, sakacin A ve leucin A örnek olarak verilebilir.

Sınıf II b; aktivite gösterebilmeleri için iki farklı peptid gerekmektedir. Lactococcin G, Lactococcin M ve lactocin F bu gruba dahildir.

Sınıf II c; bunlara tiol 'la aktif edilen peptidler denilmektedir. Çünkü aktif durumda olmaları için yapılarında bulunan sistein rezidülerinin indirgenmiş durumda olması gerekmektedir (Yıldırım ve Yıldırım, 2000).

Sınıf III; (>30 kDa) büyük, ısıya karşı kararsız ve çoğu bakteriyosinlerin fizyolojik aktivitelerini taklit edebilen bakteriyolitik ekstraselüler enzimleri içerir. Bunlara protein bakteriyosinler de denir.

Sınıf IV; aktiviteleri için esansiyel olarak gliko ve / veya lipid parçası içeren kompleks bakteriyosinlerdir.

Tablo 5.1. Laktik Asit Bakterilerinden Elde Edilen Bakteriyosinlerin Sınıflandırılması
(Holzopfel ve ark., 1995)

Tip	Yapı	Isıya Stabilité	Örnek
Lantibiyotik	küçük (< 5kDa)	+	Nisin
	Alışılmadık aminoasitler		lacticin481
Peptid bakteriosinler	küçük (< 10kDa)	+	pediocin Ach
	Lantionine içermez		sakacin A
			LeucocinUAL1 87
Protein bakteriosinler	büyük (> 10kDa)	-	Helveticin j
	Lantionine içermez		caseicin80
Kompleks bakteriosinler	gliko ve / veya	+	leuconocin s
	Lipid parçacıklı		Pediocin SJ - 1

I ve II. sınıf bakteriyosinler endüstriyel uygulamalarda en fazla kullanılan bakteriyosinler olduğundan en çok bunlar incelenmiştir. Tablo 5.2'de bakteriyosin üreten suşlara karşı patojenlerin hassasiyeti görülmektedir.

Tablo 5. 2. Bakteriyosin Üreten Suşlara Patojenlerin Hassasiyeti (Lewus et al.,1991)

Üretici suş	İndikatör suşlar							
	<i>A. hydrophila</i>		<i>L. monocytogenes</i>				<i>S. aureus</i>	
	7965	K144	Scott A	V7	101m	103m	2592 3	196E
<i>L. lactis</i> 11454	++	++	++	++	++	++	++	++
<i>L. acidophilus</i> N2	-	-	++	++	++	++	-	-
<i>L. acidophilus</i> 88	+	++	-	-	-	++	++	++
<i>L. sakei</i> Lb796	++	++	+	-	++	++	++	++
<i>L. sakei</i> Lb706	++	++	++	++	++	++	++	+
<i>L. plantarum</i> Lb592	++	++	+	+	+	+	++	++
<i>L. plantarum</i> Lb75	++	++	+	+	+	+	++	++
<i>P. pentosaceus</i> 43201	++	++	+	+	+	+	+	+
<i>P. pentosaceus</i> 43200	++	++	+	+	+	+	++	++
<i>P. acidilactice</i> H	ND	++	+	+	+	+	-	+
<i>L. plantarum</i> BN	+	+	+	+	+	+	-	-
<i>C. piscicola</i> GN	+	+	++	++	++	++	-	-
<i>C. piscicola</i> DX	+	+	++	++	+++	++	-	-
<i>C. bavaricus</i> MN	-	+	+++	+++	+++	+++	-	-
<i>L. bavaricus</i> JX	++	++	-	-	-	-	++	+
<i>L. viridescens</i> PX	+	+	+++	+++	+++	+++	-	+
<i>Streptococcus</i> TX suşu	ND	ND	-	-	-	-	ND	ND

ND, incelenmemiş -, zon oluşumu yok ; +, zon < 1 mm ; ++, 1 mm < zon < 10 mm ; +++, zon > 10 mm

5. 3. *Pediococcus* Bakteriyosinleri

Pediokoklar; asit üretimi, flavor gelişimi ve doğal fermantasyon ekosistemlerinde rol aldıklarından et ve sebze fermantasyonlarında büyük öneme sahiptirler. *Pediococcus* kültürünün antagonistik aktivitesinden sorumlu olarak asit üretiminden başka bazı faktörlerin olduğu ileri sürülmüştür. Yapılan bir çalışmada salamura salatalık fermantasyonları ile ilgili olarak maya ve bakterilere karşı 16 farklı *Pediococcus* kültürünün inhibitör aktivitesi kıyaslanmıştır. *P. cerevisiae* FBB - 61 (bu bakteri sonraları *P. pentosaceus* olarak isimlendirilmiştir) ve L - 7230 suşlarının diğer pediokoklar ile, *L. plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Micrococcus luteus*, *Enterococcus faecalis*, *S. aureus* ve *B. cereus* gibi Gram pozitif bakterilerin gelişimini mütemediyen inhibe ettiği belirlenmiştir. Ayrıca bu iki *Pediococcus* suşunun Gram negatif bakteriler ile mayalara

karşı antagonistik etki göstermediği de belirlenmiştir. *L. plantarum* ve diğer Gram pozitif bakterilere karşı inhibitörün genel etkinliği hem yarışmacı hem de patojenik tiplerin inhibisyonu olarak düşünüldüğünde diğer pediocinler önemli ölçüde kayda değerdir (Bhunja et al., 1988; Hoover et al., 1988; Klaenhammer, 1988; Broughton, 1990; Aşkar et al., 1990; Hillier ve Davidson, 1991; Bhunja and Johnson, 1992).

Araştırmacılar yaygın bir şekilde et starteri olarak kullanılan pek çok *Pediococcus* suşunun *L.monocytogenes'e* karşı inhibitör olan bakteriyosinler ürettiğini belirtmişlerdir (Berry ve ark, 1990). Tablo 5.3'de Harris et al (1989) tarafından yapılan çalışmanın sonuçları verilmiştir.

Tablo 5. 3. *Pediococcus* Suşları ve *Listeria* Türlerine Karşı İnhibitör Aktiviteleri (Harris et al., 1989).

Türler	Bacteriocin	İnhibisyon testi	
		Deferred Antagonism	Well Diffusion
<i>Pediococcus acidilactici</i> PAC 1.0	Pediocin PA-1	+	+
<i>Pediococcus pentosaceus</i> FBB61-1	Pediocin A	+	-
<i>Pediococcus pentosaceus</i> L-7230	Pediocin A	+	-

FBB- 61 ve L-7230 suşlarının *P. acidilactici*, *P. pentasaceus*, *P. dextrinicus*, *S. aureus*, *L. brevis*, *L. plantarum* , *Lactococcus lactis*, *C. botulinum*, *C. perfringens*, *C. sporogenes*, *Micrococcus luteus*, *Enterococcus faecalis* ve *Bacillus cereus'* u da içeren geniş bir bakteri grubuna etki gösterdikleri bildirilmiştir. Bu veriler bakteriyosin üreten suşların, fermente sosis ve sebze fermentasyonlarında starter kültür olarak yararlı olabileceğini göstermektedir (Bhunja et al., 1988; Spelhaug ve Harlander, 1989; Schillinger, 1990; Nettles ve Barefoot, 1993; Kim, 1993).

P. pentasaceus FBB-61 tarafından üretilen bakteriyosin pediocin A olarak isimlendirilmiştir. Bu bakteriyosin sınıf III'e ait olarak izole edilen tek pediocindir.

Pediocin A büyük, ısıya dayanıksız bir bakteriyosindir. SDS - PAGE ile yapılan analizlerde moleküler ağırlığının 80 kDa olduğu tespit edilmiştir (Carolissen-Mackay et al., 1997).

P. pentosaceus ATCC 43200 ile *P. pentosaceus* ATCC 43201 suşlarının, *C. botulinum*' un test edilen bütün suşlarına karşı bakteriyosin üreterek inhibitör etki gösterdikleri bildirilmiştir (Okereke ve Montville, 1991).

Pediocin A'nın geniş bir Gram pozitif bakteri grubuna karşı etkili olduğu bildirilmiştir. Bu durum yalnızca yakın ilişkili oldukları bakterilere karşı sınırlı bir aktiviteye sahip olan sınıf III'ün diğer bakteriyosinlerde görülmez. Örneğin helveticin J, caseisin 80 ve acidophilucinin sınırlı bir aktivite spektrumuna sahip olduğu bildirilmiştir (Carolissen-Mackay et al., 1997).

Yapılan bir araştırma sonucunda İspanyol tipi kuru fermente sosisten izole edilen *P.acidilactici*, L50 suşu tarafından üretilen bakteriyosin, pediocin L50 olarak adlandırılmıştır. Saflaştırılması; amonyum sülfatla çöktürme, katyon değişimi, hidrofobik interaksiyon ve ters faz kromatografisi ile gerçekleştirilmiştir (de Saad ve de Nadra, 1993; Carolissen-Mackay et al., 1997).

Manca de Nadra et al., (1998) Arjantin şaraplarından izole ettikleri *P. pentosaceus*'un pediocin N5P diye isimlendiren bir bakteriyosin ürettiklerini bulmuştur. Bu bakteriyosinin şaraptan izole edilen *Leuconostoc aenos*, *P. pentosaceus* ve *Lactobacillus hilgerdii* suşları üzerinde bakterisidal etkisi olduğu belirlenmiştir. Bu şarap izolatu tarafından üretilen pediocin N5P, şarap üretimindeki fizikokimyasal faktörlere; örneğin pH, sıcaklık, etanol ve SO₂'e dayanıklıdır. Pediocin N5P 'nin şarap üretiminde arzu edilmeyen bakterileri kontrol etmede yararlı olacağı düşünülmektedir .

Pediocin AcH / PA – 1

P. acidilactici'nin *L. monocytogenes*'e karşı aktif olan bakteriyosin ürettiği tesbit edilmiş, pediocin PA - 1 bakteriyosininin ilavesi ile bütün gıdalarda canlı *Listeria* sayısında hızlı azalma gözlenmiştir. Maksimum üretimin suşlar % 2 maya ekstralı MRS sıvı besi yerinde gözlemlendiği de belirtilmiştir (Hillier ve Davidson, 1991; Luchansky et al., 1992; Foegeding et al., 1992; Kim, 1993).

Foegeding et al., (1992) kuru fermente sosis üretiminde *P. acidilactici* PAC 1.0'ın *Listeria monocytogenes* üzerindeki antilisteriyal aktivitesini incelemiş ve sosis üretimindeki hem fermentasyon hem de kurutma olayları süresince pediocin üretiminin güvenliği artırdığını belirtmişlerdir. Skyttä et al., (1993) antagonistik aktivitenin plazmid kaynaklı olduğunu ve aktivitenin pH 5.5 - 7.0 aralığında ve 4 °C - 32 °C arasında olduğunu belirtmişlerdir .

Motlagh ve ark. (1992) yaptıkları çalışmada pediocin AcH ' nin bakterisidal etkisi 1 saatte oluştuğunu ve gıda bileşenleriyle etkileşime girmediğini, *Listeria* suşlarının pediocin AcH'ye karşı farklı hassasiyet gösterdilerini, yüksek pediocin AcH seviyelerinde *Listeria* sayısında azalmanın daha fazla olduğunu ve pediocin AcH ile muamele edilmiş gıda örneklerinde canlı kalan hücrelerin 4 ve 10°C'de, depolama boyunca rezidual pediocin AcH varlığında arttığını tesbit etmişlerdir.

Laktik asit bakterilerinden izole edilen pediocin AcH ve nisin, tek tek ve kombinasyon halinde, gıdalarda bozulma ve zehirlenmelere neden olan suşları da içeren pekçok Gram pozitif bakteriye karşı antibakteriyal etkinliği konusunda yapılan çalışmalar sonucunda, bu iki bakteriyosinin kombinasyon halinde kullanıldıklarında tek başlarına kullanımlarından daha etkili olduğu belirlenmiştir (Hanlin et al., 1993).

P. acidilactici H yeni bir bakteriyosin olan pediocin AcH ' yı üretir. Bu, ısıya dayanıklı (121°C'ye 15 dak), hidrofobik, küçük (2700 Da) bir peptittir. pH 2,5 - 9.0 aralığında aktif kalır ve bildirilen diğer Pediococcal bakteriyosinlere göre daha geniş bir

antimikrobiyal spektrumu vardır. Pediocin AcH işlemini takiben hassas hücreler intraselüler K^+ iyonlarını kaybeder, UV absorbe eden maddeler ONPG(O-Nitrophenyl- β -D-galactospyranoside) ' ye karşı daha geçirgen hale gelir ve bazı suşlar yok olur. Pediocin AcH ' nin bağlanması pH 6.0'da maksimumdur. Maksimum pediocin AcH üretimi TGE sıvı besiyerinde 30 - 37 °C ' de 16 - 18 saat süreyle hücrelerin çoğaltılması ile sağlanmıştır. Pek çok tuzun anyonları pediocin AcH ' nın bağlanmasını önler, ancak bu durum pediocin AcH konsantrasyonunun artırılması ile aşılabılır. Anyonların (Cl^- , fosfat gibi) hassas hücrenin lipoteikhoik asidine bağlanması, pediocin AcH'nin aktivitesini azaltır. Bu moleküller belki de pediocin AcH'nin bağlanma yerleridir. Hassas hücrelerin % 1 SDS, 4 mol / l guanidin - HCl, pek çok organik çözücü ve enzimlerle muamele edilmesi, pediocin AcH ' nin sonraki bağlanmasını azaltmaz (Bhunja et al., 1988; Bhunja et al., 1991; Degnan ve Luchansky, 1992; Nettles ve Barefoot, 1993; Kim, 1993; Klaenhammer, 1993).

Pediocin AcH gıdalarda bozulmaya neden olan pekçok bakteriye ve *S. aureus*, *C. perfringens* ve *L. monocytogenes*'i de içeren gıda patojenlerine karşı inhibisyon etki gösterir. Hassas hücrelere karşı bakterisidal etki gösterir ve çok hızlı hareket eder (Bhunja et al., 1988; Nielsen et al., 1990; Yousef et al., 1991; Juven et al., 1991; Skyttä et al., 1993).

Bugüne kadar en iyi saflaştırılan bakteriyosinlerdir. *Pediococcus acidilactici* PA 1.0 tarafından üretilen pediocin PA-1, amonyum sülfat çöktürmesi ve 2 iyon değişim kromatografisi işlemi ile saflaştırılmıştır (Carolissen-Mackay et al., 1997).

Yapılan son çalışmalar *Pediococcus*'un pek çok suşunun hem besiyerinde ve hem de etlerde *Listeria monocytogenes*'e karşı antagonistik etki gösteren bakteriyosinler (örneğin pediocinler) ürettiğini göstermiştir (Motlagh et al., 1991; Degnan ve Luchansky, 1992; Degnan et al., 1992; Song ve Richard, 1997).

Bhunja ve Johnson (1992) pediocin AcH'nin bakterisidal etki tarzının yüzey reseptörlerine bağlanması ve sitoplazmik membranın stabilizasyonunun bozulması ile

oluşturduğunu belirtmişlerdir . Tablo 5.4’de pediocin AcHnin antimikrobiyal spekturumu üzerine yapılan bir çalışmanın sonuçları görülmektedir. Tablo 5.5’de ise pediocinlerin genel özellikleri verilmektedir.

Tablo 5 .4. Pediocin AcH’nin Antimikrobiyal Spekturumu (Bhunja et al .,1998)

Bakteriler	Test edilen suş / inhibisyon
<i>Aeromonas hydrophila</i>	1 / 1
<i>Bacillus cereus</i>	1 / 1
<i>Brochothrix thermospacta</i>	2 / 1
<i>Clostridium perfringens</i>	6 / 6
<i>Escherichia coli</i> (enterotoksigenik)	1 / 0
<i>L. leichmanni</i>	1 / 1
<i>L. plantarum</i>	2 / 2
<i>L. viridescens</i>	1 / 1
Bozulmuş etlerden <i>Lactobacillus</i> izolatları	2 / 2
<i>L. monocytogenes</i>	6 / 6
<i>Pseudomonas putida</i>	1 / 1
<i>Salmonella anatum</i>	1 / 0
<i>Salmonella typhimurium</i>	1 / 0
<i>Staphylococcus aureus</i>	9 / 9
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1 / 0

Pediocin A ve PA

Yapılan ilk çalışmalarda *P. pentosaceus* tarafından üretilen PA bakteriyosininin ısıya dayanıklı (60 dak 100°C de), Gram pozitif çoğu laktik asit bakterisi ve gıda kaynaklı patojenleri de içeren geniş bir inhibitör spektrumuna sahip olduğu bulunmuştur (Klaenhammer, 1993).

Pediocin A, III. sınıf bakteriyosinlere dahil bir bakteriyosindir. Büyük, ısıya dayanıksızdır. SDS - PAGE ile yapılan analizlerde moleküler ağırlığı 80 kDa olarak bulunmuştur. Pediocin A, *C. botulinum* , *E. faecalis* ve *L. innocua* ' yı içeren geniş bir Gram pozitif bakteri grubuna karşı etkilidir (Hillier ve Davidson, 1991; Carolissen-Mackay et al., 1997). Bu spekturum aralığı, yalnız yakın ilişkili olduğu türlere karşı etkili

olan III. sınıf bakteriyosinlerde alışılmadığ bir durumdur (Carolissen-Mackay et al ., 1997).

Tablo 5. 5. *Pediococci* Bakteriyosinlerinin Karakteristikleri (Klaenhammer, 1993; Nettles ve Barefoot, 1993).

Bakteriyosin	Üretici	Moleküler Ağırlık (dalton)	Stabilite	Hassasiyet	İnhibitör Spekturumu
Pediocin AcH	<i>Pediococcus</i> <i>acidilactici</i> H	2.700 (SDS-PAGE)	Isı (121°C, 15 dak) 6 M üre pH 2,5 – 9,0	Tripsin , fisin Papain Proteinaz K Kemotripsin	<i>Lactobacillus</i> <i>Leuconostoc</i> <i>S. aureus</i> <i>C. perfringens</i> <i>L. monocytogenes</i> <i>P. putida</i>
Pediocin PA-1	<i>Pediococcus</i> <i>acidilactici</i> PA 1.0	4.600 (Nükleotid sequence)	Lipaz , fosfolipaz Lizozim , DNaz RNaz , ısı (80-100°C 10 dak)pH 4 – 7	Pepsin , papain Kemotripsin Proteaz	<i>Pediococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>L. mesenteroides</i> <i>L. monocytogenes</i>
Pediocin A	<i>Pediococcus</i> <i>pentosaceus</i> FBB61	80 k Da (SDS-PAGE)	Isıya dayanaksız	Pronaz	<i>Pediococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>S. aureus</i> , <i>C. botulinum</i> <i>C. perfringes</i>

5. 4. *Lactobacillus* Bakteriyosinleri

Lactobacillus cinsi bakteriler fermente kuru ve yarı kuru sosis fermantasyonlarında rol oynarlar ve lezzet gelişimi üzerinde etkilidirler . Bu mikroorganizmalar, son ürünü laktik asit ve bakteriyosin gibi muhtemel diğ er antagonistik bileş ikler üreterek korurlar (Garrigo et al., 1993).

Laktobasiller, genellikle bakteriyosin olarak bilinen antagonistik maddelerin üretilmesi açısından çok sık çalış ılmışlardır. Bunlar; iyi karakterize edilen bakteriyosinleri, bakteriyosin benzeri maddeleri ve bakteriyosin ile ilgisi olmayan antagonistikmaddeleri vardır (Juven et al., 1991).

Lactobacillus suşlarının antagonistik özellikleri, bakteriyosin benzeri bileşiklerin üretimi ile ilgili olabilir. Test edilen patojenlerin hepsi bir ya da bir kaç bakteriyosin benzeri üretici suş tarafından inhibe edilmiştir. En iyi inhibisyon *L. monocytogenes*'e karşı gözlenmiştir, bunun yanı sıra *E. coli*, *Salmonella* Typhimurium ve *S. enteritidis*'e karşı da yeterli inhibisyon gözlenmiştir (Chateau et al., 1993; Kelly et al., 1996). Bazı suşların inhibitör spektrumunda *Enterococcus* türleri de mevcuttur (Ahn ve Stiles, 1990 a).

Yapılan bir çalışmada fermente sosislerden izole edilen *Lactobacillus* suşları incelenmiş ve bunlardan üçünün asit ve hidrojen peroksitten farklı olarak bakterisidal etki tarzına sahip bakteriyosin ürettikleri belirlenmiştir. *L. plantarum* CTC 305 ve *L. plantarum* CTC 373'ün, *L. monocytogenes* 'i inhibe ettiği bildirilmiştir (Garrigo et al ., 1993).

Juven et al. (1998), yaptıkları çalışmalarda *L. alimentarius* FloraCarn L- 2 ile aşılınmış vakum ambalajlanmış etlerde *L. monocytogenes* ' in gelişimini incelemişler ve labratuvar ortamında antilisteriyal aktivite gözlemişlerdir.

Zhu et al . (2000), *Lactobacillus gasseri* KT7 tarafından üretilen yeni bir bakteriyosin izole etmişlerdir. Supernatant sıvısı yalnızca bazı laktik asit bakterilerine karşı değil aynı zamanda *Clostridium*, *Listeria* ve *Enterococcus*'u da içeren bazı patojen ve bozucu bakteri türlerine karşı da inhibitör aktivite göstermiştir. Gassericin K7 olarak adlandırılan bu bakteriyosin, proteolitik enzimlere hassas, ısıya dayanıklı, geniş bir pH aralığında etkili, SDS - PAGE'da 4,5 - 5.0 kDa olarak belirlenen bir peptiddir. Hassas hücrelere karşı bakterisidal etkiye sahiptir.

Ticari bir fermente sebze ürününden izole edilen *L. buchneri* LB, buchnericin LB diye adlandırılan bir bakteriyosin üretmektedir. Buchnericin LB, ısıya dayanıklı, (90 - 121°C 1 dak), proteazlar, α - kemotripsin papain, proteinaz K ve pepsin tarafından hidroliz edilen,fakat katalaz, peroksidaz, lipaz, amilaz ve organik çözücülere karşı dayanıklı olan bir maddedir. Biyolojik aktivitesini pH 2.0 - 9.0 aralığında sürdürür ve -20 ve -70°C'de depolama sonrasında bile aktivitesini korur. Buchnericin LB, geniş bir inhibitör

spektrumuna sahip olup *Listeria*, *Bacillus*, *Enterococcus*, *Micrococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconestoc*, *Pediococcus* ve *Streptococcus*'un test edilen türlerine karşı inhibitör etki gösterdiği tespit edilmiştir (Yıldıırım ve Yıldıırım, 2001; Yıldıırım, 2001) .

5. 4. 1. *Lactobacillus helveticus*

1973 yılında insan tükürüğünden izole edilen *L. helveticus* LP 27'nin lactocin 27 diye adlandırılan bir bakteriyosin ürettiğini bildirilmiştir. Lactocin 27, ısıya dayanıklı ve disülfüt bağı içermeyen bir protein lipopolisakkaritdir. *L. acidophilus*, *L. helveticus* ve bir *Lactobacillus* türüne karşı inhibitördür. Benzer şekilde *L. helveticus* 481 tarafından üretilen helveticin J de bildirilmiştir. Lactocin 27 den daha büyüktür (37 kDa), nötral pH'da aktif, ısıya hassasdır (100°C de 30 dak) (Juven et al., 1991; Kim, 1993).

Lactocin 27, tripsin ve pronazla inaktive olurken fisinle inaktive olmamamaktadır. Helveticin J ise fisin, proteinaz, tripsin, pepsin, proteinaz K ve subtilisin'e karşı hassasdır (Klaenhammer, 1993) .

5. 4. 2. *Lactobacillus acidophilus*

Yapılan bir çalışmada, *L. acidophilus* N2 tarafından üretilen bakteriyosin, lactocin B olarak adlandırılmış ve bu suşun *L. delbrueckii*, *L. helveticus*, *L. leichmennii*, *L. bulgarius*'u inhibe ettiği tespit edilmiştir. *L. acidophilus*, N2'de plazmid olmaması lactocin B üretiminin kromozomal DNA kaynaklı olduğunu gösterir. Saf lactocin B'nin 6000 - 6500 Da büyüklüğünde, ısıya dayanıklı, oda sıcaklığı ve - 20 °C de stabil olduğu, maksimum bakteriyosin üretiminin anaerobik şartlarda pH 7'de MRS agarda gerçekleştiği. pH 5,9 ' un altında ise aktif olmadığı da tespit edilmiştir (Kim, 1993) .

Yine yapılan başka bir çalışmada, *L. acidophilus* 88 tarafından üretilen lactocin F bildirilmiştir. Isıya dayanıklı ve lactocin B'ye göre daha geniş bir antimikrobiyal spektrumuna sahiptir. Saf lactocin F'nin moleküler ağırlığı 6.3 kDa'dır ve lantionin gibi alışılmadık amino asitleri içermez (Kim, 1993) .

Zamfir et al. (1999), yaptıkları araştırmada *Lactobacillus acidophilus* IBB 801 tarafından üretilen acidophilin 801 bakteriyosinini incelemişler ve sınırlı bir inhibitör spektrumunda (*E. coli* Row ve *Salmonella panama* 1467 gibi Gram negatif patojen bakterileri de içeren) bakterisidal bir aktiviteye sahip olduğunu belirtmişlerdir (Tablo 5.6). Hücresiz kültür supernatant sıvısının antimikrobiyal aktivitesinin katalaza hassas olmadığı; tripsin, proteinaz K ve pronaz gibi proteolitik enzimlere ise hassas olduğu, ısıya karşı stabil (121 °C ' de 30 dak) ve geniş bir pH aralığında aktif kaldığını da tesbit etmişlerdir.

Tablo 5.6. Bakteriyel Suşlar ve *L. acidophilus* IBB 801 Tarafından Üretilen Bakteriyosine Hassasiyetleri (Zamfir et al., 1999) .

İndikatör suş	Gelişme şartları	Ham	Konsantre
<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> 509	MRS , 37 °C	+	++
<i>L. plantarum</i> ATCC 8014	MRS , 37 °C	-	-
<i>L. casei</i> ATCC 7469	MRS , 37 °C	-	-
<i>L. helveticus</i> 102	MRS , 37 °C	+	++
<i>L. acidophilus</i> LA1	MRS , 37 °C	+	+
<i>L. lactis</i> 173	MRS , 37 °C	-	-
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 9634	LB , 37 °C	-	-
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	LB , 37 °C	-	-
<i>Escherichia coli</i> Row	LB , 37 °C	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i> K32	LB , 37 °C	+ / -	+ / -
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IP 5858	LB , 37 °C	+ / -	+ / -
<i>Salmonella panama</i> 1467	LB , 37 °C	+	+
<i>Serratia marcescens</i> 11267	LB , 37 °C	+ / -	+ / -
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	LB , 37 °C	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	LEB , 37 °C	-	-

+ = açık inhibisyon zonu - = inhibisyon zonu yok + / - = değişken inhibisyon ++ = büyük inhibisyon zonu

5. 4. 3. *Lactobacillus plantarum*

L. plantarum tarafından bakteriyosin benzeri bir bileşik üretilmekte ve bu bakteriyosin lactolin olarak adlandırılmaktadır. Nisin ve diplococininkinden farklı inhibisyon spektrumu ve özellikler göstermektedir (Klaenhammer, 1988).

Okereke ve Montville (1991), etten izole edilen *L. plantarum* BN'nin *C. botulinum* sporlarına karşı farklı sıcaklıklarda inhibitör etkiye sahip olduğunu bildirmiştir.

Fermente havuçlardan izole edilen *L. plantarum* SIK 83 ' ün bakteriyosin ürettiği, ısıya dayanıklı ham antimikrobiyal bu bileşiğin (100 kDa) *S. aureus*'u da içeren farklı Gram pozitif bakterilerin gelişimini inhibe ettiği belirtilmiştir. Sebze ve silaj fermentasyonları gibi bitkisel fermentasyonlarda laktik asit oluşumunu kontrol etmek için *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* ve *Pediococcus*'a karşı etkilerinden dolayı *L. plantarum* SIK 83'ün kullanımı önerilmiştir (Kim, 1993).

L. plantarum C-11'den plantaricin A adı verilen bir bakteriyosin izole edilmiştir. Fermente sebze ürünlerinde *L. plantarum*, *P. pentasaceus* ve *Leuconostoc paramesenteroides* gibi normal rekabet edici Gram pozitif bakteriler, plantaricin A tarafından antagonize edilir. *L. plantarum* tarafından üretilen plantaricin B de sınırlı bir antibakteriyal spekturuma sahiptir. Bununla birlikte lipaz ve α - amilaz uygulamalarının plantaricin B aktivitesini azaltması, plantaricin B ' nin bir protein, lipit ve karbonhidrat kompleksi olduğunu gösterir (Kim, 1993).

Yapılan bir çalışmada et starter kültürlerinden izole edilen *L. plantarum* 27'nin *S. aureus*, *Lactobacillus* ve *Pediococcus* türlerine karşı antagonistik etkiye sahip bakteriyosin ürettiği bildirilmiştir. *L. plantarum* 27'nin kullanımının etin raf ömrünü artırmada etkisinin olabileceği ve bakteriyosinin ısıya dayanıklı ve pH 4 - 9 arasında aktif olduğu belirtilmiştir (Kim, 1993).

Garrigo et al. (1993), *L. plantarum* CTC 305 ve CTC 306 'nın bakterisidal etkiye sahip bakteriyosinler ürettiğini bildirmiştir.

Ennan et al. (1996), kuru sosisten izole edilen *L. plantarum* UG 1 'in *Lactobacillus* ve *Lactococcus* cinsinin diğer suşlarını ve *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *C. perfringens*'i de içeren bazı gıda kaynaklı patojenleri inhibe eden antimikrobiyal bir madde ürettiğini ve bu maddenin proteolitik enzimler tarafından inaktive edildiğini belirtmişlerdir. Plantaricin UG1 olarak adlandırılan bu bakteriyosin pH 4,5 - 7.0 aralığında stabil olup, amilolitik enzimlerle kısmen inaktive edilmektedir. Üretim, pH ve sıcaklığa bağlıdır. Maksimum üretim 6,5 başlangıç pH'sı ve 25 - 30°C sıcaklıkta MRS sıvı besi yerinde sağlanmıştır. Üretimin kromozomal olduğu düşünülmektedir.

Messi et al. (2001), yaptıkları araştırmada İtalyan tipi sosislerden izole ettikleri *L. plantarum* suşunun ürettiği plantaricin 35 d'nin *S. aureus*, *L. monocytogenes* ve *A. hydrophila*'yı içeren geniş bir antimikrobiyal spektrumuna sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca bu bakteriyosinin 80°C'de 120 dakikalık ısıl işleme dayanıklı olduğu ve aktivitesini 4°C'de 6 ay muhafaza ettiğini bildirmişlerdir. Etki tarzı bakterisidal olarak belirlenmiştir.

5. 4. 4. *Lactobacillus sakei*

Ette doğal olarak bulunan *L. sakei* suşlarının antimikrobiyal maddeler ürettiğine dair pekçok çalışma mevcuttur. *L. sakei* suşları etteki şartlara çok iyi uyum sağladığından diğerlerine göre daha rekabet edici olmaktadır (Kim, 1993).

Vakum ambalajlanmış etten izole edilen bir *L. sakei* Lb 706 suşu *L. sakei*, *L. curvatus* Lb730 ve *L. monocytogenes* 'i içeren pek çok et izolatına karşı inhibitördür. *L. sakei* Lb 706 'nın ürettiği bakteriyosin sakacin A, ısıya dayanıklı (100°C'de 20 dak) olup uzun süreli depolama sonrasında aktif kalır ve bakterisidal etkisi gösterir (Kim, 1993).

Mortvedt et al. (1991), geleneksel yöntemlerle fermente sosislerden *L. sakei* L 45'i izole etmişlerdir. Bu izolat sosislerden izole edilen pek çok *L. plantarum*, *L. reuteri*, *L. acidophilus*, *L. lactic*, *L. pentosaceus*, *Leuconostoc mesenteroides*, *P. acidilactici* PA C 1.0 ve *P. pentosaceus* suşuna karşı inhibitör olan lactocin S' yi üretir. Lactocin S ısıya kısmen dayanıklıdır (100°C 2 de 1 saat sonra % 50 azalma) (Kim, 1993; Klaenhammer, 1993).

Gänzle et al . (1996), *L. sakei* LTH 673 tarafından üretilen sakacin P'yi incelemişlerdir. *L. ivanovii* DSM 20750'ye karşı sakacin P'nin antimikrobiyal aktivitesi üzerine pH, NaCl ve nitrit konsantrasyonlarının etkisini belirlemişlerdir. Nitrit ilavesinin etkisinin az olduğunu ancak bakteriyosin aktivitesinin düşük pH değerleri ve NaCl ilavesi ile arttığını belirtmişlerdir.

De Martiniz ve Franco (1998) Brezilya tipi bir sosisten izole edilen *L. sakei* 2a suşunun proteolitik enzimlere hassas protein tabiatında bir bileşik üreterek antilisteriyal bir aktivite sergilediğini bildirmişlerdir. Tablo 5.7'de *Lactobacillus* bakteri türlerinin bakteriyosinleri hakkında geniş bilgi verilmiştir.

Tablo 5.7. *Lactobacillus* Türlerinin Bakteriyosinleri (Klaenhammer, 1993; Nettles ve Barefoot, 1993)

Üretici suş	Bakteriyosin	Aktivite spektrumu	Karakteristikler
<i>L. acidophilus</i>	Lactacin B	<i>L. delbrueckii</i> , <i>L. leichmanii</i> <i>L. helveticus</i> <i>L. bulgaricus</i>	Moleküler ağırlığı yüksek, kromozomal determinantlar
	Acidophilucin A	<i>L. delbrueckii</i> <i>L. helveticus</i>	Protein yapısında , tripsin ve aktinazla inaktivasyon ısıya hassasiyet 60 °C'de 10 dak
	Acidocin 8912	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> <i>L. plantarum</i> , <i>Lactococcus lactis</i>	Protein yapısında ısıya stabilite 120 °C 'de 20 dak üretim ve bağışıklık plazmid kaynaklı
<i>L. brevis</i>	Brevicin 37	<i>Pediococcus damnosus</i> <i>L. brevis</i> , <i>Leuconostoc oenos</i>	Protein yapısında ısıya dayanıklı 121 °C 'de 1 saat pH 2-10 arasında aktif , kloroformla inaktive olur
<i>L. casei</i>	Caseicin 80	<i>L. casei</i>	ısıya hassas 60 °C 'de 10 dak pH 3-9 da aktif
<i>L. curvatus</i>	Curvatin A	<i>L. curvatus</i> , <i>L. sakei</i> <i>L. fructivorans</i> <i>Carnobacterium türleri.</i> <i>E. faecalis</i> , <i>L. monocytogenes</i> <i>L. ivanovii</i>	Protein yapısında tripsin ve proteinaz K ile inaktive olur Pepsinle olmaz , ısıya dayanıklıdır 100 °C 'de 30 dak . Hidrofobik karakter , lantionin içermez , Bakteriyolitik etki
<i>L. delbrueckii</i>	Lacticin A Lacticin B	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i> <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>delbrueckii</i>	Protein yapısında , ısıya hassas 60 °C 'de 10 dak
<i>L. gasseri</i>	Gassericin A	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. delbrueckii</i> <i>L. helveticus</i> , <i>L. casei</i> <i>L. brevis</i>	Protein yapısında , tripsine hassas , 120 °C 'de 20 dak stabil

Tablo 5. 7 (Devamı)

<i>L. helveticus</i>	Lactocin 27	<i>L. acidophilus</i> <i>L. helveticus</i>	Protein – lipopoli sakkarit kompleksidir . Isiya dayanıklı 100 °C ‘de 1 saat
	Helveticin J	<i>L. helveticus</i> <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i>	
	Helveticin V-1829	<i>L. helveticus</i> <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	Protein yapısında , maksimum üretim pH 5,5 ‘de olur , ısıya hassastır (50 °C ‘de 30 dak), SDS ile denatüre olur.
<i>L. plantarum</i>	Plantaricin A	<i>L. plantarum</i> , <i>Lactobacillus</i> türleri <i>Leuconostoc</i> türleri <i>Pediococcus</i> türleri <i>Lactococcus</i> <i>lactis</i> <i>Enterococcus</i> <i>faecalis</i>	> 8 kDa 100 °C ye 30 dak stabildir pH 4 – 6.5 aralığında aktiftir .
	Plantaricin B	<i>L. plantarum</i> <i>Leuconostoc</i> <i>mesenteroides</i> <i>Pediococcus</i> <i>damnosus</i>	Protein yapısındadır.
	Plantaricin S	<i>Leuconostoc</i> , <i>C. Tyrobutyricum</i> <i>L. helveticus</i> , <i>L. plantarum</i> <i>L. curvatus</i> , <i>L. reuteri</i> <i>Enterococcus</i> , <i>Pediococcus</i> <i>Lactococcus</i> , <i>Streptococcus</i> <i>Micrococcus</i> , <i>Propionibacterium</i> <i>L. delbrueckii</i> , <i>L. fermentum</i>	Glikoprotein yapısındadır , proteaz, α - amilaz ve lipoza hassastır. 100 °C ‘ye 60dak stabildir pH 3-7 ‘de aktiftir , bakterisidal etkisi vardır .

Tablo 5. 7 (Devamı)

	Plantaricin T	<i>Leuconostoc</i> , <i>Cl. Tyroburyricum</i> <i>L. helveticus</i> , <i>L. plantarum</i> <i>L. reuteri</i> , <i>Enterococcus</i> <i>Pediococcus</i> , <i>Lactococcus</i> <i>Streptococcus</i> , <i>Micrococcus</i> <i>L. delbrueckii</i> , <i>L. fermentum</i> <i>Propionibacteriu</i> <i>m</i>	Protein yapısındadır ve plantaricin S 'den lipaz ve α -amilaza dayanıklılığı ile ayrılır.
<i>L. sakei</i>	Sakacin A	<i>Carnobacterium piscicola</i> <i>Enterococcus</i> türleri <i>L. sakei</i> , <i>L. curvatus</i> <i>Leuconostoc paramesenteroides</i> <i>L. brevis</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Aeromonas hydrophilia</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	Plazmid kaynaklıdır , hassas suşa göre bakteriostatik yada bakterisidal etki gösterir.
	Lactocin S	<i>Lactobacillus</i> türleri <i>Leuconostoc</i> türleri. <i>Pediococcus</i> türleri	33 amino asitli bir proteindir pH 4,5-7,5 aralığında aktiftir. Üretim ve immunitesi plazmid kaynaklıdır, antibiotiktir .

Tablo 5. 7 (Devamı)

	Sakacin P	<i>L. curvatus</i> , <i>L. delbrueckii</i> <i>L. pentosus</i> <i>L. plantarum</i> , <i>L. reuteri</i> <i>L. fructivorans</i> , <i>E. faecalis</i> <i>L. ivanovii</i> , <i>Carnobacterium spp.</i> <i>Listeria monocytogenes</i>	Protein yapısındadır. Proteinaz K ve tripsinle inaktif olur , pepsinle olmaz ısıya dayanıklıdır , 100 °C 'de 30 dak, hidrofobik karakterdedir, lantionin içermez , bakteriyolitik etki gösterir .
--	-----------	--	---

5. 5. *Lactococcus* Bakteriyosinleri

Lactococcus cinsi bakteriler süt endüstrisinde starter olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Kojic et al., 1991). Bu alanda kullanılan çoğu suş, bakteriyosin üretir (Tablo 5.8). 280 suşun % 5'inin protein tabiatında inhibitör ürettiği Geis et al ., (1983) tarafından bildirilmiştir.

Klaenhammer (1993), *Lactococcus* bakteriyosinlerini ısıya rezistans, konakçılar, tripsine hassasiyet ve değişik bakteriyosin/konakçı çaprazlamalarına göre 5 farklı tipe ayırmıştır.

- i – Lactococcinler: pH 9.4'de ısıya dayanıklı, laktokoklara karşı sınırlı etkili
- ii – Diplococcinler: pH 9.4'de ısıya dayanıklı, laktokoklara karşı sınırlı etkili
- iii – Lactococcin poration kompleksleri: pH 9.4'de ısıya dayanıklı, laktik asit bakterileri ile *Clostridium* cinsi bakterilere karşı geniş antibakteriyal spektruma sahip
- iv – Lantibiyotikler: pH 9.4'de ısıya dayanıklı, çok sayıda Gram pozitif bakteriye karşı etkili
- v – Lactostrepsinler

Lactococcin G *Lactococcus lactis* LmG 2081 tarafından üretilir . Lactostrepsin 5 *L. lactis* subsp. *cremeris* tarafından üretilir (Holo et al.,1991; Carolissen – Mackay et al ., 1997) .

Yıldırım ve ark. (2000), yaptıkları çalışmada turpun dış yüzeyinden izole ettikleri *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* R tarafından üretilen lactococcin R hakkında incelemeler yapmışlar, bunun bazı proteolitik enzimlere hassas, pH 2.0-9.0 aralığına, depolama sıcaklıklarına ve organik çözücülere dayanıklı olduğunu bulmuşlardır. Aynı zamanda *Listeria*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus* ve *Leuconostoc* türlerini inhibe ettiğini bildirmişlerdir.

Tablo 5. 8. *Lactococcus* Bakteriyosinleri (Piard et al., 1992; Nettles ve Barefoot, 1993; Klaenhammer, 1993) .

Bakteriyosin	Üretici	Stabilite	Hassasiyet
Diplococcin	<i>Lc.lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> 346	-75°C SDS	Kemotripsin, tripsin, pronaz, pepsin > 4°C sıcaklık
Lactostrepcin	<i>Lc.lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>cremoris</i> , <i>diacetylactis</i> 'in nisin üretmeyen suşları	Sıcaklık (121°C'de 10 dak) pH < 5.0	Tripsin, pronaz, Kemotripsin, Lipazlar PH > 7.0
Lacto-strepcin 5	<i>Lc.lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> 202	Sıcaklık (121°C 10 dak) pH < 5.0	Tripsin, pronaz, Lipaz A
Lactococcin I	<i>Lc. Lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> ACI	SDS, sıcaklık (100°C, 30 dak) pH 4.5-7.0	Proteolitik enzimler
Lactococcin A	<i>Lc. Lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i> WM 4, <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> LMG2130 9B4	% 60 etanolde 20°C ye, 2,5 mM sodyum fosfatta pH 7.3'e, sıcaklığa (100°C 30 dak) kemotripsin	Endoproteaz glu-C, tripsin
Lacticin 481	<i>Lc.lactis</i> subsp. <i>lactis</i> CNRZ 481	Sıcaklık (100°C'ye 1 saat)	Proteolitik enzimler

Nisin, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*'in suşları tarafından üretilen, gıdalar için ümit verici bir antimikrobiyal maddedir. Nisinin WHO (Dünya Sağlık Teşkilatı) tarafından gıda endüstrisinde bir koruyucu olarak kullanımı onaylanmış ve süt, peynir, kutulanmış sebzelerin ve fırın ürünleri gibi geniş bir ürün yelpazesinde yaklaşık 45 yıldan beri uluslararası olarak kullanım alanı bulmuştur. ABD'de gıdalarda kullanımı onaylanan tek bakteriyosin olması nedeniyle genellikle pastörize peynirlerde *C. botulinum*'un inhibe edilmesinde başarılı bir şekilde kullanılır (Martinis et al ., 1997 ; Avery ve Buncic, 1997).

Nisin polipeptid yapısındadır. Gram pozitif bakterilere karşı etkilidir. 100-400 IU/g'a kadar ilave ile peynir kitlesindeki *C. butyricum* sayısının azaldığı belirtilmiştir. Süt, bira ve şarapta laktik asit bakterilerinden kaynaklanan bozulmalara karşı 30 -51 IU/ml dozunun yeterli olduğu belirtilmiştir (Ukuku ve Shelef, 1997).

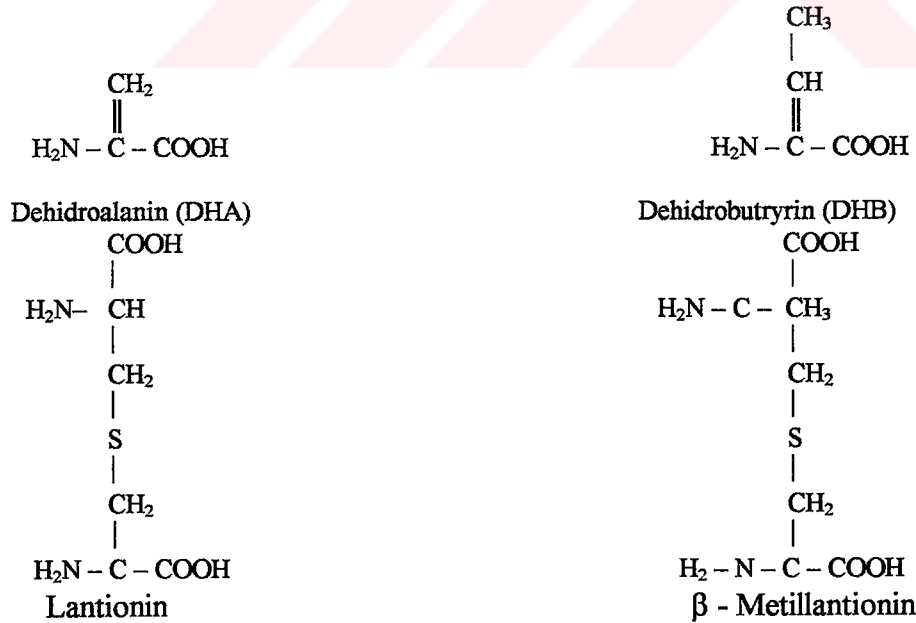
Nisin et proteinlerine kuvvetli bir şekilde adsorbe olur, bu da nisinin et ve et ürünlerinde tespitini güçleştirir. Azalan pH ile adsorbsiyon azalmasına rağmen etteki nisinin proteinlerinden ayrılması için asidik bir pH'da kaynatılması gerekir. Et ve et ürünlerinin bileşimleri, tuz miktarı, parçacık büyüklüğü ve yağ içeriği farklıdır. Kıyma haline getirilmiş et ve et ürünlerinde nisinin belirlenmesi zordur. Tespit oranı NaCl ve/veya NO₂ varlığı, tanecik büyüklüğü etin ekstraktant oranı (0,02 N HCl) gibi faktörlerden etkilenir. Ancak etin yağ içeriğinden önemli ölçüde etkilenir (Bell ve De Lacky, 1986; Holzapfel et al ., 1995).

Nisinin inhibitör etkisi, ilk olarak 60 yıl önce peynir yapımında inhibitör streptokokların problem olmasıyla fark edilmiştir. Nisin ve onun özellikleri hakkındaki ilk çalışmalar klinik ve veteriner alanındaki kullanımlarda tedavi amaçlı kullanılıp kullanılmayacağına dairdir. Nispeten sınırlı antibakteriyal spektrumu, vücut sıvılarındaki düşük çözünürlüğü,

mide proteazları ile yıkımı ve fizyolojik pH'ya (pH 7.0 – 7.5) dayanıksız oluşuna bağlı olarak nisin bu gibi amaçlara uygun bulunmamıştır (Broughton, 1990).

Nisin, ismini “N – inhibitory substances”den almaktadır. GRAS statüdedir ve kullanımı nitratın yerine geçme ya da nitrat miktarını azaltmaya yöneliktir. Nisin ilave edildiğinde işlem boyunca ihtiyaç duyulan sıcaklık düşmektedir. Bu da beslenme değeri, flavour, tekstür ve görünüşteki gelişime ilaveten enerji kazanımına da yol açmaktadır. *S. aureus*, *Salmonella*, *L. monocytogenes*, *B. licheniformis*'i içeren patojen ve bozucu bakterilere karşı inhibitör olduğuna dair pek çok çalışma yapılmıştır. Ancak gıdalarda kullanımı nötral pH'da düşük çözünürlük ve nisinaz üreten mikroorganizmalar tarafından yapısının bozulması nedeniyle sınırlıdır (Klaenhammer, 1988; Hiller ve Davidson, 1991; Kim, 1993).

Nisin molekülü normal olarak proteinlerde bulunmayan bazı tipik aminoasitleri içerir. Bunlar pre-nisin molekülündeki serin, treonin ve sistein rezidülerinin modifikasyonu ile üretilir. Bu alışılmadık aminoasitler lanthionine, dehydroalanine ve dehydrobutyrine'dir (Şekil 1) .



Şekil 1. Nisinin Yapısındaki Tipik Amino Asitlerinin Yapısı (Hillier ve Davidson, 1991).

Nisinin eriyebilirliği ve stabilitesi pH'ye bağlıdır. pH 7'den yüksek pH değerlerinde oda sıcaklığında bile inaktiftir. İnsanlar için toksik değildir ve pankreasta üretilen ve ince bağırsaktan atılan α -kemotripsin enzimi tarafından indirgendiği düşünülmektedir. (Hillier ve Davidson, 1991).

Taylor et al., (1990), yaptıkları çalışmada *C. botulinum* tip E ile aşıl原因an %100 CO₂ atmosferinde ambalajlanan morina, ringa ve tütülenmiş uskumru filetolarında toksin üretimi üzerinde nisin'in inhibitör etkisini 10 ve 26°C'lik muhafaza şartlarında incelemişlerdir. Nisin her üç balık türünde de toksin oluşumunu geciktirmiştir. Nisin'in 10°C'deki etkisi kontrole göre toksin üretimini 5 gün geciktirme şeklinde olmuştur. Nisin her iki depolama sıcaklığında da patojen olmayan bakteriler tarafından gerçekleştirilen bozulmayı önleyememiştir.

Yapılan çalışmalarda stater kültürler tarafından üretilen antibakteriyal metabolitlerin buzdolabı sıcaklığında gelişebilen gıda kaynaklı patojenlere karşı inhibisyon özellikleri test edilmiştir. 4 ticari preparata (Nisaplin, Na-laktat, diasetil ve Microgard) ilaveten pediocin AcH, nisin ve sakacin A'yı içeren 3 kültür preparatı incelenmiştir. Sonuç olarak bütün bakteriyosin preparatlarının incelenen Gram negatif patojenler hariç *L. monocytogenes*'in 9 suşunu içeren *Listeria* türlerine karşı bakterisidal etki gösterdiğini tespit etmişlerdir (Motlagh et al., 1991; El-Khateib et al., 1993; Ukuko ve Shelef, 1997).

Harris et al., (1991), yaptıkları çalışmada *L. monocytogenes* ATCC 19115, Scott A ve UAL 500'ün nisine hassasiyetini incelemişler ve nisin'in başlangıç *L. monocytogenes* sayısını azalttığını bildirmişlerdir.

Nisin, *Lactobacillus*, *Listeria*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Micrococcus* cinslerine ait Gram pozitif bakterilere karşı geniş bir aktivite spektrumuna sahiptir (Montville et al., 1992).

C. botulinum'un minimum işlem görmüş buzdolabında saklanan gıdalarda gelişimi, nisin kullanımı ile önlenabilmektedir. *C. botulinum* suşları toksin tipleri ve proteolitik

güçlerine bağlı olarak 4 biyotip grubuna ayrılırlar. Grup I yüksek oranda proteolitik olarak karakterize edilir ve A tiplerini ve bazı proteolitik B suşlarını içerirken Grup II zayıf ya da tamamen proteolitik olmayan B tiplerini ve E tipi suşları içerir. Her iki grubun suşları da ısıya dayanıklılıkları, maksimum ve minimum gelişme sıcaklıkları, asit ve tuza toleransları ile farklılık gösterirler. Grup III ve IV'deki suşlar genelde insanda gıda kaynaklı botulizm ile ilgili değildir (Montville et al., 1992).

Nisin ve ısı uygulamalarının *C. botulinum* üzerindeki sinerjistik etkileri geniş bir şekilde araştırılmış, sporların nisin hassasiyetinin artan sıcaklıkla arttığı tespit edilmiştir. Genelde sporlar vejetatif hücrelere göre antimikrobiyal maddelere daha dayanıklıdır. Yapılan bir çalışmada *C. botulinum* suşları nisin hassasiyeti bakımından incelenmiş ve tip A'nın tip B'den, tip B'nin de tip E'den daha dayanıklı olduğu tespit edilmiştir (Montville et al., 1992).

De Vos et al., (1993), yaptıkları çalışmada *Lc. lactis* tarafından üretilen 2 doğal lantibiyotik varyantının olduğunu bildirmişlerdir. Bunların benzer yapıda olduğu ve aralarında amino asit diziliminde 27. konumda nisin A'da histidin, nisin Z'de asparaginin olduğunu belirtmişlerdir.

Nisin Z, *Lc. lactis* subsp. *lactis*'in NI20 22186 suşundan izole edilen doğal bir nisin varyantıdır. Gıda patojeni *L. monocytogenes*'in nisin Z'ye maruz kalması, ani potasyum iyonu kaybı, sitoplazmik membranın depolarizasyonu, hidroliz ve hücre ATP'nin kısmi kaybı ile sonuçlanır ki bu da nisin Z'nin birincil hedefinin sitoplazmik membran olduğunu gösterir (Abee et al., 1995).

Hague et al. (1997), yaptıkları çalışmada nisin (NS), mikrodalga (MW) ve nisin + mikrodalga (NS + MW) işlemlerinin *C. sporogenes* ile aşılınmış sığır kaslarındaki sonuçlarını araştırmışlardır. Örnekler vakum ambalajlanıp 4 ve 10°C'de 21 ve 70 gün muhafaza edilmişlerdir. 10°C'de 21 günlük muhafaza sonrasında kontrolle kıyaslandığında NS ve NS + MW uygulamalarında canlı kalan vejetatif hücre sayısında 3 logaritmik bir düşüş gözlemlenmiştir. 4°C'deki sonuçlar da 10°C'ye paralellik göstermiştir.

Song ve Richard (1997), nisin , pediocin AcH veya enterococin EFS2 içeren bir sıvı besi yerinde *L. innocua* L' nin 11 suşunun inhibisyon kinetiklerini incelemişlerdir. İnhibisyon oranının bakteriyosinler arasında önemli ölçüde farklılık gösterdiği, nisin (12AU/ml) ya da pediocin AcH (50 AU/ml) içeren ortamlarda maksimum canlılık kaybı gözlemlendiği ancak başlangıç inhibitör faktörleri korunmasına rağmen canlı kalanların gelişimlerini sürdürdükleri belirtilmiştir.

Yapılan bir çalışmada % 2 sodyum laktatla nisinin birlikte uygulanmasının *Salmonella kentucky* ve *S. aureus*'un taze domuz sosislerindeki gelişimini nisinin tek başına olduğu durumdan daha iyi inhibe ettiği belirtilmiştir (Gänzle et al ., 1999) .

Gill ve Holley (2000), pişirilmiş ham ve Bologna üzerine yaptıkları çalışmada pişirilmiş ham ve salam dilimlerini 3 farklı muameleye tabi tutmuşlardır. [(Kontrol), 0,2 g % 7 (w/v) jelatin içeren tabaka (jel kontrol) veya 25,5 g/lt lizozim: nisin (1 : 3) + 25,5 g/lt EDTA içeren 0,2 g % 7 jelatin jel tabakası (jel muamelesi)]. Örnekler daha sonra *Brochothrix thermosphacta*, *E. coli* 0157: H7 *L. sakei*, *Leuconostoc mesenteroides*, *L. monocytogenes* veya *Salmonella* Typhimurium ile aşılanmıştır . Aşılanan örnekler vakum ambalajlanmış ve 8°C'de 4 hafta muhafaza edilmiştir. Antimikrobiyal jel uygulaması test edilen organizmalardan *Broch. thermosphacta*, *L. sakei*, *Leuconostoc mesenteroides* ve *L. monocytogenes* üzerinde hızlı bir bakterisidal etki yapmıştır .

Nisin dışında diğer bazı bakteriyosinler de lantionin içerirler (Tablo5.9).

Tablo 5.9. Laktik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Lantionin İçeren Bakteriyosinler

Bakteriyosin	Üretici	Özellikler
Nisin	<i>Lc. lactis</i> <i>Subsp lactis</i>	α - kemotripsine hassas, tripsine dayanıklı, ısıya stabil, asidik pH, pH 6.8'de stabil değil Gr(+) bakterilere karşı bakterisidal etki
Lactisin 481	<i>Lc. lactis</i> 481	α - kemotripsine hassas, tripsine dayanıklı, ısıya stabil. LAB ve <i>C. tyrobutyricum</i> 'a karşı bakterisidal
Lactococcin	<i>Lc. lactis</i> AD2185L030	Tripsine hassas, ısıya stabil, pH 7.0'de 100°C'ye <i>C. tyrobutyricum</i> , <i>L. helveticus</i> , <i>Strep. thermophilus</i> 'a karşı aktif
Lactocin	<i>L. sakei</i> 145	100°C ve pH 6.5'de ısıya dayanıksız, <i>Lactobacillus</i> , <i>Pediococcus</i> , <i>Leuconostoc</i> 'a karşı bakterisidal
Carnocin	<i>Carnobacterium</i> <i>piscicola</i> U149	Tripsine hassas, 60-121°C'de ısıya hassas. <i>Carnobacterium</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Pediococcus</i> , <i>Lactococcus</i> 'ye karşı bakterisidal

5. 6. *Carnobacterium* Bakteriyosinleri

Aside hassas laktobasiller *Carnobacterium* olarak tanımlanmış olup genellikle soğutulmuş et, kümes hayvanları ve balıkla ilgili türleri içerirler. Bunlar pH 5,6'ın altında gelişemezler. Yalnızca L(+)-laktat üretirler ve psikrotrofiktirler. Pek çok suşunun laktik asit bakterilerine ilaveten *Enterococcus* ve *Listeria*'ya karşı etkili bakteriyosinler ürettikleri bildirilmiştir (Klaenhammer, 1993). Carnosinler tipik olarak ısıya stabildirler ve pH 2-8 aralığında aktiftirler (Tablo 5.10).

Tablo 5. 10. *Carnobacterium* Bakteriyosinlerinin Karakteristikleri (Nettles ve Barefoot, 1993).

Bakteriyosin	Üretici	Stabilite	Hassasiyet
Carnobacteriocin A ₁ , A ₂ , A ₃	<i>C. piscicola</i> LV17A	62°C'de 30 dak	Proteolitik enzimler
Carnobacteriocin B ₁ , B ₂	<i>C. piscicola</i> LV17B	62°C'de 30 dak.	Proteolitik enzimler
Carnocin U149	<i>C. piscicola</i>	121°C de 15 dak. pH < 8	Proteolitik enzimler

Schillinger ve Lücke (1989) yaptıkları çalışmada et ve et ürünlerinden izole ettikleri 221 *Lactobacillus* suşundan 6 tanesinin bakteriyosin ürettiğini bulmuşlardır. *L. sakei* Lb 706'yı da içeren bu grubun arasında *Carnobacterium piscicola*'nın da bulunduğunu ve bu bakterinin *L. monocytogenes*'e ve enterokoklara karşı aktif olduğunu belirtmişlerdir.

Ahn ve Stiles (1990 b), yaptıkları çalışmada *C. piscicola* LV 17'yi incelemişler, et ve et ürünlerinden izole ettikleri bu bakterinin bakteriyosinler ürettiğini ve yakın ilişkili olduğu laktik asit bakterileri, *Enterococcus* türleri ve *L. monocytogenes* suşlarına karşı etkili olduğunu, ancak bakteriyosinlerin Gram negatif bakterilere karşı etkili olmadığını tespit etmişlerdir. Carnobakteriyosin A ve B'nin bakterisidal bir etki tarzına sahip oldukları, ısıya dayanıklılık gösterdikleri, geniş bir pH aralığında stabil oldukları, ancak proteolitik enzimlerle inaktive oldukları da belirlenmiştir (Ahn ve Stiles, 1990 b; Klaenhammer, 1993).

Stoffels et al. (1992), taze balıktan izole ettikleri fakültatif psikrotrofik bir laktik asit bakterisi olan *Carnobacterium piscicola*'nın carnosin UI 49 bakteriyosinini ürettiğini bildirmişlerdir. Carnocin UI 49 *Carnobacterium*, *Lactobacillus*, *Pediococcus* ve *Lactococcus*'u içeren yakından ilişkili bazı laktik asit bakterilerine karşı aktiftir. Bakteriyosine hassas hücrelerinin lisisi ile sonuçlanan bir bakterisidik etkinin söz konusu

olduğunu belirtmişlerdir. Maksimum bakteriosidal aktivitenin 34°C’de gerçekleştiği, 15°C’ye doğru aktivitede azalma olduğu, 15°C’nin altında ise tamamen yok olduğu belirtilmiştir. Carnocin UI 49, lantibiyotik grubunun bilinen en büyük üyesidir.

5. 7. *Leuconostoc* Bakteriyosinleri

Leuconostoc’ların bakteriyosin ürettiği ilk kez *Le.gelidum*’un ısıya dayanıklı, *L. monocytogenes* ve yakın ilişkili laktik asit bakterilerini inhibe eden bir protein üretmesi ile ortaya çıkmıştır. Son çalışmalar farklı kaynaklı (süt ve peynir gibi) *Le. mesenteroides* suşlarının da bakteriyosin ürettiğini göstermiştir. Vakum ambalajlanmış etlerden *Le. gelidum*, kuzu etlerinde ise *Le. paramesenteroides* izole edilmiş ve bunların da bakteriyosin ürettiği bildirilmiştir. *Leuconostoc* bakteriyosinleri ısıya stabil (leucocinler hariç) küçük peptidlerdir. Leucoocin S 60°C’de 30 dakikalık ısı işlem ile aktivitesinin % 50’sini kaybeder. Leuconocin S α -amiliz tarafından inaktive edilir (Klaenhammer, 1993).

Bakteriyosin üreticisi *Leuconostoc* türleri üzerine pek çok çalışma mevcuttur. Bir çalışmada şarap ve süt ürünleri izolatlarında bulunan bakteriyosin benzeri bileşiklerin *Lc. lactis* subsp. *lactis*’e karşı etkili olduğu belirtilmiştir. Konu ile ilgili başka çalışmalarda vardır (Harris et al., 1989; Ahn ve Stiles, 1990a; Nettles ve Barefoot, 1993; Kelly et al., 1996; Zhu et al., 2000).

Mathieu et al. (1993), yaptıkları çalışmada *Leuconostoc mesenteroides* sup. *mesenteroides* FR 52 tarafından üretilen mesenterosin 52 bakteriyosinini incelemişlerdir. Bakteriyosin, diğer *Leuconostoc* suşları ve pek çok *Enterococcus* ve *Listeria* türlerini inhibe ederken *Lactococcus* ve *Lactobacillus* suşlarına karşı aktivite göstermemiştir. Mesenterosin 52 gelişme fazı boyunca ortama salgılanır. Proteaz muamelesi ile inaktive edilir. pH 7.0’de 100°C 15 dakika muamele sonunda nisbi bir stabiliteye sahiptir. Ancak pH 4,5’de 6 saat 80°C’de pH 7.0’dekinden daha fazla stabilite gösterir. *Leuconostoc* cinsi bakterilerin ürettiği diğer bakteriyosinlerin karakteristikleri ise Tablo 5.11’de özetlenmiştir.

Tablo 5. 11. *Leuconostoc* Cinsi Bakterilerin Bakteriyosinlerinin Karakteristikleri (Nettles ve Barefoot, 1993)

Bakteriyosin	Üretici	Stabilite	Hassasiyet
Mesenterocin 5	<i>Le. mesenteroides</i>	100°C'ye 30 dak.	Pronaz, kloroform
Leucocin A	<i>Le. gelidum</i> UAL 187	Lipaz, pH 2-3; üre, kloroform sıcaklık (62°C 30 dak.)	Proteaz, kemotripsin, papain, pepsin, tirpsin pH>7.0
Leuconocin S	<i>Le. paramesenteroides</i> OX	Sıcaklık (60°C'de 30 dak). % 0.1 SDS	Amilaz, kemotripsin, tripsin, pronaz E, proteinaz K
Carnocin	<i>Le. carnosum</i> LA44A	Sıcaklık 100°C 15 dak, pH 2-10	Kemotripsin, tripsin, amilaz, sıcaklık (121°C 15 dak.)

5. 8. *Enterococcus* Bakteriyosinleri

Enterococcus faecium tarafından üretilen bakteriyosinler uzun yıllardan beri bilinmektedir. Özellikle *Listeria*'ya karşı aktif olan bakteriyosinler üreten enterokokların tanımlanmasıyla son yıllarda konu ile ilgili pek çok araştırma yapılmıştır. *Listeria* ile benzer çevrede bulunan *Enterococcus faecium*, bir silaj inokulantı olarak mikrobiyal bir besin katkısı ve gıdalar için probiyotik olarak kullanılabileceği belirtilmektedir (Mckay, 1990). Yapılan bir çalışmada *E. faecium*'dan izole edilen enterocin 1146'nın test edilen bütün *Listeria* türlerine karşı etkili olduğu ve yüksek dozda bulunduğu *C. butyricum* ve *C. perfringens*'e karşı da etkili olduğu bildirilmiştir. *L. sakei* dışındaki diğer laktik asit bakterilerine karşı inhibitör olması *Listeria* türlerinin inhibe edilebileceği fermentasyonlarda enterocin 1146'yı biyolojik işlemlerde kullanılma potansiyeline sahip kılar (Parente ve Hill, 1992; Mckay, 1990; Klaenhammer, 1993; Knudtson ve Hartman, 1993).

Lopez-Lora et al., (1991), *Enterococcus faecalis* spp. *liquefaciens* S-48 ve bunun mutant suşu B-48-28'nin Bc-48 diye isimlendirilen bir bakteriyosin salgıladıklarını belirtmişlerdir. Bakteriyosinin 80 kDa'luk bir protein olduğu ve pH 5.5-9.0 arasında stabilize gösterdiği, 45°C'nin üstündeki sıcaklıklara ve proteazlara karşı hassas olduğunu belirtmişlerdir. İnhibisyon spektrumunun *Ent. faecalis*'in suşları ile sınırlı olduğunu ve Bc-48 bakteriyosinin protein sentezini inhibe ettiğini de bildirmişlerdir.

Siragusa (1992), yaptığı çalışmada *Enterococcus hirae* tarafından üretilen bakteriyosinin *Listeria* türlerine karşı inhibisyon etkisini incelemiştir. Sığır bağırsak sisteminden elde edilen ve *Ent. hirae* olarak tanımlanan izolatanın *L. monocytogenes* ve diğer *Listeria* türlerine karşı inhibisyon etkisi gösteren bir bakteriyosin ürettiği bulunmuştur. Pronaz ve papaine karşı hassas katalaza karşı duyarsız olan bu bakteriyosinin, seçilen Gram negatif bakterilere karşı inhibitör etki göstermediği belirlenmiştir.

Villani et al. (1993), yaptıkları çalışmada *Enterococcus faecalis* 226 tarafından üretilen enterocin 226 NWC'nin *L. monocytogenes*'e karşı aktivitesini incelemişlerdir. Üretici suşun kültür süpernatant sıvısından izole edilen bakteriyosin, aynı türün suşlarına ve *L. monocytogenes*'e karşı aktiftir, fakat yararlı laktik asit bakterilerine karşı aktif olmadığı belirlenmiştir. Enterocin 226 NWC, SDS-PAGE'la belirlenen 5800 daltonluk bir moleküler ağırlığa sahip protein tabiatında bir madde olduğu, nispeten ısıya dayanıklı bu bakteriyosinin bakterisidal bir etki gösterdiği saptanmıştır. *Listeria*'ya karşı özel etkisinden dolayı gıdaların biyolojik olarak korunmasında kullanılabileceği de vurgulanmıştır .

Rodriguez et al. (1997), *Enterococcus faecalis* INIA4 tarafından üretilen enterocin 4 bakteriyosinini bildirmişlerdir. *Ent. faecalis* tarafından üretilen enterocinlerin çoğu *L. monocytogenes*'in inhibisyonunda kullanıldığını belirtmişlerdir.

Nilsen et al. (1998), yaptıkları çalışmada *Enterococcus faecium* CTC 492'de enterocin A ve enterocin B üretiminin suşun kendisi tarafından üretilen ekstraselüler bir peptidin

varlığına bağlı olduğunu ifade etmişlerdir. Yapılan çalışma sonunda bu yapının 25 amino asitli bir peptid olduğunu belirtmişlerdir .

Aymerich et al . (2000), *Enterococcus faecium* CTC 492 tarafından üretilen enterocin A ve B'nin üretimine sosis katkı maddelerinin etkisini laboratuvar şartlarında incelemişlerdir. Enterocin üretimi, nitrat dışındaki diğer maddelerden önemli derecede etkilenmiştir . Sodyum klorür ve biber ilavesi bakteriyosin üretimini 16 kat azaltmıştır. Sıcaklık ve pH da enterocin üretimini önemli derecede etkilemiş; 25-30°C arasında ve 6,0-7,5 başlangıç pH'sında optimal şartlar gerçekleşmiştir. Maksimum aktivite % 2 sukroz + % 0,25 glukoz ve % 80 Tween 80'le desteklenmiş MRS besiyeri yerinde gözlenmiştir. Sonuç olarak enterocin A ve B'nin kuru fermente sosislere *Listeria*'nın önlenmesinde ilave bir biyolojik koruyucu engel olarak düşünülebileceği belirtilmiştir.

Ohmomo et al. (2000), yaptıkları çalışmada *Enterococcus faecium* NIAI 157 tarafından üretilen enterocin ON-157'yi incelemişlerdir. Silaj ve sebze fermantasyonları gibi bitkisel kaynaklı materyalden *Ent. faecium* NIAI 157'yi izole etmişlerdir. Bunun metaboliti de bakteriyosin benzeri aktivite göstermiştir. Protein yapısında olması ve yakın ilişkili olduğu türlere karşı bakteriyosin benzeri aktivite göstermesi bunun bir bakteriyosin olduğunu düşündürmüştü ve enterocin ON-157 olarak adlandırılmıştır. Suşun bakteriyosin üretiminin MRS sıvı besiyeri yerinde logaritmik gelişme fazında ekstraselüler olarak gerçekleştiğini belirlemişlerdir. Enterocin ON-157'nin α -amilaz ve proteolitik enzimlerle muamele sonucu kolayca inhibe olduğunu, bakterisidal bir etki tarzı gösterdiğini ve *Enterococcus*, *L. sakei* ve *L. monocytogenes*'in gelişimini inhibe ettiğini belirlemişlerdir.

6. ET KAYNAKLI BAKTERİYOSİNOGENİK SUŞLAR

Et, ekolojik özelliklerinden dolayı (su aktivitesi, pH ve besin içeriği) mikrobiyal bozulmaya karşı oldukça hassastır. Etlerde laktik asit bakterileri, et fermente sosislere işlendikten, soğukta depolandıktan ya da vakum veya modifiye atmosferde ambalajlandıktan sonra kolay gelişen başlangıç mikroflarasının bir parçasını oluşturur. Et ve et ürünlerinde doğal olarak bulunan laktik asit bakterileri :*Carnobacterium piscicola*

ve *C. divergens*; *Lactobacillus sakei*, *L. curvatus* ve *L. plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp *mesenteroides* , *Le. gelidum* ve *Le. carnosum*' dur (Hugas,1998) .

Laktik asit bakterileri gıdanın raf ömründe bir artışla sonuçlanan koruyucu etkinin yanı sıra tekstür, tat ve aroma değişmesine neden olan gıda fermantasyonlarında önemli rol oynar (Hugas, 1998).

Laktik asit bakterileri ette, etin düşük karbonhidrat içeriği ve kuvvetli tamponlama kapasitesinden dolayı duyuşal karakteristiklerde herhangi bir değişime neden olmaksızın hafif bir fermantasyon işlemi gerçekleştirir. Aynı şekilde şeker ilavesinden sonra doğal olarak fermente edilmiş etlerde laktik asit bakterilerinin gelişmesi sonucunda laktik asit üretilmekte, düşen pH yeni ürünün mikrobiyal stabilizasyonu ile sonuçlanmaktadır (Hugas, 1998).

Pediococcus pentosaceus ve *P. Acidilactici*, A.B.D'de fermente sosislerde tercih edilen mikroorganizmalar olmasına rağmen mevcut et fermantasyonlarında çok yaygın değildir. Avrupa, özellikle de Güney Akdeniz ülkelerinde et fermantasyonlarında en çok kullanılan starter kültürler *L. sakei*, *L. curvatus*, *L. plantarum*' dur (Hugas, 1998).

Bununla birlikte kontrolsüz gelişen laktik asit bakterileri, et ve et ürünlerinde olumsuzluklara neden olabilirler. *Leuconostoc*, *L. sakei* , işlenmiş ette yapışkan madde üretebilir, *L. sakei*' nin sülfid üreten suşları vakum ambalajlanmış etlerde bozulmaya neden olur (Enan et al., 1996).

6. 1. Sınıf I Bakteriyosinleri Üreten Et Kaynaklı Bakteriyosinogenik Suşlar

Fermente sosislerden izole edilen *Lactococcus lactis* BB24, nisin salgılamaktadır. Nisin pratikte biyokimyasal ve genetik olarak en çok çalışılan bakteriyosindir. Süt ürünlerinde son üründe 3,75-12,5 mg/kg'lık makul bir seviyede kullanıldığında kuvvetli bir antibotuninal, antilisteriyal ve antistaphylococcal bir aktivite gösterir. Nisinin 45'den fazla ülkede gıda katkısı olarak kullanımına izin verilmiştir (Hugas, 1998).

Norveç kuru sosislerinden izole edilen *Lactobacillus sakei* L45, İspanyol fermente sosislerinden izole edilen *L.sakei* 148 ve *L. sakei* V18 aynı zamanda bir lantibiotik olan lactocin S'yi salgırlarlar. Aktivite spekturumu *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* ve *Clostridium* suşlarını içermektedir (Mortvedt et al ., 1991).

Lactocin S üreten suşların bolluğu İspanya ve Norveç gibi farklı iklimsel çevrelerden izole edilebildiği için fermente et ürünlerinde bu ürün özel bir önem gösterir.

6. 2. Sınıf II Bakteriyosinleri Üreten Et Kaynaklı Bakteriyosinogenik Suşlar

Pediocin benzeri bakteriyosinler, kuvvetli antilisterial aktiviteleri nedeni ile halen daha büyük bakteriyosin alt sınıfıdırılar. Bu alt grup pediocin, ilk ve en geniş çalışılan bakteriyosin olduğundan, pediocin ailesi olarak isimlendirilmiştir. Bu grupta bakteriyosin üreten suşlar içinde *Pediococcus* (Hoover et al., 1988; Bhunia et al., 1988); *Leuconostoc* (Mathiue et al., 1993); *Lactobacillus* (Schillinger ve Lücke, 1989; Mortvedt et al., 1991; Holzapfel et al., 1995) ve *Enterococcus* (Nilsen et al ., 1998) gibi pek çok et kaynaklı laktik asit bakterisi de bulunmaktadır.

Amerikan tipi fermente sosislerden izole edilen *P. acidilactici* PACI.O, *P. acidilactici* JD, *P. acidilactici* H, *P. acidilactici* E, *P. acidilactici* F; İspanyol tipi fermente sosislerden izole edilen *P. pentasaceus* Z102 PA-1 bakteriyosinini üretirler (Hoover et al ., 1988 ; Bhunia et al., 1988, 1991). PAC1.0 suşu tarafından üretilen bakteriypsin önceleri pediocin PA-1, H suşu tarafından üretilen bakteriyosin pediocin AcH olarak isimlendirilmiştir. Bu bakteriyosin *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *L. monocytogenes*, *C. perfringens*, *C. botulinum* ve *S. aureus*'a karşı aktiftir (Hugas, 1998).

Fermente sosislerden izole edilen *Lactobacillus sakei* Lb706, *L. curvatus* LTH 1174 ve *L. sakei* CTC 494 sakacin A, curvacin A ve sakacin K olarak isimlendirilen aynı

bakteriyosini üretirler. Aktivite spektrumları, diğer *Lactobacillus* türleri, *L. monocytogenes* ve *E. faecalis*'i içerir (Hugas, 1998).

Etten izole edilen *L. sakei* LTH 673 ve *L. sakei* Lb 674 ve ekşi hamurdan elde edilen *L. bavaricus* MI404' ün önceleri sırası ile sakacin P, sakacin 674 ve bavaricin A olarak isimlendirilen aynı bakteriyosini ürettiği bildirilmiştir. Bakteriyosin, *Lactobacillus*, *L. monocytogenes* ve *E. faecium*'a karşı aktifken *S. aureus* ve Gram negatif bakterilere karşı etkili değildir. *L. sakei* MN (önceleri *L. bavaricus* MN) *L. monocytogenes*, *Staphylococcus* spp., *C. perfringens* ve *C. botulinum* sporlarını inhibe eden bavaricin MN'yi üretir (Okereke ve Montville, 1991).

İspanyol tipi yarı kuru fermente sosislerden izole edilen *Enterococcus faecium* CTC 492 ve İrlanda süt ürünlerinden izole edilen *E. faecium* DC 1146 sırasıyla enterocin A ve enterocin 1146 olarak isimlendirilen aynı bakteriyosini üretirler. Enterocin A *Lactobacillus*, *L. monocytogenes*, *C. divergens*, *Ent. faecalis* ve *C. perfringens*'i inhibe etmektedir (Hugas, 1998).

Soğutulmuş, vakum ambalajlanmış etlerden izole edilen *Leuconostoc gelidum* A-UAL 187 ve *Le. mesenteroides* TA 33a'nın sırasıyla leucocin A-UAL ve leucocin TA33 olarak isimlendirilen bakteriyosinleri üretirler. Etki spektrumu laktik asit bakterileri, *L. monocytogenes* ve *Ent. faecium* 'u içerir. Vakum ambalajlanmış etlerden izole edilen *Le. carnosum* B-TA11a, leucocin A-UAL'ye çok benzeyen leucocin B-TA11a bakteriyosinini üretir. Bu nisin A ve nisin Z'de tarif edildiği gibi doğal bir leucocin A-UAL varyantı olarak düşünülebilir (Hugas, 1998).

Bir laktik asit bakterisi grubu olan ve soğutulmuş et ürünlerinden izole edilen *Carnobacterium* cinsine ait pek çok üyenin bakteriyosin ürettiği bulunmuştur ki bu psikotrofik et kaynaklı patojenler ve bozucu organizmalara karşı önemli bir rekabet imkanı kazandırmaktadır. *A. hydrophila* ve *L. monocytogenes*'in inhibe ettikleri bildirilmesine rağmen bakterisidal aralık yakın ilişkili laktik asit bakterileri ile sınırlıdır. Vakum ambalajlanmış et ürünlerinden izole edilen *Carnobacterium piscicola* (C.

maltaromicus) KLV17B carnobacteriocin B1 ve B2 diye adlandırılan iki bakteriyosin üretir. Carnobacteriocin B1 balıktan izole edilen multibakteriyosinogenik *C. piscicola* V1 suşu tarafından da üretilir. Bu bakteriyosinler *Carnobacterium*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Listeria* ve *Enterococcus*'lara karşı aktiftir (Hugas, 1998).

Jambondan izole edilen *Carnobacterium piscicola* JG 126'nın diğer pediocin benzeri bakteriyosinlerdeki gibi güçlü bir antilisterial aktivite gösteren piscicolin 126 bakteriyosinini ürettiği belirtilmiştir. Sığır kıymasından izole edilen *Le. curvatus* FS47 'nin ise curvaticin FS47 ürettiği ve *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Enterococcus* ve *Bacillus*'a karşı etkili olduğu belirtilmiştir (Hugas, 1998).

Fermente sosislerden izole edilen *L. brevis* SB 27 ortamda brevicin 27 bakteriyosini salgıladığı belirtilmiştir. Bunun laktobasillere ve pediokoklara karşı aktif olduğu da tespit edilmiştir. İspanyol tipi fermente sosislerden izole edilen *P. acidilactici* L50 'nin geniş antibakterial spektruma, (*Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Propionibacteria*, *C. perfringens*, *C. botulinum*, *Listeria* ve *S. aureus*) sahip pediocin L50 diye isimlendirilen bir bakteriyosin salgılar. Son zamanlarda başlangıçta pediocin L50'ye ithaf edilen antimikrobiyal aktivitenin aslında enterosin L50A ve L50B'ye uygun olduğu belirtilmiştir (Hugas, 1998).

Vakum ambalajlanmış etlerden izole edilen *Carnobacterium divergens* 750'nin yeni bir bakteriyosin olarak divergicin 750'yi ürettiği ve *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *L. monocytogenes* ve *C. perfringens*'e karşı aktif olduğu belirlenmiştir (Hugas, 1998).

Carnobacterium piscicola LV17A mutanı ve *C. piscicola* LV61, sırasıyla carnobacteriocin A ve piscicolin 61 diye isimlendirilen pediocin benzeri olmayan farklı bakteriyosinler salgılar (Hugas, 1998).

7. ET VE ET ÜRÜNLERİNDE BAKTERİYOSİN VE BAKTERİYOSİN ÜRETEN SUŞLARIN KULLANIMI

Bakteriyosin üreten laktik asit bakterilerinin sucuk, kuru ve yarı-kuru sosis ve salam gibi fermente et ürünlerinin üretiminde kullanılması ile mikrobiyal açıdan daha güvenilir ürünler elde etmek mümkün olduğu belirtilmektedir (Berry et al ., 1990; Schillinger et al., 1991; Kaya, 1993; Garver ve Muriana, 1994; Tichaczek et al.,1994).

Chung et al. (1989), nisin in ette gram pozitif bakterilere karşı (*L.monocytogenes*, *S.aureus* ve *Lc. lactis*) inhibitör olduğunu, gram negatif bakterilere (*Serratia marcescens*, *Salmonella* Typhimurium ve *Pseudomonas aeruginosa*) karşı ise etkisiz olduğunu bildirmişlerdir.

Nielsen et al. (1990), taze etlerde yürüttüğü araştırmada, *P. acidilactici*'nin ürettiği bir bakteriyosinin *L.monocytogenes* üzerine inhibitör etkili olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca etin yüzeyindeki bakteriyosinin 28 günlük soğuk muhafazada dahi stabil kalarak inhibitör etkisini sürdürdüğünü de belirtmişlerdir.

Berry et al. (1991), ise yaptıkları araştırmada ,bakteriyosin üreten *P.acidilactici* JDI-23 suşu ve bunun plazmidi kür edilmiş derivatı JDM'nin frankfurterlerde *L.monocytogenes*'in çoğalımı üzerine etkisini belirlemişlerdir.Vakum uygulanarak ambalajlanan ve 4°C'de muhafaza edilen *Pediococcus* ilave edilmemiş frankfurterlerde, depolama başlangıcında 10⁴ CFU/g olan *L.monocytogenes* sayısı, 60 günlük depolama sonunda 10⁶ CFU/g'a çıkmıştır. Ancak, *Pediococcus* ile aşılanmış (10⁷ CFU/g) örneklerde 60 günlük depolama süresince *Listeria* çoğalmamıştır.Ancak düşük düzeyde (10³-10⁴ CFU/g) *Pediococcus* ile aşılanan örneklerde *Listeria* gelişmekle birlikte, lag süresi uzamış ve JDI-23 ile aşılananlarda bakteriyosin etkisi görülmüştür.

Lewus et al. (1991), perakende parça etlerden izole ettikleri 10 adet bakteriyosin üreten laktik asit bakterisi ile, diğer 11 adet bakteriyosin üreten laktik asit bakterisinin, 4 *L.monocytogenes* suşu, 2 *Aeromonas hydrophila* ve 2 *S.aureus* suşuna karşı inhibitör

aktivitesini test etmişlerdir. Et izolatlarının 8 tanesi, diğer suşların ise tamamı *L.monocytogenes*'in 4 suşuna karşı inhibitör etkide bulunmuştur. İlaveten, *A. hydrophila* ve *S.aureus*'a karşı da etki görülmüştür.

Turantaş ve Ünlütürk (1991), yaptıkları çalışmada; sucuk üretiminde starter kültür kullanıldığında sucuk hamurunda başlangıçta sırasıyla 10^3 adet/g ve 10^5 adet/g düzeyinde olan *S.aureus* ve *Salmonella* Typhimurium sayısının 6. günden itibaren saptanabilir düzeyin altına indiğini, buna karşın starter kültürsüz sucuk örneklerinde *S.aureus*'un 30 gün, *Salmonella* Typhimurium'un da 54 gün canlı kaldığını tespit etmişlerdir.

Hasting ve Stiles (1991), etten buzdolabı sıcaklığında gelişebilen heterofermantatif bir laktik asit bakterisi (*Leuconostoc gelidum*) izole etmişler ve bu bakterinin proteaz ve tripsin ile inaktif olan, fakat katalaz uygulaması ve 62°C 'de 30 dakikalık ısıtma işlemine dayanıklı bakteriyosin benzeri bir metabolit ürettiğini belirlemişlerdir. Üretilen inhibitör metabolitin yakın ilişkili laktik asit bakterilerine, *L. monocytogenes* ve *Ent. faecalis*'in bir suşuna karşı aktif olduğu tespit edilmiştir.

Schillinger et al. (1991), pastörize edilip (100°C 'de 15 dakika) soğutulmuş sığır kıymasında yaptıkları çalışmada sakacin A olarak adlandırılan bakteriyosini üreten *L. sakei* Lb 706 'nin varlığında, 8°C 'de *L. monocytogenes* sayısında 6 gün boyunca önemli bir değişim olmadığını tespit etmişlerdir. Kontrol grubu kıymalarda ise sayının 8°C 'de 6 günde 10^5 CFU/g 'dan 10^8 CFU/g 'a çıktığını belirtmişlerdir .

Kaya ve Gökalp (1991), salamlar üzerinde yaptıkları çalışmada, *L.monocytogenes*'e karşı *L.sakei* suşlarını koruyucu kültür olarak denemişlerdir. Dilimleme makinasında kontrol grup salamlar yalnızca *L. monocytogenes* ile (10^3 CFU/g), ikinci grup salamlar *L.monocytogenes* (10^3 CFU/g) ve *L. sakei* Lb 706-B ile (10^3 CFU/g), üçüncü grup salamlar ise *L.monocytogenes* (10^3 CFU/g) ve *L.sakei* Lb 706 (10^3 CFU/g) ile kontamine edilmişler ve vakum uygulanarak ambalajlanmışlardır. 2°C 'de 7, 4°C 'de 6 ve 7°C 'de 3 hafta depolanan örneklerden kontrol grubunda *L.monocytogenes* sayısında artış saptanırken, *L. sakei* Lb 706 varlığında *L. monocytogenes* sayısında artış olmamıştır.

Bakteriyosin negatif suşun varlığında ise, 2°C hariç diğer depolama sıcaklıklarında çoğalma olmuştur.

Degnan et al. (1992), *P.acidilactici*'nin bakteriyosin üreten ve üretmeyen birer suşunu, vakum ambalajlı wiener tipi sosislerde *L. monocytogenes*'in gelişiminin kontrolünde kullanmayı denemişler, bakteriyosin üreten pediokokların sosis gibi ısıl işlem görmüş et ürünlerinde özellikle yüksek sıcaklıklarda muhafazada *L. monocytogenes*'in kontrolü amacıyla kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Erol ve Hildebrant (1992), starter kültür kullanılmayan ve sadece *Staphylococcus carnosus* kullanılarak üretilen sucuklarda, *S.aureus* ve *Salmonella* Typhimurium sayısının arttığını, ancak üretimde karışık kültür (*L.plantarum*+*S.carnosus*) kullanılması durumunda her iki bakterinin çoğalamadığını, hatta sayılarının azaldığını tespit etmişlerdir.

Kaya (1993), tarafından yapılan bir araştırmada da çeşitli nitrit dozlarının ve farklı starter kültür kullanımının sucukta *L.monocytogenes*'in davranışı üzerine etkisini araştırmıştır. Starter kültürsüz örneklerde olgunlaşmanın ilk üç gününde *L.monocytogenes* sayısında önemli artış saptanırken, *L. monocytogenes*'e karşı antagonistik aktivite gösteren suşların (*L.sakei* Lb 706 ve *P.acidilactici* Lb 628) varlığında *L.monocytogenes* sayısında hızlı bir düşüş görülmüştür. *L.sakei* Lb 706 içeren sucuk örneklerinde olgunlaşmanın üçüncü gününde *Listeria* sayısında yaklaşık 1 log birimlik bir azalma, *P.acidilactici* Lb 628 ilave edilen sucuk örneklerinde ise aynı sürede 1 log birimden daha fazla azalma olduğu belirlenmiştir.

Et kaynaklı laktik asit bakterilerinin son yıllarda yayımlanan pek çok çalışmada bakteriyosin üretici olarak tarif edilmesine rağmen gıda ve özellikle et sistemlerinde yalnızca birkaçı biopreservatif olarak çalışılmıştır. Et ve et sistemlerinde çalışılan bakteriyosinlerin çoğu nisin ve leucocin A fakat özellikle pediocin PA-1 / AcH'yi içerir (Hugas, 1998).

Bakteriyosinler katı gıdalarda sıvı ortamlara oranla daha az etkilidir. Bakteriyosin aktivitesi, bakteriyosin moleküllerinin gıda bileşenlerine bağlanması, proteazların parçalayıcı etkileri ve diğer enzim ve gıda matriksindeki beklenmeyen bir etki sonucunda azalabilir (Lücke, 2000).

Laboratuvar ortamında belirli bir bakteriyosin üretimi bir gıda sistemindeki etkinliği ifade etmez. Sosis fermentasyonları ya da biyolojik koruma için bakteriyosin üreten bir kültür oluşturulurken et ve et ürünlerinin mikrobiyal gelişme ve metabolit üretimini etkileyen bazı faktörleriyle kompleks sistemler oldukları akıldan çıkarılmamalıdır. Bu yüzden de bakteriyosin üreten kültürlerin performansı üzerinde fermentasyon teknolojisi ve formülasyonun etkisi son derece önemlidir.

Etin biyolojik olarak korunması üzerine ilk çalışmalar 1987'de Schillinger ve Lücke tarafından yapılmış ve o zamandan beri pişirilmiş etler ve fermente et ürünlerinde pek çok farklı çalışma yapılmıştır. Bakteriyosinogenik kültürler ve/veya onların bakteriyosinlerinin uygulanması üzerindeki çalışmaların çoğu çiğ ve işlenmiş etlerden yaygın bir kontaminant olan *L. monocytogenes*'i kontrol etme potansiyelleri için kullanılarak gerçekleştirilmiştir ve diğer çalışmalar ürünün raf ömrünün uzatılmasına yönelik olarak artmıştır (Hugas, 1998).

Kür edilmiş fermente et ürünlerinde nisin kullanımı dair eldeki veriler belirgin değildir (Vanderbergh, 1993). Süt ürünleri ile kıyaslandığında et ürünlerinde nisin kullanımı düşük çözünürlüğü, düzensiz dağılımı ve stabilite eksikliği nedeniyle çok başarılı olmamıştır. Ayrıca etkin olması için gerekli doz ekonomik değildir.

Et yüzeylerini kontaminasyondan korumak için nisin spreylene (Ambicine 5000 AU/ml) etkili olmuştur ve nitrit ve 1000-10000 IU/g nisinden oluşan bir kombinasyon ve frankfurterlerde, domuz slurries'de ve çiğ ette *Clostridium* ve *Listeria* ve *Staphylococcus* gibi diğer bazı Gram pozitif patojenlere karşı inhibitör etki göstermiştir (Chung et al., 1989).

Pediocin AcH ve PA/1'in et ve et ürünlerinde nisine göre kullanımı daha elverişlidir. Bununla birlikte *P. acidilactici* etin doğal yapısında olan bir et suşu değildir ve buzdolabı sıcaklığında gelişip dolayısıyla bakteriyosin üretebilme yeteneğinde değildir.

Yüzeyi *L. monocytogenes* ve *P. acidilactici* ile aşılanan ve 4° ve 25°C'de depolanan Amerikan tipi sosislerde; 4°C'de biyo koruyucu kültürlerin patojenleri inhibe edemediği fakat 25°C'de *P. acidilactici*'nin *Listeria*'yı inhibe ettiği gösterilmiştir ki bu uygun olmayan şartlarda biyolojik korumayı gösterir(Lunchansky et al., 1992).

Psikrotrofik bakteriyosinogenik laktik asit bakterileri et ve et ürünlerinin biyolojik olarak korunmasında iyi bir kullanım potansiyeline sahiptir. Bu suşlar tarafından üretilen enterocin ve lactocin S dışında sakacin, curvacin, bavaricin, leucocin ve carnobacteriocin, nisin ya da pediocin PA-1 /AcH'ye eşdeğer bir antibakteriyal spektruma sahip değildirler, ancak pek çoğu *Listeria*'ya karşı aktiftir (Hugas,1998).

Aynı bakteriyosini (sırasıyla sakacin A, curvacin A ve sakacin K) üreten *L. sakei* Lb 706, *L. curvatus* LTH 1174 ve *L. sakei* CTC 494, insitu denemlerde kullanılmış ve *Listeria*'ya karşı aktiviteleri gösterilmiştir. Fermente sosislerde *L. sakei* CTC 494, *L. curvatus* LTH 1174 ve *L. sakei* Lb 706 standart bir starter kültürle mukayese edildiğinde *Listeria*'nın sayısını 1,8, 2 ve 0,5 logaritmik birim düşürmüştür (Hugas ve, 1998). Fermente edilmemiş kolay bozulabilir et ve et ürünlerinde bakteriyosin üreten suşların bakteriyosin negatif suşlara kıyasla *Listeria* sayısında 1-4 logaritmik birimlik azalmalara neden olduğu belirtilmiştir (Tablo 7.1) .

Tablo 7. 1. Kolay Bozulabilen, Fermente Edilmemiş Etlerde *Listeria* Üzerine Farklı Bakteriyosinogenik Suşların Etkisi (Lücke, 2000).

Et ürünü	Kullanılan Bakteriyosinogenik suş	Kontrolle kıyaslandığında (bac) <i>Listeria</i> sayısındaki desimal azalma
Kür edilmiş, pastörize, dilimlenmiş Vakum ambalajlanmış soğutulmuş etler,	<i>L. sakei</i> Lb 706 <i>L. sakei</i> Lb 674 <i>L. sakei</i> CTC 494	1-3 4 1-1,5
25°C’de muhafaza edilen wiener	<i>P. acidilactici</i> JBL 1095	1-3
Soğutulmuş çiğ et	<i>L. sakei</i> CTC 494	1-2
Soğutulmuş çiğ tavuk eti	<i>L. sakei</i> CTC 494	1,5-3
Piştirilmiş , soğutulmuş tuzsuz et	<i>L. sakei</i> Lb 706	1 (7 günden sonra tekrar gelişim)

Sakacin P üreten *L. sakei* Lb 674 vakum ambalajlı dilimlenmiş Bologna tipi sosislerde incelenmiş ve *Listeria* gelişimini önlemede bakteriyosinogenik suşla düşük seviyede aşılamanın avantaj sağlamadığı ve bio-koruyucu kültürün yüksek seviyelerde direkt uygulamasının daha etkin olacağı önerilmiştir (Kröckel, 1997) .

L. bavaricus MN’nin 4 ve 10°C’de depolanan vakum ambalajlanmış, ısıtıl işlem görmüş etlerde *L. monocytogenes* ‘in gelişmesini inhibe etme kabiliyetleri açısından incelenmiştir. 4C’de *Listeria* başlangıç aşılama seviyesine bağlı olarak inhibe edilmiş ya da inaktive edilmiştir. 10°C’de et suyu içermeyen etler hariç en az 10 kat bir azalma göstermiştir. Daha düşük sıcaklık derecelerinde glukoz içeren et suyu ilavesi ve *L. bavaricus*’un daha yüksek seviyelerde aşılınması ile *Listeria* sayısında daha etkin bir azalma görülmüştür (Hugas, 1998) .

Az fermente edilmiş sosislerden izole edilen *Enterococcus faecium* CTC 492 suşunun pediocin benzeri olan enterocin A’yı ürettiği, bu bakteriyosinin *L. monocytogenes* ve *C. pefringens* patojenlerini inhibe eden geniş bir spektruma sahip olduğu bildirilmiştir.

Sosislerde enterocin A üretimi tuz ve biber gibi katkıların ilave edilmesi ile inhibe olur. İn situ denemelerde, enterocin A fermente sosisler, çiğ domuz kıyması, pişirilmiş jambon (ham), bacon ve pate (etli-tavuklu börek)'de *Listeria*'nın gelişmesini inhibe etmiştir. 800 AU/g enterocin aktiviteli *Ent. faecium* CTC 492'nin sıvı konsantratu fermente sosis formülasyonuna ilave edilmesi ile *Listeria*'nın başlangıç sayısı 4 log kadar azaldığı, aynı organizmanın pate'de tamamen inhibe edilmesi için 4800 AU/g gerekli olduğu bildirilmiştir (Hugas , 1998) .



8. SONUÇ VE ÖNERİLER

Laktik asit bakterilerinin bakteriyosinleri, üretici suşla yakın ilişkili bakterilere karşı aktif olan antimikrobiyal peptid ya da küçük proteinlerdir. Gıda güvenliğinin sağlanması ve gıda korumada uygulama için bakteriyosinogenik laktik asit bakterilerinin uygulama potansiyeline sahip olması, son yıllarda laktik asit bakterileri bakteriyosinlerinin uygulanması üzerine araştırmaların artmasına neden olmuştur. Yapılan çalışmaların ışığı altında şu genel sonuçlara varmak mümkün olacaktır:

1. Tüketiciler artan sağlık riski nedeniyle her geçen gün daha çok doğal gıdalara yönelmekte, kimyasal koruyuculardan kaçınmaktadırlar. Bakteriyosin kullanımı, doğal olması ve antibiyotiklerin aksine vücutta bir bağışıklığa neden olmaksızın sindirim enzimleri tarafından inaktive edilmesi nedeni ile bu noktada önem kazanmaktadır.
2. Bozucu ve patogen mikroorganizmaları inhibe etmede etkin olduğu tahmin edilen bakteriyosin değişik mikroçevre ve şartlarda bozucu mikroorganizmalar ve patojenlerle ilişkili olarak ürünün stabilitesi üzerinde etkiye sahiptir. İster makroskopik, ister mikroskopik olsun bu çevrede besin kaynakları için yarışma vardır. Bakteriyosinogenik laktik asit bakterilerinin et ve ürünlerinde baskın grup olduğu düşünülürse bu bir avantajdır.
3. Yalnızca yakından ilişkili olduğu bakterilere karşı etkili olmaları ette biyokoruyucu olarak kullanımları açısından bir handikaptır, bununla birlikte bakteriyosinogenik kültürler Gram negatif psikrotrofların yerini almak ve dominant bir mikroflora oluşturmak gibi indirekt yollarla Gram negatif popülasyonuna olumsuz etki yapabilirler.
4. Gram negatif bakterileri bakteriyosinlere, özellikle de nisine karşı duyarlı hale getirebilmek için farklı uygulamalar yapılmıştır. Nisinin bir chelating madde (EDTA, Tween, Triton x 100 gibi) ile kullanımı nisinin antibakteriyal spektrumunu Gram

negatif bakterileri içerecek şekilde genişletir . Gram negatif bakterilerin hassasiyetini artırmada ozmotik şok (yüksek tuz gibi), yüksek basınç gibi uygulamalar da etkili olabilir.

5. Bakteriyosin kullanımı enerji sarfiyatını azaltan ve ürünün beslenme değeri ve organoleptik karakteristiklerini geliştiren ısıtma işlemde düşüşe neden olabilir.
6. Nisin, GRAS olarak kabul edilen ve ticari boyutta kullanılan tek bakteriyosindir. Ancak et ve ürünlerinde kullanımı sınırlıdır.
7. Bakteriyosin kullanımı patojen ve bozucu mikroorganizmalara karşı ilave bir mikrobiyolojik güvenlik seviyesi oluşturur. Ancak kullanımları, üretim işlemleri, ürünler ve ikincil ingredientler ile sınırlıdır. Ayrıca yüksek seviyelerde kontaminasyona karşı etkili olmamaları da tüketici için bir avantajdır.

Bütün bunlara rağmen konu ile ilgili çalışmalar hızlı bir şekilde devam etmektedir. Halen daha saflaştırılma ve diğer incelemelere dair bir standart mevcut değildir. Ayrıca isimlendirmede kullanılan terminolojide de büyük sıkıntılar yaşanmaktadır.

Sonuç olarak koruyucu kültür veya bakteriyosin kullanımı bir koruma yöntemi olarak değil de ilave bir engel olarak düşünülmelidir. Günümüzde probiyotik ürünlere artan talep de düşünülürse bakteriyosin kullanımının önemi daha da artmaktadır. Kimyasal koruyuculara oranla daha az sağlık riski taşımaları nedeniyle kullanımları önerilmektedir. Ancak kullanımları gıda matriksinin yapısından dolayı sınırlıdır. Ancak artan çalışmalar ve özellikle genetik mühendisliğindeki gelişmeler ışığında bu konuda da önemli ilerlemeler sağlanacağı tahmin edilmektedir .

KAYNAKLAR

- Abee, T., Kröckel, L. and Hill, C. 1995, Bacteriocins: modes of action and potetials in food preservation and control of food poisoning. *Int. J. Food Microbio.*, 28, 169 - 185.
- Ahn, C. and Stiles, M. E. 1990a, Antibacterial activity of lactic acid bacteria isolated from vacuum-packaged meat. *J. Appl. Bacteriol.*, 69, 302-310.
- Ahn, C. And Stiles, M. E. 1990b, Plazmid - associated bacteriocins production by a starain of *Carnobacterium piscicola* from meat. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56, (8), 2503 - 2510.
- Anderson, L. 1997, Bioprotective cultures for fresh sausages. *Fleischwirtsch.*, 77, (7), 635-637.
- Aşkar, M.; Aslım, B.; Beyatlı, Y. 1999, Et Ürünlerinden İzole Edilen *Pediococcus acidilactici* Suşlarının Bazı Metabolik ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin İncelenmesi. *Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences.*, 23, (3), 467-474.
- Avery, S. M. and Buncic, S. 1997, Antilisterial effects of a sorbate - nisin combination in vitro and on packaged beef at refrigeration temparature. *J. Food Prot.*, 60, 1075 - 1080.
- Aymerich, T., Artigas, M.G., Garriga, M., Monfort, J. M. and Hugas, M. 2000, Effect of sausage ingredients and additives on the production of enterocins A and B by *Enterococcus faecium* CTC492. Optimization of in vitro production and anti-listerial effect in dry fermented sausages. *J. Appl. Microbiol.*, 88, 686-694.
- Bar, N. An, Harris, N. A. and Rill, R. L. 1987, Purification and properties of an antimicrobial substance produced by *Lactobacillus bulgaricus*. *J. Food Sci.*, 52, (2), 411 - 415.
- Bell, R. G. and De lacy K. M. 1986, Factors influencing the determination of nisin in meat products. *J. Food Technol.*, 21, 1 - 7.
- Berry, E. D., Liewen, M. B., Mandigo, R. W. and Hutkins, R. W. 1990, Inhibition of *Listeria monocytogenes* by bacteriocin producing *Pediococcus* during the manufacture of fermented semidry sausage. *J. Food Prot.*, 53, 194-197

- Berry, E. D., Hutkins, R. W. and Mandigo, R. W. 1991, The use of bacteriocin-producing *Pediococcus acidilactisi* to control postprocessing *Listeria monocytogenes* contamination of frankfurters. J. Food Prot., 54, 681-686.
- Bhunia, A. K., Johnson, M.C. and Ray, B. 1988,. Purification, characterization and antimicrobial specturum of a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici*. J. Appl. Bacteriol., 65, 261 - 268.
- Bhunia, A. K., Johnson, M. C., Ray, B. and Kalchayanand, N. 1991, Mode of action of pediocin AcH from *Pediococcus acidilactici* H on sensitive bacterial strains. J. Appl. Bacteriol., 70, 25-33.
- Bhunia, A. K. and Johnson, M.G. 1992,. Monoclonal anti-body-colony immunoblot method spesific for isolation of *Pediococcus acidilactici* from foods and correlation with pediocin(bacteriocin) production. Appl. Environ. Microbiol., 58, 2315 - 2320.
- Bredholt, S. Nesbakken, T. and Holck, A. 1999, Pprotective cultures inhibition growth of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157: H7 in cooked, sliced, vacuumm - and gas - packeged meat. Int. J. Food Microbiol., 53, 43-42.
- Broughton, J. D. 1990, Nisin and its uses as a food presevative. Food Technol., November 1990, 100 - 117.
- Bruno, M. E. C., Kaiser, A. and Montville, T. J. 1992, Depletion of protein motive force by nisin in *Listeria monocytogenes* cells. Appl. Environ. Microbiol., 58, 2255 - 2259.
- Caplice, E. and Fitzgerald, G. F. 1999, Food fermentations:role of microorganisms in production and preservation. Int. J. Food Microbiol., 50, 131 - 149.
- Carolissen - Mackay, V., Arendse, G. and Hastings, J. W. 1997, Purification of bacteriocins lactic acid bacteria: problems and pointers. Int. J. Food Microbiol., 34, 1 - 16.
- Chateau, N., Castellanos, I. and Deschamp, A. M. 1993, Distribution of pathogenes inhibition in the *Lactobacillus* isolates of a commercial probiotic consortium. J. Appl. Bacteriol., 74, 36 - 40.
- Chung, K. T., Dickson, J. S. and Crouse, J. D., 1989, Effects of nisin on growth of bacteria attached to meat. Appl. Environ. Microbiol., 1329 - 1333.
- Çon, A. H. and Gökalp, H. Y. 2000, Production of bacteriocin - like metabolites by lactic acid cultures isolated from sucuk samples. Meat Sci., 55, 89 - 96.

- De Saad, A. M. S. and De Nadra M. C. M., 1993, Characterization of bacteriocin produced by *Pediococcus pentosaceus* from wine. J. Appl. Bacteriol., 74, 406 - 410.
- De Vos, W. M., Mulders, J. W. M., Siezen, R. J., Hugenholtz, J. and Kuipers, O.P., 1993, Properties of nisin Z and distribution of its gene, nis Z, in *Lactococcus lactis* Appl. Environ. Microbiol., 59, 213 - 218.
- Degnan, A. J. and Luchansky, J. B., 1992, Influence of beef tallow and muscle on the antilisterial activity of pediocin AcH and liposome - encapsulated pediocin AcH. J. Food Prot., 55, 552 - 554.
- Degnan, A. J., Yousef, A. E., Luchansky, J. B., 1992, Use of *Pediococcus acidilactici* to control *Listeria monocytogenes* in temperature - abused vacuum - packaged wieners. J. Food Prot., 55, 98 - 103.
- DeMartinis, E. C. P. and Franco, D. G. M., 1998, Inhibition of *Listeria monocytogenes* in a pork product by a *Lactobacillus sake* strain. International J. Food Microbiol., 42, 119-126.
- Eckner, K. F., 1992, Bacteriocins and food applications. Dairy, Food Environ. Sanit., 12, 204 - 209.
- El-Khateib, T., Yousef, A. E. and Ockerman, H. W., 1993, Inactivation and attachment of *Listeria monocytogenes* on beef muscle treated with lactic acid and selected bacteriocins. J. Food Prot., 56, 29 - 33.
- Enan, G., El-Essawy, A. A., Uyttendaele, M. and Debevere, J., 1996, Antibacterial activity of *Lactobacillus plantarum* UG1 isolated from dry sausage: characterization production and bactericidal action of plantaricin UG1. International J. Food Microbiol., 30, 189 - 215.
- Enhanner, S., Sashihara, T., Sonomoto, K., Ishizaki, A., 2000, Class IIa bacteriocins: biosynthesis, structure and activity. FEMS Microbiol. Rev., 24, 85 - 106.
- Erol, I. Und Hildebrandt, G., 1992, Einfluss von Starterkulturen auf das Wachstum pathogener Keime in türkischer Rohwurst. Fleischwirtsch., 72, (1), 90 - 97.
- Garver, K. I. and Muriana, P. M., 1994, Purification and partial amino acid sequence of curvaticin FS47, a heat stable bacteriocin produced by *Lactobacillus curvatus* FS47. Appl. Environ. Microbiol., 60, 2191 - 2195.

- Gänzle, M. G., Hertel, C. and Hammes, W. P., 1996, Modellhafte beschreibung des effektes von sakacin P auf *Listeria ivanovii* DSM 20750 in abhängigkeitevon pH - wert, NaCl und nitritkonzentrotion. *Fleischwirtsch.*, 76, (4), 409 - 412.
- Gänzle, M.G., Weber, S., Hammes, W.P., 1999, Effect of ecological factors on the inhibitory specturum and activity of bacteriocins. *Int. J. Food Microbiol.*, 46, 207 - 217.
- Garriga, M., Hugas, M., Aymerich, T. and Monfort, J. M., 1993, Bacteriocinogenic activity of lactobacilli from fermented sausages. *J. Appl. Bacteriol.*, 75, 142 - 148.
- Geis, A., Sing, S. and Teuber, M., 1983, Potential of lactic streptococci to produce bacteriocin. *Appl. Environ. Microbiol.*, 45, (1), 205 - 211.
- Geisen, R., Friedrich, K., Kröckel, L., 1992, Starter and protective cultures for meat and meat products . *Fleischwirtsch.*, 72, 894 - 898.
- Geisen, R. and Holzapfel, W. H., 1996, Genetically modified starter and protective cultures. *Int. J. Food Microbiol.*, 30, 315 - 324.
- Gill, A. Q. and Holley, R. A., 2000, Surface application of lysozyme, nisin and EDTA to inhibit spoliage and pathogenic bacteria on ham and bologna. *J. Food Prot.*, 63, (10), 1338 - 1346.
- Gökalp, H.Y., Kaya, M. Ve Zorba, Ö., 2001, Et Ürünleri İşleme Mühendisliği. Atatürk Üniv. Yay. No: 786, Ziraat Fak. Yayın No: 320, Ders Kitapları Serisi No: 70, Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Ofset Tesisi,Erzurum.
- Gürsel, A., 1999, Laktik ve propiyonik asit bakterileri tarafından üretilen bakteriyosinler ve süt teknolojisi alanında uygulamaları. *Gıda* 24, (6), 399 - 410.
- Güven, M., 1998, Antimikrobiyel maddeler ve süt teknolojisinde kullanım olanakları. *Gıda* 23, (5), 365 - 369.
- Hague, M. A., Kastner, C. L., Fung, D. Y. C., Karim, K. and Schwenke, J. R., 1997, Use of nisin and microwave treatment reduces *Clostridium sporogenes* outgrowth in precooked vacuum - packaged beef. *J. Food Prot.*, 60, 1072 - 1074.
- Hammes, W. P. and Hertel, C., 1998, New developments in meat starter cultures. *Meat Sci.*, 49, 125 - 138.

- Hanlin, M. B., Kalchayanand, N., Ray, P. and Ray, B., 1993, Bacteriocins of lactic acid bacteria in combination have greater antibacterial activity. *J. Food Prot.*, 56, 252 - 255.
- Harris, L. J., Daeschel, M. A., Stiles, M. E. and Klaenhammer, T. R., 1989, Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes*. *J. Food Prot.*, 52, 384 - 387.
- Harris, L. J., Fleming, H. P. and Klaenhammer, T. R., 1991, Sensitivity and resistance of *Listeria monocytogenes* ATCC19115 ScottA and UAL500 to nisin. *J. Food Prot.*, 54, 836 - 840.
- Hastings, J. W. and Stiles, M. E., 1991, Antibiosis of *Leuconostoc gelidum* isolated from meat. *J. Appl. Bact.*, 70, 127 - 134.
- Helander, I. M.; von Wright, A. and Mattila - Sandholm, T - M., 1997, Potential of lactic acid bacteria and novel antimicrobials against gram - negative bacteria. *Tren. Food Sci. Technol.*, 8, 146 - 150.
- Hillier, A. and Davidson, B. E., 1991, Bacteriocins as food preservatives. *Food Research Quarterly* 51, 60 - 63.
- Holo, H., Nilssen, Q. and Nes, I., 1991, Lactocaccin A, a new bacteriocin from *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*: isolation and characterization of the protein and its gene. *J. Bacteriol.*, 173, 3879 - 3887.
- Holzapfel, W. H., Geisen, R and Schillinger, U., 1995, Biological preservation of foods with reference to protective cultures, bacteriocins and food - grade enzymes. *Int. J. Food Microbiol.* 24, 343 - 362.
- Hoover, D. G., Walsh, P. M., Kolaetis, K. M., Daly, M. M., 1988, A bacteriocin produced by *Pediococcus* species associated with a 5,5 - megadalton plasmid. *J. Food Prot.* 51, (1), 29 - 31.
- Hugas, M. and Monfort, J. M., 1997, Bacterial starter cultures for meat fermentation. *Food Chemistry* 59, (4), 547 - 554.
- Hugas, M., 1998, Bacteriocinogenic lactic acid bacteria for the biopreservation of meat and meat products. *Meat Sci.*, 49, 139 - 150.
- Juven, B. J., Meinersmann, R. J. and Stern, N. J., 1991, Antagonistic effects of lactobacilli and pediococci to control intestinal colonization of human enteropathogens in live poultry. *J. Appl. Bacteriol.*, 70, 95 - 103.

- Juven, B. J., Barefoot, S. F., Pierson, M. D., McCaskill, L. H. and Smith, B., 1998, Growth and survival of *Listeria monocytogenes* in vacuum - packaged ground beef inoculated with *Lactobacillus alimentarius* FloraCarn L - 2. J. Food Prot., 61, (5), 551 - 556.
- Kalmokoff, M. L., Daley, E., Austin, J. W. and Farber, J. M., 1999, Bacteriocin - like inhibitory activities among various species of *Listeria*. Int. J. Food Microbiol., 50, 191 - 201.
- Kaya, M. ve Gökalp, H. Y., 1991, Bazı Et Ürünlerinde *Listeria monocytogenes*'in aranması, karakterizasyonu ve kontrolü üzerine araştırmalar. Bursa 2. Uluslararası Gıda Sempozyumu 1 - 3 Ekim 1991, Bursa, 168 - 178 .
- Kaya, M., 1993, Sucuk üretim teknolojisinde değişik nitrit dozlarının ve farklı starter kültür kullanımının *Listeria monocytogenes*'in çoğalımı üzerine etkisi ve sucuğun diğer bazı kalitatif kriterleri. (Doktora tezi) Atatürk Üni. Fen Bil. Ens. Gıda Bil. ve Tek. Anabilim Dalı, Erzurum.
- Kelly, W. J., Asmundson, R. V. and Huang, C. M., 1996, Isolation and characterization of bacteriocin - producing lactic acid bacteria from ready - to - eat products. Int. J. Microbiol., 33, 209 - 218.
- Kim, W. J., 1993, Bacteriocins of lactic acid bacteria: their potentials as food biopreservative. Food Rev. Int., 9, (2), 299 - 313.
- Klaenhammer, T. D., 1988, Bacteriocins of lactic acid bacteria. Biochimie 70: 337- 349.
- Klaenhammer, T. D., 1993, Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. FEMS Microbiol. Rev. 12, 39 - 86.
- Knudtson, L. M. and Hartman, P. A., 1993, Comparison of fluorescent gentamicin - thallos - carbonate and KF streptococcal agars to enumerate Enterococci and fecal Stereptococci in meats. Appl. Environ. Microbiol., 59, 936 - 938.
- Kojic, M., Svircevic, J., Banina, A. and Topisirovic, L., 1991, Bacteriocin - producing strain of *Lactococcus lactis* subsp. *diacetilactis* S50. Appl. Environ. Microbiol., 57, 1835 - 1837.
- Kotzekidou, P. and Bloukas, J. G., 1995, Effect of protective cultures and packaging film permeability on shelf - life of sliced vacuum - packed cooked ham. Meat Sci., 42, (3), 333 - 345.

- Kröckel, L., 1997, Use of sakacin P and *Lactobacillus sake* LB674 to suppress growth of *Listeria monocytogenes* in vacuum - packaged sliced bologna - type sausage. Proceed. LACTIC97, p. 201. Caen, France.
- Lewus, C. B., Kaiser, A., and Montville, T. J., 1991, Inhibition for food – borne bacterial pathogens by bacteriocins from lactic acid bacteria isolated from meat. Appl. Environ. Microbiol., 57, 1683 - 1688.
- Lopez-Lara, Galvez, A., Mortina-Bueno, M., Maquede, M. And Valdivia, E. 1991. Purification, charecterization and biological effects of a second bacteriocin from *Enterococcus faecalis* spp. *liquifaciens* S- 48 and its mutant strain B-48-28. Can. J. Microbiol. 37:769-774.
- Luchansky, J. B., Glass, K. A., Harsano, K. D., Degran, A. J., Faith, N. G., Cauvin, B., Baccus - Taylor, G., Arihara, K., Bater, B., Maurer, A. J., and Cassens, R. G., 1992, Genomic analysis of *Pediococcus* starter cultures used to control *Listeria monocytogenes* in Turkey summer sausage. Appl. Environ. Microbiol., 58, (9), 3053 - 3059.
- Lücke, F. K., 2000, Utilization of microbes to process and preserve meat. Meat Sci. 56, 105 - 115.
- Manca de Nadra, M. C., Sandino de Lamelas, D. and Strasser de Saad, A. M., 1998, Pediocin N5p from *Pediococcus pentosaceus*: adsorption on bacterial strain. Int. J. Food Microbiol., 39, 79 - 85.
- Martinis, E. C. P., Crandal, A. D., Mazzotta, A. S. and Montville, T. J., 1997, Influence of pH, salt and temperature on nisin resistance in *Listeria monocytogenes*. J. Food Prot. 60, (4), 420 - 423.
- Mathieu, F., Suwandhi, I. S., Rekhif, N., Milliere, J. B. and Lefebvre, G., 1993, Mesenterocin 52 a bacteriocin produced by *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *mesenteroides* FR 52. J. Appl. Bacteriol., 74, 372 - 379.
- Mckay, A. M., 1990, Antimicrobial activity of *Enterococcus faecium* against *Listeria* spp. Let. Appl. Microbiol., 11, 15 - 17.
- Messi, P., Bondi, M., Sabia, C., Battini, R. and Manicardi, G., 2001, Detection and preliminary characterization of a bacteriocin (plantaricin 35d) produced by a *Lactobacillus plantarum* strain. Int. J. Food Microbiol., 64, 193 - 198.
- Metz, M., 1993, Starter cultures. Their industirial manufacture for the meat industry. Fleishchwirtsch., 73, (12), 1394 - 1396.

- Ming, X., Weber, G. H., Ayres, A. W., and Sandine, W. E., 1997, Bacteriocins applied to food packaging materials to inhibit *Listeria monocytogenes* on meats. J. Food Sci., 62, 413 - 415.
- Montville, T., Rogers, A. and Okereke, A., 1992, Differential sensitivity of *Clostridium botulinum* strain to nisin is not biotype - associated. J. Food Prot., 55, 444 - 448.
- Mortvedt, C. I., Meyer - Nissen, J., Sletten, K. and Nes, I. F., 1991, Purification and amino acid sequence of lactocin S a bacteriocin produced by *Lactobacillus sake* L45. Appl. Environ. Microbiol., 57, 1829 - 1834.
- Motlagh, A. M., Johnson, M. C. and Ray, B., 1991, Viability loss of food - borne pathogens by starter culture metabolites. J. Food Prot., 54, 873 - 878, 884.
- Motlagh, A. M., Holla, S., Johnson, M. C., Ray, B. and Field, R. A., 1992, Inhibition of *Listeria* spp. in sterile food systems by pediocin AcH, a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactisi* H. J. Food Prot., 55, (5), 337 - 343.
- Nettles, C. G. and Barefoot, S. F., 1993, Biochemical and genetic characteristics of bacteriocins of food - associated lactic acid bacteria. J. Food Prot., 56, (4), 338 - 356.
- Nielsen, J. W., Dickson, J. S. and Crouse, J. D., 1990, Use of a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici* to inhibit *Listeria monocytogenes* associated with fresh meat. Appl. Environ. Microbiol., 56, 2142 - 2145.
- Nielsen, T., Nes, I. F. and Holo, H., 1998, An exported inducer peptide regulates bacteriocin production in *Enterococcus faecium* CTC492. J. Bacteriol. 180, (7), 1848 - 1854.
- Ohmomo, S., Murata, S., Katayama, N., Nitisinprasart, S., Kobayashi, M., Nakajima, T., Yajima, M. and Nakanishi, K., 2000, Purification and some characteristics of enterocin ON-157, a bacteriocin produced by *Enterococcus faecium* NIAI 157. J. Appl. Microbiol., 88, 81 - 89.
- Okereke, A. and Montville, T. J., 1991, Bacteriocin inhibition of *Clostridium botulinum* spores by lactic acid bacteria. J. Food Prot., 54, 349 - 353.
- Parente, E. and Hill, C., 1992, A comparison of factors affecting the production of two bacteriocins from lactic acid bacteria. J. Appl. Bacteriol., 73, 290 - 298.
- Piard, J. C., Muriana, P. N., Desmazeaud, M. J. and Klaenhammer, T. R., 1992, Purification and partial characterization of lactacin 481, a lanthionine containing

- bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* CNRZ 481. Appl. Environ. Microbiol. 58, 279 - 284 .
- Rodriguez, J. L., Gaya, P., Medina, M. and Nunez, M., 1997, Bactericidal effect of enterocin 4 on *Listeria monocytogenes* in a model dairy system. J. Food Prot. 60, (1), 28 - 32.
- Scannell, A. G. M., Schwarz, G., Hill, C., Ross, R. P. and Arendt, E. K., 2001, Pre-inoculation enrichment procedure enhance the performance of bacteriocinogenic *Lactococcus lactis* meat and meat starter culture. Int. J. Food Microbiol., 64, 151 - 159.
- Schillinger, U. und Lücke, F. K., 1988, Hemmung des Salmonellenwachstums in frischer, streichfähiger Mettwurst. Fleischwirtsch., 68, 1056-1067.
- Schillinger, U. and Lücke, F. K., 1989, Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. Appl. Environ. Microbiol., 55, 1901 - 1906.
- Schillinger, U., 1990, Bacteriocins of lactic acid bacteria. pp 56 - 73. In Biotechnology and Food Safety Shain – Docok (Ed), Butterworths, London.
- Schillinger, U., Kaya, M. and Lücke, F. K., 1991, Behavior of *Listeria monocytogenes* in meat and its control by a bacteriocin - producing strain *Lactobacillus sake*. J. Appl. Bact., 70, 473 - 478.
- Schillinger, U., Geisen, R. and Holzapfel, W. H., 1996, Potential of antagonistic microorganisms and bacteriocins for the biological preservation of foods. Tren. Food Sci. and Technol., 7, 158 - 164.
- Schillinger, U. and Holzapfel, W. H., 1996, Guidelines for manuscripts on bacteriocins of lactic acid bacteria. Int. J. Food Microbiol., 33, 3 - 5.
- Siragasu, G. R., 1992, Production of bacteriocin inhibitory to *Listeria* species by *Enterococcus hirae*. Appl. Environ. Microbiol., 58, (11), 3508 - 3513.
- Skyttä, E., Haikara, A. and Mattila - Sandholm, T., 1993, Production and characterization of antibacterial compounds produced by *Pediococcus damnosus* and *Pediococcus pentosaceus*. J. Appl. Bacteriol., 74, 134 - 142.
- Smith, J. L. and Palumbo, S. A., 1983, Use of starter cultures in meats. J. Food Prot., 46, (11), 997 - 1006.
- Song, H. J. and Richard, J., 1997, Antilisterial activity of three bacteriocins used at minimal inhibitory concentrations and cross - resistance of the survivors. Int. J. Food Microbiol., 36, 155 - 161.

- Spelhaug, S. R. and Harlender, S. K., 1989, Inhibition of food - borne bacterial pathogens by bacteriocins from *Lactococcus lactis* and *Pediococcus pentosaceus*. J. Food Prot., 52, 856 - 862.
- Stiles, M. E., 1996, Biopreservation by lactic acid bacteria. Ant. van Leeuw., 70, 331 - 345.
- Stoffels, G., Nes, I. F. and Guomundsdottir, A., 1992, Isolation and properties of a bacteriocin - producing *Carnobacterium piscicola* isolated from fish. J. Appl. Bacteriol., 73, 309 - 316.
- Tagg, J. R., Dajani, A. S. and Wannamaker, L. W., 1976, Bacteriocins of gram - positive bacteria. Bacteriol Rev. 40, 722 - 756.
- Taylor, L. Y., Cann, D. D and Welch, B. J., 1990, Antibotulinal properties of nisin in fresh fish packaged in an atmosphere of carbon dioxide. J. Food Prot., 53, 953 - 957.
- Tichaczek, P. S., Vogel, R. F. and Hammes, W. P., 1994, Cloning and squence of sakP encoding sakacin P, the bacteriocin produced by *Lactobacillus sake* LTH673. Microbiolgy. 140, 361 - 367.
- Tramer, J. and Fowler, G. G., 1964, Estimation of nisin in foods. J. Sci. Fd. Agric. 15, 522-528.
- Turantaş, F. ve Ünlütürk, A., 1991, Türk sucuğunda starter kültür kullanımının *Staphylococcus aureus* ve *Salmonella typhimurium* 'un gelişmesine etkisi. 7. Kükem Kongresi, 16 - 18 Eylül, Adana, Kükem Dergisi, 14, (2), 92 - 93.
- Ukuku, D. O. and Shelef, A. L., 1997, Sensitivity of six strains of *Listeria monocytogenes* to nisin. J. Food Prot., 60, (7), 867 - 869.
- Vanderbergh, P. A., 1993, Lactic acid bacteria, their metabolic products and interference with microbial growth. FEMS Microbiol. Rev., 12, 221 - 238.
- Villani, F., Salzano, G., Sarretino, E., Pepe, O., Marino, P. and Coppola, S., 1993, Enterocin 226 NCW, a bacteriocin produced by *Enterococcus faecalis* 226, active against *Listeri monocytogenes*. J. Appl. Bacteriol., 74, 380 - 387.
- Yildirim, Z. and Johnson, M. G., 1998, Detection and characterization of a bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* R isolated from radish. Lett. Appl. Microbiol., 26, 297 - 304.

- Yıldırım, Z. ve Yıldırım, M., 2000, Laktik asit bakterileri tarafından üretilen bakteriyosinlerin genel karakteristikleri. Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri, VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyum Tebliğler Kitabı, 247 - 253.
- Yıldırım, Z., Yıldırım, M., Winters, D. K. and Johnson, M. G., 2000, Purification and determination of amino acid sequence of lactococcin R produced by *Lactococcus lactis* R. Biyoteknoloji (kükem) Dergisi 24, (2), 21 - 27.
- Yıldırım, M., 2001, Purification of buchnericin LB produced by *Lactobacillus buchneri* LB. Türk J. Biol. 25, 59 - 65.
- Yıldırım, Z. and Yıldırım, M., 2001, Characterization of buchnericin LB produced by *Lactobacillus buchneri* LB. Turk J. Biol., 25, 73 - 82.
- Yousef, A. E., Luchansky, J. B., Degnan, A. J. and Doyle, M. P., 1991, Behavior of *Listeria monocytogenes* in wiener exudates in the presence of *Pediococcus acidilactisi* H or pediocin AcH during storage at 4 or 25°C. Appl. Environ. Microbiol., 57, 1461 - 1467.
- Zamfir, M., Callewaert, R., Cornea, P. C., Savu, L., Vatafu, I. and De Vuyst, L., 1999, Purification and characterization of a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus* IBB 801. J. Appl. Microbiol., 87, 923 - 931.
- Zhu, W. M., Liu, W and Wu, D. Q., 2000, Isolation and characterization of a new bacteriocin from *Lactobacillus gasseri* KT7. J. Appl. Microbiol., 88, 877 - 886.

TC MİLLÎ EĞİTİM BAKANLIĞI
T.C. MİLLÎ EĞİTİM KURULU
DOKÜMANİSYON BAKANLIĞI