

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Nurten TOY

**LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ SERBEST HÜCRE EKSTRAKTLARININ
PATOJEN BAKTERİLERİN GELİŞİMİNE VE BİYOJENİK AMİN
ÜRETİMİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

SU ÜRÜNLERİ AVLAMA VE İŞLEME TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2010

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ SERBEST HÜCRE EKSTRAKTLARININ
PATOJEN BAKTERİLERİN GELİŞİMİNE VE BİYOJENİK AMİN
ÜRETİMİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Nurten TOY

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SU ÜRÜNLERİ AVLAMA VE İŞLEME TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

Bu tez 30/12/2010. Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği İle Kabul Edilmiştir.

.....
Doç. Dr. Yeşim ÖZÖĞÜL
DANIŞMAN

.....
Doç. Dr. Fatih ÖZÖĞÜL
ÜYE

.....
Yrd. Doç. Dr. İsmail AKYOL
ÜYE

Bu tez Enstitümüz Su Ürünleri Avlama Ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

**Prof. Dr. İlhami YEĞİNGİL
Enstitü Müdürü**

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

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ SERBEST HÜCRE EKSTRAKTLARININ
PATOJENİK BAKTERİLERİN GELİŞİMİNE VE BİYOJENİK AMİN
ÜRETİMİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Nurten TOY

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

SU ÜRÜNLERİ AVLAMA VE İŞLEME TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

Danışman: Doç. Dr. Yeşim ÖZOĞUL

Yıl: 2010, Sayfa:100

Jüri : Doç. Dr. Yeşim ÖZOĞUL

Doç. Dr. Fatih ÖZOĞUL

Yrd. Doç. Dr. İsmail AKYOL

Bu çalışmada, laktik asit bakterilerinden (LAB) elde edilen serbest hücre (SH) ekstraktının patojen mikroorganizmaların (PB) gelişimi ve iki farklı amino asit (histidin ve tirozin) sıvı besiyerinde amonyak ve biyojenik amin (BA) üretimi üzerindeki etkileri belirlenmiştir. SH ekstraktlarının antimikrobiyal etkisi agar difüzyon yöntemi kullanılarak test edilmiştir. Bu çalışmada 4 adet LAB üyesi (*Leuconostoc mesenterodius* subsp. *cremoris*, *Pediococcus acidophilus*, *Lc. lactis* subsp. *lactis*, *Streptococcus thermophilus*) ve 4 adet patojen suşu (*Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, ve *Salmonella paratyphi* A) kullanılmıştır. Bu çalışma sonucunda, SH ekstraktları bakteri gelişimini önemli düzeyde inhibe etmiştir ($P<0.05$). En yüksek inhibisyon etki *Staph. aureus* için *Strep. thermophilus*'dan ve *S. paratyphi* A için *Leu. mes.* subsp. *cremoris* ve *Lc. lactis* subsp. *lactis* elde edilen SH ekstraktlarından gözlenmiştir (12.33 mm). Bakteriler tarafından üretilen amonyak (AMN) ve BA üretimi bakımından önemli farklılıklar gözlenmiştir ($P<0.05$). Histidin dekarboksil sıvısında (HDS) *S. paratyphi*, *L.monocytogenes*, *Staph.aureus* ve *E.coli* tarafından histamin üretimi sırasıyla 10387.537, 722.01, 7330.66 ve 11163.53 mg/L bulunmuştur. Tirozin dekarboksil sıvısında (TDS) ise bu bakteriler tarafından tiramin üretimi 367.54 ile 5955.86 mg/L arasında değişkenlik göstermiştir. AMN ve BA üretiminde LAB üyelerinden elde edilen SH ekstraktının etkisi kullanılan dekarboksil besiyeri ve bakteri türüne göre değişkenlik göstermesine karşın, SH ekstraktı PB tarafından üretilen AMN ve BA miktarını genellikle önemli düzeyde düşürmüştür ($P<0.05$). Ancak, LAB üyelerinin SH ekstraktının PB tarafından HDS'de tiramin, TDS'da ise dopamin ve serotonin üretiminde artırıcı özellik gösterdiği bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Laktik asit bakterileri serbest hücre ekstraktları, gıda kaynaklı patojenler, biyojenik aminler

ABSTRACT

MSc THESIS

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF CELL FREE EXTRACT FROM LACTIC ACID BACTERIA ON GROWTH AND BIOGENIC AMINE PRODUCTION OF FOOD-BORNE PATHOGENS

Nurten TOY

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF FISH PROCESING TECHNOLOGY

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Yeşim ÖZOĞUL
Year: 2010, Page:100
Jury : Assoc. Prof. Dr. Yeşim ÖZOĞUL
Assoc. Prof. Dr. Fatih ÖZOĞUL
Asst. Prof. Dr. İsmail AKYOL

In this study, the functions of cell free (CF) extract from lactic acid bacteria (LAB) on the growth and biogenic amine (BA) production of food borne pathogens (FBP) in two amino acid (histidine and tyrosine) decarboxylase broth were investigated. The antimicrobial functions of CF extract on the growth of FBP were tested using agar diffusion method. Four LAB (*Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*, *Pediococcus acidophilus*, *Lc. lactis* subsp. *lactis*, *Streptococcus thermophilus* and four pathogenic bacteria strains (*Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Salmonella paratyphi* A) were used. The result of the study showed that CF extract significantly inhibited growth of FBP ($P<0.05$). The highest inhibition effects were found by *Strep. thermophilus* for *Staph. aureus*, by *Leu. mes.* subsp. *cremoris* and *Lc. lactis* subsp. *lactis* for *S. paratyphi* A (12.33 mm inhibition zone diameter). There was significant differences in ammonia and BA production among the bacteria species ($P<0.05$). In histidine decarboxylase broth (HDB), histamine production by *S. paratyphi* A, *L. monocytogenes*, *Staph. aureus* and *E. coli* were 10387.54, 722.01, 7330.66 and 11163.53 mg/L, respectively. In tyrosine decarboxylase broth (TDB), tyramine production by these bacteria ranged from 367.54 to 5955.86 mg/L. CF extract from LAB generally inhibited AMN and BA production by FBP ($P<0.05$), although the functions of CF extract varied depending on not only decarboxylase broth but also bacteria strains. However, CF extract from LAB had stimulation effect on tyramine production in HDB and dopamine and serotonin production in TDB by FBP.

Keywords: Lactic acid bacteria, cell-free extract, Food-borne pathogens, biogenic amines

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen ve Laktik Asit Bakterileri Serbest Hücre Ekstraktlarının Patojen Bakterilerin Gelişimine Ve Biyojenik Amin Üretimine Etkisinin Araştırılması” konulu yüksek lisans tezini veren yapıcı ve yönlendirici fikirleri ile bana daima yol gösteren ve maddi manevi desteklerini esirgemeyen danışman hocalarım Sayın Doç.Dr. Yeşim ÖZOĞUL ve Doç. Dr. Fatih ÖZOĞUL’a sonsuz teşekkürler.

Yüksek lisans tez çalışmam içerisinde yer alan mikrobiyoloji konularında destek ve yardımlarını aldığım Mikrobiyolog Hülya SANKIR’a, laboratuvar uygulamalarında yardımlarını esirgemeyen, Araş.Gör. Esmeray KULEY BOĞA-Ayşe ŞİMŞEK- Yılmaz UÇAR- Mustafa DURMUŞ, doktora öğrencisi Mehmet KENAR yüksek lisans öğrencisi Burhan TUĞYAN- Selma ATAŞ- İlyas ÖZOĞUL ve çalışmamın her anında yanımda bulunan Lisans Öğrencileri Hacer İNAL ile Gülsüm ERDOĞMUŞ’a sonsuz teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında her zaman varlığını hissettiren Ağabeyim Mustafa YILMAZ’ a sabrından dolayı Eşim Deniz TOY’a sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	IX
1.GİRİŞ.....	1
1.1.Biyojenik Aminler.....	1
1.2.Laktik Asit Bakterileri.....	3
1.2.1.Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Özelliği.....	4
1.2.2.Laktik Asit Bakterilerinin Fermantasyondaki Önemi.....	5
1.2.3.Laktik Asit Bakterilerinin Antimikroyal Özelliği.....	6
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	9
2.1.Biyojenik Aminlerin Kaynağı.....	9
2.1.1.Biyojen Amin Çeşitleri ve Oluşum Mekanizması.....	10
2.1.2.Biyojen Aminlerin Gıdalarda Varlığı.....	12
2.1.3.Biyojen Aminlerin Gıdalardaki Önemi ve Toksisitesi.....	13
2.2.Laktik Asit Bakterileri.....	15
2.2.1.Laktik Asit Bakterilerinin Amino Asit Dekarboksilasyonu.....	18
2.2.2.LAB Üyelerinin Antimikrobiyal Özelliği.....	19
2.2.2.1.Organik Asitler.....	21
2.2.2.2.Hidrojen Peroksit.....	22
2.2.2.3.Diasetil.....	23
2.2.2.4.Reuterin.....	23
2.2.2.5Bakteriyosinler.....	24
2.2.3.Laktik Asit Bakterileri Tarafından BA'nın İnhibisyonu.....	25
3. MATERYAL VE METOD.....	29
3.1.Materyal.....	29

3.1.1.Kullanılan Besi Yerleri ve Kimyasallar	29
3.1.2.Mikroorganizmalar	29
3.1.2.1.Gıda Kaynaklı Patojen Bakteriler	29
3.1.2.2.Laktik Asit Bakterileri	29
3.2.2.Metod	30
3.2.1. Bakteri Kültürlerinin Üretilmesi	30
3.2.2. LAB Serbest Hücre Ekstraktının Hazırlanması	30
3.2.3.LAB SH Ekstraktının Patojenler Üzerindeki Antimikrobiyal Etkinin Belirlenmesi.....	32
3.2.3.1.Agar Difüzyon Yöntemi.....	32
3.2.4.Biyojen Amin Analizi	33
3.2.4.1.Aminoasit dekarboksil sıvısı (HDS ve TDS)	33
3.2.4.2.Kontrol grubu	33
3.2.4.3.Muamele grubu.....	34
3.2.4.4.Biyojenik Amin Analizi için Bakteriyel Dekarboksil Sıvısının Ekstraksiyonu	34
3.2.4.5.Biyojenik Amin Analizi İçin Türevlendirme İşlemi.....	34
3.2.4.6.Standart Amin Solüsyonunun Hazırlanması	34
3.2.4.7.Kromatografik koşullar	35
3.2.4.8.Ekipman ve Kolon	35
3.2.5.İstatistiksel Değerlendirme	35
4.BULGULAR VE TARTIŞMA	37
4.1.Laktik Asit Bakterilerinin Patojenler Üzerindeki Antimikrobiyal Etkisi	37
4.2.Bakteriyel Biyojenik Amin Üretimi.....	40
4.2.1.Serbest Hücre Ekstraktlarının Bakteriyel BA Üretimine Etkisi	40
4.2.1.1.Histidin Dekarboksilaz Sıvısında <i>S. paratyphi A</i> ' ın Amonyak ve BA Üretimi	40
4.2.1.2.Tirosin Dekarboksilaz Sıvısında <i>S. paratyphi A</i> ' ın Amonyak ve BA Üretimi	44
4.2.1.3.Histidin Dekarboksilaz Sıvısında <i>L. monocitogenes</i> 'in	

Amonyak ve BA Üretimi	48
4.2.1.4. Tirosin Dekarboksilaz Sıvısında	
<i>Listeria monocytogenes</i> 'in Amonyak ve BA Üretimi	50
4.2.1.5. Histidin Dekarboksilaz Sıvısında <i>Staphylococcus aureus</i> 'un	
Amonyak ve BA Üretimi	53
4.2.1.6. Tirosin Dekarboksilaz Sıvısında <i>Staphylococcus aureus</i> 'un	
Amonyak ve BA Üretimi	56
4.2.1.7. Histidin Dekarboksilaz Sıvısında <i>E.coli</i> 'in Amonyak ve	
BA Üretimi	59
4.2.1.8. Tirosin Dekarboksilaz Sıvısında <i>E.coli</i> 'in Amonyak ve	
BA Üretimi	61
4.3. Patojenlerin Biyojenik Amin Üretme Yeteneklerine Göre	
Sınıflandırılması	64
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	67
5.1. Sonuçlar	67
5.2. Öneriler	68
KAYNAKLAR	71
ÖZGEÇMİŞ	85
EKLER	87

ÇİZELGELER DİZİNİ	SAYFA
Çizelge 2.1 Gıdalardaki bazı biyojen aminler ve farmasotik etkileri	14
Çizelge 4.1 LAB üyeleri Serbest Hücre Ekstraktlarının Patojenlerin Üzerindeki Antimikrobiyal Etkisi	37
Çizelge 4.2. LAB SH ekstraktının <i>S. paratyphi</i> A' nin HDS'de AMN ve BA Üretimi	41
Çizelge 4.3. LAB SH ekstraktının <i>S. paratyphi</i> A' nin TDS'de AMN ve BA Üretimi	45
Çizelge 4.4.LAB SH ekstraktının <i>L. monocytogenes</i> HDS'de AMN ve BA Üretimi	49
Çizelge 4.5.LAB SH ekstraktının <i>L. monocytogenes</i> TDS'de AMN ve BA Üretimi	51
Çizelge 4.6 LAB SH ekstraktının <i>S.aureus</i> 'nin HDS'de AMN ve BA Üretimi	54
Çizelge 4.7. LAB SH ekstraktının <i>S.aureus</i> 'nin TDS'de AMN ve BA Üretimi	57
Çizelge 4.8. LAB SH ekstraktının <i>E.coli</i> 'nin HDS'de AMN ve BA Üretimi	60
Çizelge 4.9. LAB SH ekstraktının <i>E.coli</i> 'nin TDS'de AMN ve BA Üretimi	62
Çizelge 4.10. Histamin üretme Yeteneklerine Göre Sınıflandırılması	64
Çizelge 4.11. Tiramin üretme Yeteneklerine Göre Sınıflandırılması	65

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 1.1.Biyojenik Aminlerin Kimyasal Oluşumu	1
Şekil 2.1.Biyojenik Amin Çeşitleri ve Kimyasal yapıları.....	11
Şekil 2.2.Histamin Oluşum Reaksiyonu	12
Şekil 2.3.Tiramin Oluşumu Reaksiyonu	12
Şekil 2.4.Laktik asit bakterilerinin metabolik yolla laktik asit üretimi	17
Şekil 3.1.LAB üyelerinin MRS broth içerisinde 16 saat inkübasyon sonunda gelişimi	30
Şekil 3.2.MRS broth ta gelişen LAB üyelerinin serbest hücre ekstraktlarının hazırlanması	31
Şekil 3.3:LAB üyelerinin sterilize edilmiş serbest hücre ekstraktları	32
Şekil 3.4.HPLC cihazı	35
Şekil 4.1.Muller-Hilton Agar'da <i>Salmonella pratyphi</i> A'nın laktik asit bakterilerinden elde edilen SH ekstraktı inhibisyon zon görünümü	38
Şekil 4.2.Muller-Hilton Agar'da <i>E.coli</i> 'nin laktik asit bakterilerinden elde edilen SH ekstraktı inhibisyon zon görünümü	39
Şekil 4.3.Muller-Hilton Agar'da <i>Listeria monocytogenes</i> 'in laktik asit bakterilerinden elde edilen SH ekstraktı inhibisyon zon görünümü	40

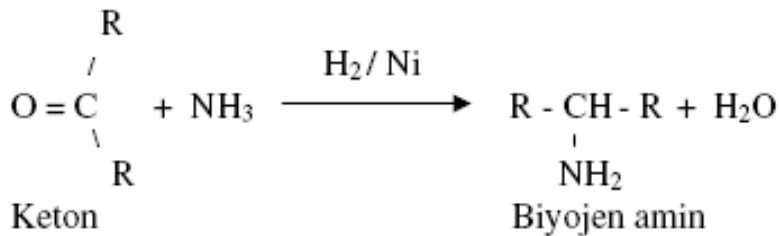
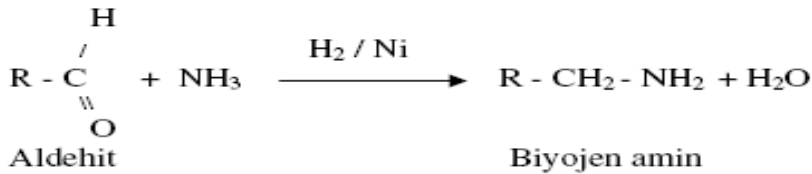
SİMGELER VE KISALTMALAR

LAB	: Laktik Asit Bakterisi
LAB SH	: Laktik Asit Bakterisi Serbest Hücre
BA	: Biyojenik amin
AMN	: Amonyak
PUT	: Putresin
KAD	: Kadaverin
SPD	: Spermidin
TRPT	: Triptamin
PHEN	: 2-Feniletilamin
SPN	: Spermin
HIS	: Histamin
SER	: Seratonin
TYR	: Tiramin
TMA	: Trimetilamin
DOP	: Dopamin
AGM	: Agmatin
HDS	: Histidin aminoasit dekarboksil sıvısı
TDS	: Tirozin aminoasit dekarboksil sıvısı
LAC SHE	: <i>Lc. Lactis</i> subsp. <i>Lactis</i> (IL 1403) ‘dan elde edilen serbest hücre ekstraktı
LEU SHE	: <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>Cremoris</i> (DSMZ 20346) ‘dan elde edilen serbest hücre ekstraktı
PA SHE	: <i>Pediococcus acidophilus</i> (ATCC 25741)’ dan elde edilen serbest hücre ekstraktı
ST SHE	: <i>Streptococcus thermophilus</i> (NCFB2392)’ dan elde edilen serbest hücre ekstraktı
Mg/L	: Miligram/Litre
PB	: Patojen Bakteri

1. GİRİŞ

1.1. Biyojenik Aminler

Biyojenik aminler (BA) başta mikroorganizmalar olmak üzere çeşitli canlıların metabolik ürünleri olup, amonyakta bulunan bir, iki veya üç hidrojen atomunun alkil ve aril grupları ile yer değiştirmesi sonucu oluşan düşük molekül ağırlıklı bazik karakterli bileşiklerdir. Canlı organizmaların aktivitesi sonucu oluştuklarından BA adını almaktadırlar. BA, aminoasitlerin dekarboksilasyonu ya da aldehit ve ketonların aminasyon ve transaminasyonu ile oluşan temel azotlu bileşiklerdir (Hornero ve ark., 1997; Shalaby, 1996; Maijala, 1993; Hernandez ve Jover, 1996).



Şekil1.1. Biyojenik Aminlerin Kimyasal Oluşumu (Shalaby, 1996)

BA'ların insan ve hayvanların biyolojik fonksiyonlarında önemli bir role sahip olmalarının yanında yüksek miktarlarda BA içeren gıdaların tüketimi sonucu toksik etkiler görülebilmektedir. Sadece toksik etkilerden dolayı önemli olmamakta aynı zamanda gıdaların tazelik veya bozulma derecesinin bir göstergesi olarak da kullanılmaktadırlar (Halasz ve ark., 1994). BA'ların kimyasal yapısı alifatik (putresin (PUT), kadaverin (KAD), spermin (SPN) ve spermidin (SPD)), aromatik (tiramin (TYR), feniletılamin (PHEN)) ve heterosiklik (histamin (HİS) ve triptamin (TRPT)) olarak değişiklik göstermektedir (Silla ve Santos, 1996).

Basit alifatik aminler (PUT, KAD, SPN, SPD) en yaygın bulunan aminlerdir. Diamin grubuna giren PUT, poliamin grubuna giren SPD ve SPN hayvan ve bitkilerde sürekli bulunmasına karşın, PUT ve SPD çoğu bakteride bulunmaktadır (Smith, 1980). Bütün organizmalarda, iki veya bir aminopropil grubun ayrılması ile PUT' den daha sonra sırasıyla SPD ve SPN oluşur. Aminoasit dekarboksilasyonu, gıdaların en yaygın sentez modu olup, aromatik aminler bir gıda toksikliği gösterebilmektedir.

BA' lar balık, balık ürünleri, et ürünleri, yumurta, peynir, fermente sebzeler, meyveler, soya ürünleri, bira, şarap, fındık ve çikolata gibi geniş gıda ürünlerinde mevcut olmaktadır (Brink ve ark. 1990; Silla ve Santos, 1996)

BA'lar temelde gıdalardaki aminoasitlerin, belirli bazı mikroorganizmaların dekarboksilaz enzimleriyle dekarboksilasyonu sonucu oluşmaktadır. Farklı bakteri suşlarının biyojen amin ya da amin dekarboksilasyon enzimi ürettiği bilinmektedir. BA oluşumu ortamın pH'sını yükseltmekte bu da mikroorganizmayı asidik ortam etkisinden korumaktadır (Özoğul, 2002; Maijala, 1993).

Laktik asit bakterilerinin bazı türleri dekarboksilaz aktivitesine sahip olup genellikle tiramin üretirler. Micrococcaceae familyası üyeleri de PUT, KAD ve PHEN üretme yeteneğine sahiptir. Bununla birlikte koagülaz negatif *Staphylococcus*' ların güvenli starter kültür olarak kullanılabilereği de belirtilmiştir (Hammes ve ark., 1994).

1.2. Laktik Asit Bakterileri

Laktik asit bakterileri (LAB) gıdaların muhafazasında ve besin değerine katkılarında dolayı yüzyıllardır kullanılagelen, günümüzde de “insan ve hayvan tüketiminde güvenilir” (GRAS) bakteri içerisinde yer alan mikroorganizmalardır. LAB üyelerinin çoğu insan, hayvan, bitki gibi doğal ortamlarda bulunan, bu ortamlardan izole edilebilen, biyoteknolojik çalışmalarda ve endüstriyel birçok alanda kullanılan, insan beslenme ve sağlığında büyük öneme sahip mikrobiyal ajanlardır. Süt, et, balık, tahıl ve sebze gibi çoğu ham materyalin fermantasyonla korunmasında üretilen fermente gıda ve yemlerin organoleptik, reolojik ve besinsel değerine katkıda bulunmada LAB üyeleri aktif rol oynamaktadır (Kılıç, 2001; Furet ve ark., 2004; Leroy ve Vuyts, 2004).

LAB üyeleri, femantasyonunda starter kültür olarak rol aldıkları gıdalarda aroma ve tekstürün oluşmasına katkı sağlamasına rağmen bazı kontrolsüz şartlarda kontamine durumlarda et, balık gibi ürünlerde bozulma reaksiyonlarına neden olabilmektedir. Gıdalarda bazı patojenlerin gelişimini inhibe etme özelliklerinden dolayı insan sağlığı açısından fonksiyonel önem arz etmektedir (Schleifer ve ark., 1995).

LAB üyeleri *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Bifidobacterium*, *Carnobacterium*, *Enterococcus* ve *Sporolactobacillus* olarak sınıflandırılır. Bu LAB üyeleri aynı zamanda fermentasyonda önemli rol oynayan grubu oluşturmaktadır. Günümüzde, gıdalarda sıklıkla kullanılan LAB üyeleri *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* ve *Pediococcus*’ dur (Wood ve Holzapfel, 1995).

Morfolojik olarak farklı özellikler gösterebilirler de tüm LAB üyeleri; gram pozitif olup katalaz negatiftirler. Hareketsiz ve *Sporolactobacillus inulinus* dışında spor oluşturmazlar. Genellikle fakültatif anaerobiktirler. Bu özellikler ile LAB üyeleri doğal çevrede geniş bir alana yayılmış durumdadır. Karbonhidratları fermente ederek laktik asit ağırlıklı son ürünler oluşturmaktadır. Mikroaerofilik metabolizmasıyla; sadece laktik asit üretenler homofermentatif özelliktedir. Laktik asit ile birlikte etil alkol, karbondioksit, asetik asit, format, süksinat oluşturanlar ise

heterofermentatif LAB olarak adlandırılmaktadır (Stiles Holzapfel, 1997; Carr ve ark., 2002; Wright ve Bruce, 2003). Homofermentatif olanlar %85 oranında laktik asit oluştururken, heterofermentatif olanlar %50 oranında laktik asit üretimleri yanında yukarıda bahsedilen diğer bir kısım metabolitleri de meydana getirmektedirler. Fermantasyonla laktik asit eldesinde homofermentatif özellikteki LAB üyeleri kullanılmakta ve dünyada yılda 130.000-150.000 ton laktik asit üretimi gerçekleştirilmektedir (John ve ark., 2007).

1.2.1. Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Özelliği

Probiyotikler, patojen bakterilerin metabolizma veya toksin üretimini değiştirmek ya da canlı hücrelerin sayısını azaltmak gibi etkilere sahiptir. Farklı cinslere ait birçok mikroorganizma probiyotik olarak kullanılmaktadır. Probiyotik olarak kullanılan bakterilerin başında probiyotiklerin büyük çoğunluğunu oluşturan LAB üyeleri özellikle laktobasiller gelmektedir (Daeschel, 1993; Collins ve ark., 1998; Fuller, 1989). Tüketicilerin kimyasal koruyucuları en az içeren güvenli gıdalara ilgi göstermesinin bir sonucu olarak gıdaların LAB üyelerini içeren kültürlerle korunmasına yönelik konular büyük önem kazanmaktadır.

Probiyotikler konakçının bağırsağında mikrobiyal dengeyi ayarlayan yararlı etkilere sahip canlı mikrobiyal gıda katkıları olarak tanımlanmaktadır (Fuller, 1989). Probiyotik bakterilerin büyük bir grubunu LAB üyeleri oluşturmaktadır (Collins ve ark., 1998). Probiyotikler, endüstriyel prosesler için patojenik olmaması, teknolojik olarak uygun asitleştirici, tuza toleranslı olması ve organik asit, hidrojen peroksit ve bakteriyosin (biyolojik olarak aktif proteinler) gibi animikrobiyal ürünler oluşturmasından dolayı önemli olmaktadır (Dunne ve ark., 1999).

Probiyotik bakteriler, istenmeyen mikroorganizmaların çoğalmasını inhibe ederek zararlı enzimlerin oluşmasını engelleme özelliğine sahiptirler (Jay, 1986; Ray, 1990). Probiyotiklerin canlıların bağırsaklarında bulunmaları halinde, bağışıklık sistemini uyardıkları ve kuvvetlendirdikleri bilinmektedir (Mitsuoka, 1990; Ray, 1995). Probiotik grubunda sayılan LAB üyeleri arasında hayvan ve insandan izole edilen türlerin antibiyotiğe karşı dirençli olduğu rapor edilmiştir (Salminen ve ark.,

1998). Probiyotikler bundan dolayı genelde antibiyotiklerin aşırı kullanımı gibi birçok durumda ve bakteriyel enfeksiyonlardan korunma ve tedavisinde antimikrobiyal özelliğinden dolayı kullanılmaktadır.

1.2.2. Laktik Asit Bakterilerinin Fermantasyondaki Önemi

Fermantasyon, gıdaların uzun süre muhafaza edilmesinde kullanılan en eski yöntemlerden birisi olup, gıdaların fermantasyonla koruma geleneği binlerce yıl öncesine dayanmaktadır (Hansen, 2002). Fermantasyon, gıdalarda patojenik flora ve bozulmanın gelişiminin önlenmesinde koruyucu etkiye sahiptir. Ayrıca fermantasyon boyunca oluşan diasetil, asetaldehit gibi istenen aromatik bileşenlerin miktarı kaliteyi etkilemekte, vitaminler, antioksidanlar, biyoaktif peptitlerin oluşumu da sağlığı pozitif yönde etkilemektedir (Ross ve ark., 2002).

Fermente gıda üretiminde LAB üyelerinden en çok; *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Onococcus*, *Tetragenococcus*, *Pediococcus*, *Vagococcus* ve *Weisella* cinsleri kullanılmaktadır. Bunlardan *Lactococcus*; peynir, tereyağı ve ekşi krema üretiminde kullanılmakta ve başka LAB üyeleri ile birlikte faaliyet göstermektedir (Lui ve ark., 2005). *Streptococcus* ve *Lactobacillus* türleri yoğurt, peynir ve fermente sebze ürünleri üretiminde starter kültür olarak kullanılmaktadır (Giraffa, 2003). Sebze, et fermantasyonunda ve sos üretiminde *Pediococcus*'dan yararlanılmaktadır (Li ve ark., 2008). *Leuconostoc*, turşu yapımında yaygın olarak kullanılmaktadır (Eom ve ark., 2007).

Günümüzde fermente gıdalar, süt, et, sebze ve meyve gibi tarımsal ürünlerden elde edilmektedir. LAB üyelerinin en önemli karakteristik özelliklerinden birisi de; süt şekerini kullanarak fermantasyon sonunda laktik asit üretmeleridir (Yaygın ve Kılıç, 1993). Starter kültür olarak kullanılan LAB üyeleri fermente gıda üretiminde, fermantasyon işleminin yönlendirilmesi ve belli bir ivme kazanmasında görev almak üzere, ham gıda materyaline en azından bir mikroorganizmanın çok fazla sayıda hücrelerinin ilave edildiği mikrobiyal bir preparat olarak tanımlanmaktadır. Starter kültür olarak LAB üyeleri ham gıda materyalinin hızlı asitleşmesine neden olan

organik asitleri asıl olarak laktik asidi meydana getirirler. Bununla birlikte asetik asit, etanol, aroma bileşikleri, bakteriyosinler, ekzopolisakkaritler ve önemli bazı enzimleri de üretirler (Leroy ve de Vuyst, 2004). LAB üyeleri bu özelliklerinden dolayı özellikle son 15 yıldır gıda koruyucusu olarak kullanım açısından ilgi odağı olmuştur (Holzapfel ve ark., 1995; Magnusson ve Schnürer, 2001). Ürettikleri antimikrobiyal peptitleri ve koruyucu olarak kullanılabilen organik asitleri nedeni ile LAB ve diğer bakteriler arasındaki etkileşimler, çeşitli gıdaların üretiminde özellikle de fermente gıdalarda ve silaj oluşumunda oldukça geniş bir biçimde araştırılmıştır (Visser ve ark., 1986).

1.2.3. Laktik Asit Bakterilerinin Antimikrobiyal Özelliği

LAB üyeleri, üretmiş oldukları antimikrobiyal maddeler ile gıda patojenlerinin gelişimi ve aktivitesi üzerinde önemli etkiye sahiptir. LAB üyeleri, patojen bakterilerin metabolizma veya toksin üretimini değiştirmek ya da canlı hücrelerin sayısını azaltmak gibi etkilere sahip olduğu için patojenik toksin üretimini azaltmada önemli bir rol üstlenmektedir. Bu nedenle hem gıda korumada hem de patojenik bakterileri engellemede LAB üyeleri kullanımına yönelik çalışmalar artmaktadır (Liao ve ark.,1994; Young ve Ray, 1994; Delves ve Broughton, 1996). Antimikrobiyal koruyucu olarak kullanılan maddelerden birisi de LAB üyeleri tarafından üretilen bakteriyosinlerdir (Tagg ve ark., 1976).

Bakteriyosinler, mikroorganizmalar tarafından, ribozomal olarak sentezlenen, kısmen dar spektrumda bakterisidal aktivite sergileyen, birincil ya da modifiye ekstraselüler aktif proteinlerdir (Lewus ve ark., 1991; Bromberg ve ark., 2004.)

Laktik asit bakterilerinin pek çok üyesinin bakteriyosin ürettiği bilinmektedir. Antibakteriyal etki *Lactobacillus acidophilus* tarafından üretilen acidophilin ve lactocidin, *Lactobacillus plantarum* tarafından üretilen lactolin ya da *Lactococcus lactis* tarafından üretilen nisin gibi antibiyotik ve antibiyotik benzeri maddeler üzerinden tanımlanmıştır. Üretilen bakteriyosinler aracılığıyla bakteriyosinin türüne bağlı olarak özellikle *Staphylococcus aureus*, *Listeria* spp., *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* gibi gıda kökenli patojen bakterileri inhibe

edebilmektedirler. Bununla birlikte bakteriyosinlerin bazı gram negatif bakteriler üzerinde de etkili olduğu bildirilmiştir (Lewus ve ark., 1991; Messi ve ark., 2001). Laktobasiller tarafından üretilen, lactocin 27, lactacin B, helveticin J, plantaricin B ve plantaricin A gibi bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri maddelerle ilgili pek çok araştırma bulunmaktadır (Schillinger ve Lücke, 1989).

LAB tarafından üretilen bakteriyosinler arasında *Lactococcus lactis subsp. lactis* tarafından üretilen nisin en iyi karakterize edilmiş olandır. Nisin geniş spektrumda antimikrobiyal aktiviteye sahip olması, gıda koruyucusu olarak uzun yıllar güvenle kullanılmış olması gibi olumlu özellikleri nedeni ile ticari ve ekonomik anlamda ayrıca önem arz etmektedir. Nisaplin (Nisin A) 1962-1965 yılları arasında geliştirilen, nisinin ilk ticari ekstraktıdır. Nisinin insanlar tarafından tüketiminin güvenli olduğu 1962 yılında yapılan toksite testleri ile gösterilmiştir (Thomas ve Delves, 2005). Günümüzde nisin yanı sıra *Lactobacillus acidophilus* tarafından üretilen acidophilin ve lactocidin, *Lactobacillus plantarum* tarafından üretilen lactocin gibi bakteriyosinler de iyi karakterize edilmiş ve antimikrobiyal özellikleri kesinlik kazanmıştır. Ayrıca son dönemlerde Laktobasiller tarafından üretilen, lactocin 27, lactacin B, helveticin J, plantacin B ve plantaricin A gibi bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri maddelerle ilgili pek çok araştırma bulunmaktadır (Schillinger ve Lücke, 1989).

Günümüzde gıda muhafazasında kullanılan kimyasal maddelerle muamele yöntemleri tüketicilerde alerjik ve toksik reaksiyonlara yol açabilmektedir (Soomro ve ark., 2002). Buna karşın çoğu LAB üyeleri, fermantasyonda starter kültür olarak kullanılması veya ham materyalde doğal olarak bulunması ile koruyucu bir etki göstermektedir (Ammor ve ark., 2008). LAB üyelerinin patojenik mikroorganizmalar tarafından biyojenik amin üretimine inhibitör etkisi hakkında çalışmalar mevcuttur. LAB üyelerinin serbest hücre ekstraktının kullanılarak patojenik mikroorganizmaların biyojenik amin üretimine etkisi konusunda çalışmaya rastlanamamıştır. Bu nedenle bu çalışmada LAB üyelerinden elde edilen serbest hücre ekstraktlarının patojenik bakteri gelişimine ve biyojenik amin üretimine etkisi incelenecektir. Gıda kaynaklı patojen bakterilerin amin üretim kapasitesi LAB

serbest hücre ekstraktıyla engellenmesi sayesinde gıda endüstrisine katkı sağlanarak ve literatürdeki bu eksiklik kısmen giderilmiş olacaktır.

2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1.Biyojenik Aminlerin Kaynağı

BA'lar büyük ölçüde proteince zengin gıdalar ve fermente gıdalarda bulunmaktadır. BA'ların oluşması serbest amino asitlerin varlığı, dekarboksilaz yüksek enzim aktivitesi gösteren mikroorganizmaların ortamda bulunması ve bunların sayısı ile mikroorganizmaların gelişimi ve dekarboksilazların oluşumu için pH ve sıcaklık gibi uygun çevre koşullarının var olmasına bağlıdır (Maijala, 1993, Gökoğlu ve Varlık, 1995).

BA, balık ve balık ürünleri ile pek çok gıda maddesinde doğal olarak bulunmakla birlikte bazı patojen bakterilerin serbest aminoasitleri dekarboksilasyonu sonucu oluşur. BA'lar balık bozulmalarında kimyasal indikatör vazifesi görmeleri ve gıda zehirlenmesi riskinden dolayı önemlidir (Alberto ve ark., 2002). Diğer taraftan barsak florası bakterileri de amino asitleri dekarboksile edip BA'ları oluşturabilmektedir (Gökoğlu ve Varlık, 1995).

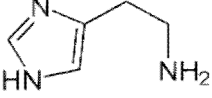
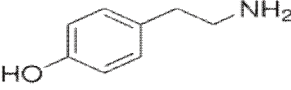



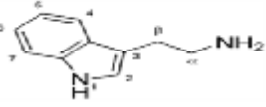

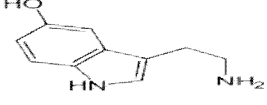
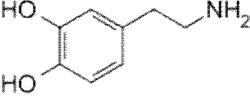
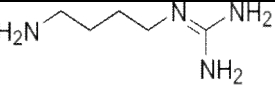
Aminoasit dekarboksilaz enzimi bütün bakterilerde geniş ölçüde bulunmamasına rağmen, *Bacillus*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Shigella* ve *Photobacterium* gibi türlerin yanı sıra *Lactobacillus*, *Lactococcus Leuconostoc*, *Pediococcus* ve *Streptococcus* gibi LAB üyeleri bir veya daha fazla aminoasidi dekarboksile etme yeteneğine sahiptir. Ancak LAB üyeleri aminoasit dekarboksilasyon aktivitesi açısından daha düşük aktiviteye sahiptir (Brink ve ark., 1990; Stratton ve 1991). Scombroid zehirlenmesine dahil edilen balıklarda histamin şekillendiren bakteriler; *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Hafnia alvei* olup, fermente balıkta *Staphylococcus*, *Vibrio* ve *Pseudomonas* histamin dekarboksilaz enzimine sahiptir (Havelka, 1967; Taylor ve ark., 1979; Brink ve ark., 1990; Arnold ve Brown, 1978; Yatsunami ve Echigo, 1993).

2.1.1.Biyojenik Amin Çeşitleri ve Oluşum Mekanizması

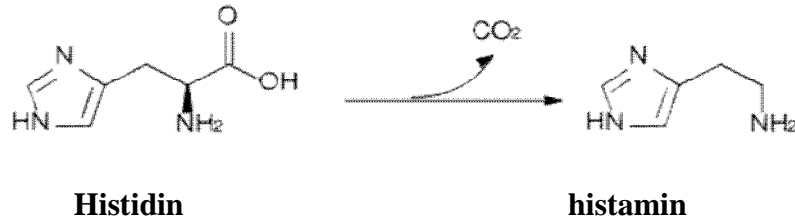
Gıda kalitesi açısından önemli BA'lar, diaminlerden putresin (PUT)ve kadaverin (KAD), poliaminlerden spermin (SPM) ve spermidin (SPD), aromatik aminlerden tiramin (TYR) ve heterosiklik aminlerden triptamin (TRPT), histamin (HİS) ve 2-feniletilamindir (PHEN) (Bodmer ve ark., 1999; Voigt ve Eitenmiller, 1977). PUT, KAD, SPM ve SPD, HİS toksisitesini güçlendirmektedir (Halasz ve ark., 1994; Edwards ve Sandine, 1981; Joosten, 1988).

BA'ler, hayvanlar, bitkiler ve mikroorganizmalarda metabolik işlemler sonucunda miktarları artan, alifatik, alisiklik ve heterosiklik yapılu küçük molekül kütleli organik bazlardır. Bir amino asitten alfa karboksilik grubun ayrılması ile BA oluşumu başlar. Bunların çoğunun adlandırılmasında köken aldığı amino asidin adından yararlanılmaktadır. Monoamin grubunda olan HİS, TYR, TRPT ve PHEN, sırasıyla histidin, tirozin, triptofan ve fenilalaninden meydana gelirler. Daimin olan PUT ve KAD; ornitin ve lizin aminoasidinden oluşurlar. PUT, poliaminler olan SPN ve SPD'nin öncül bileşimidir. Bu aminler, hammaddeye özgü dekarboksilaz aktivitesi sonucunda üretilebildikleri gibi, dekarboksilaz pozitif mikroorganizmaların uygun koşullar altında gerçekleştirdikleri enzim aktivitesi ile de üretilmektedir (Rice ve ark., 1976; Izoquierdo ve ark., 1993)

KAD, PUT, TYR ve HİS, gıdalarda bozulma indikatörü olarak kullanılan BA'lerdir (Bover-Cid ve ark., 1999). HİS, gıdalardaki histidin dekarboksilaz enzimine sahip mikroorganizmaların serbest histidini HİS'e çevirmesi sonucunda oluşmaktadır (Şekil 2.2). HİS, bir yönden gıdalardaki yıkım olaylarının indikatörü olarak diğer yandan da, insanlarda bazı rahatsızlıklara neden olan güçlü biyolojik aktiviteye sahip kimyasal bir ajandır. HİS'i üretmede yetenekli olan bakteri türleri ile diğer aminleri üretmede yetenekli olan bakteri türleri genellikle benzer olmaktadır. Histidin dekarboksilaz enzimine sahip olduğu bilinen bakteri cinsleri *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Escherichia*, *Aerobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Vibrio* ve *Photobacterium*'dur (Lovenberg, 1973; Rodriguez-Jerez,1994).

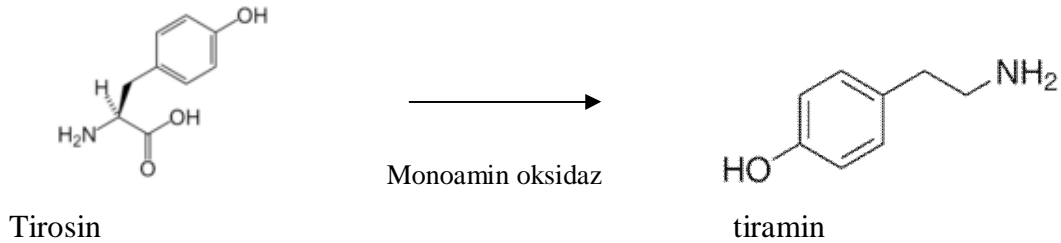
Histamin (HİS)	
Tiramin (TYR)	
Kadaverin (CAD)	
Spermidin (SPD)	
Spermin (SPM)	
Triptamin (TRPT)	
Feniletilamin (PHEN)	
Serotonin (SER)	
Dopamin (DOP)	
Agmatin(AGM)	

Şekil 2.1. Biyojenik Amin Çeşitleri ve Kimyasal yapıları



Şekil 2.2. Histamin oluşum reaksiyonu (Anonim, 2010)

TYR (4-Hydroxyphenethylamine), tirosin amino asitinden oluşan doğal monoamin bileşiktir. Bitkiler ve hayvanlarda yaygın olarak bulunan monoamin oksidaz enzimi tarafından metabolize edilmektedir. Şekil 2.3' te tirosin aminoasitten TYR oluşum reaksiyonu verilmiştir. TYR, gıdalarda fermentasyon veya bozulma sürecinde tirosin aminoasitinin dekarboksilasyonu ile oluşmaktadır. Bekletilmiş veya bozulmuş et ürünlerinde, tütsülenmiş, fermente ve marine edilmiş ürünler (bazı balık, kümes ve sığır etleri), çoğu domuz etlerinde (kürleri), çikolata, alkollü içecekler, peynir çeşitleri, kremler önemli miktarda tiramin içerebilmektedir (Anonim, 2010).



Şekil 2.3. Tiramin oluşumu (Anonim, 2010)

2.1.2. Biyojen Aminlerin Gıdalarda Varlığı

BA üretimi, serbest aminoasit miktarına, aminoasitleri dekarboksile eden mikroorganizmaların varlığına ve miktarına, organizmaların gelişimi için gerekli olan substrata ve organizmaların enzim içeriğine bağlıdır. Balık ve balık ürünlerindeki biyojenik amin konsantrasyonu, insan sağlığı ve ürün kalitesini etkilediğinden dolayı bu değerlerin tespiti büyük bir önem arz etmektedir (Özoğul ve ark., 2004; Çolak ve Aksu, 2002).

Et ve et ürünlerinde bozulmalardan sorumlu maddeler genellikle HİS, TYR, CAD, PUT gibi BA'lar sorumlu tutulmaktadır (Smith ve ark., 1993).

Maijala ve ark. (1993) fermente sucuklar üzerinde gerçekleştirdikleri bir araştırmada; izole edilen *E. faecalis* suşlarının tümünün tiramin üretme yeteneğinde olduğunu, bazı koliform bakteriler ile bu grupta ilgili diğer bazı bakteri izolatlarının (*Serratia liquefaciens*, *K. oxytoca*, *Enterobacter agglomerans* ve *H. alvei*) ise TYR, PUT ve KAD ürettiğini belirtmişlerdir. Sözü edilen bu araştırmada LAB üyeleri izolatlarından hiçbirinin HİS ve TYR üretmediği bildirilmektedir.

BA varlığına şarap ve bira gibi fermente içeceklerde de rastlanmaktadır. HİS, TYR ve CAD'ın birada nispeten yüksek miktarlarda bulunması, bunların bira üretim sürecinde mikrobiyal kontaminasyonun indikatörü olarak değerlendirilmesine neden olmuştur. Bu aminlerin varlığı, laktik asit bakterileri gibi kontamine mikroorganizmaların varlığı ile ilişkilendirilmektedir (Izquierdo-Pulido, 1996).

Bir araştırmada *Morganella morganii* (iki üyesi), *Klebsiella pneumoniae* (üç üyesi), *Hafnia alvei* (iki üyesi), *Enterococcus faecalis*, *Photobacterium phosphoreum*, *Micrococcus* sp., *Psychrobacter immobilis*, *Corynebacterium* spp., *Vibrio fischeri*, *Vibrio harveyi* ve *Pseudomonas putida* bakterilerinin laboratuvar koşullarında AMN ve BA üretim kapasiteleri incelenmiştir (Özoğul ve Özoğul, 2007). *Klebsiella pneumoniae* (8152), *Klebsiella pneumoniae* (673), *Klebsiella pneumoniae* (2122), *Hafnia alvei* (6578), *Hafnia alvei* (11999), *Vibrio fischeri* (25) *Vibrio harveyi* (42) and *Pseudomonas putida* (10936) lizin amino asit sıvı besiyerinde sırasıyla 531, 422, 532, 485, 472, 343, 547 ve 343 mg/L seviyelerinde KAD üretmiştir. *Enterococcus faecalis*'in (775) yüksek kontrasyonlarda TYR (526 mg/L) ürettiği tespit edilmiştir. Arjinin amino asit sıvı besiyerinde *Psychrobacter immobilis*'in (100 mg/L) AGM üretmediği bulunmuştur.

2.1.3. Biyojen Aminlerin Gıdalardaki Önemi ve Toksisitesi

BA gıdalarla alımında yüksek oranlarda tüketilmedikçe veya bireyin doğal katabolizma mekanizması sınırlı veya genetik olarak kusurlu olmadıkça sağlık tehlikesi oluşturmaz. Genellikle biyojenik aminlerin oral idaresi zıt reaksiyonlara

neden olmaz çünkü amin oksidasyonu insan bağırsağında bu bileşikler hızlıca detoksifiye olma özelliğine sahiptir. Ancak amin metabolizma kapasitesi aşırı doyurulduğunda veya metabolik aktivite hasar meydana geldiğinde gıda zehirlenmesi meydana gelebilir (Taylor ve ark., 1978; Rice ve ark., 1986).

PUT ve KAD, histamin zehirlenmesini artırabilir. Ayrıca BA'lar (PUT, CAD, SPD, SPM ve AGM) nitrosaminden nitrit ürettikleri zaman kansorejen potansiyele sahip oldukları bilinmektedir. Aynı zamanda ortamda herhangi bir nedenle aminoksidaz enzim inhibitörlerinin bulunması durumunda BA detoksifikasyonu engellenmekte ve sağlık problemleri ortaya çıkmaktadır (Stratton ve ark., 1991; Shalaby, 1996; Turantaş ve Öksüz, 1998). Çizelge 2.1' de BA'ların vücuttaki farmasötik etkileri açıklanmıştır.

Çizelge 2.1 Gıdalardaki bazı biyojen aminler ve farmasötik etkileri (Shalaby, 1996).

Biyojenik Amin	Farmasötik Etkisi
Histamin	Adrenalin ve noradrenalin miktarını artırır, sensörleri ve motor nöronları uyarır, gastrik asit salgılanmasını kontrol eder.
Tiramin	Kan şekeri seviyesini, solunumu artırır, migrene neden olur, noradrenalin seviyesini artırır, kalp atışlarını hızlandırır.
Putresin ve Kadaverin	Hipotansiyona neden olur, diğer aminlerin toksik etkisini artırır β -Feniletılamin, Fenilalanin, Noradrenalin seviyesinin artmasına neden olur, kan basıncını artırır, migrene neden olur.
β -Feniletılamin	Noradrenalin seviyesinin artmasına neden olur, kan basıncını artırır, migrene neden olur.
Triptamin	Kan basıncını artırır.

En çok rastlanan biyojen amin zehirlenmesi histaminden kaynaklanmaktadır. *Scomberesidae* ve *Scombridae* familyasına dahil olan uskumru, palamut, ton balığı gibi balıkların tüketilmesiyle sıkça görüldüğü için 'histamin zehirlenmesi' veya 'scombroid zehirlenmesi' adını alır. Başta balık olmak üzere özellikle fermente gıdalarda bulunan serbest histidin dekarboksile olarak histamine dönüşmektedir

(Taylor, 1986). Çok sık rastlanan bir diğer BA zehirlenmesi de peynirlerde yaygın olarak bulunabilen TYR'den kaynaklanmaktadır (Halasz ve ark., 1994). Gıdalarda PUT, KAD, SPN ve SPD'nin, histamin toksisitesini güçlendirdiği rapor edilmiştir (Hernandez ve Jover, 1996; Izquierdo ve Pulido, 1996).

Biyojen aminlerin toksisitesi ile ilgili kesin limitler vermek çok zordur. Tüketilen gıdanın çeşidi, miktarı ve amin içeriği gibi faktörler ile inhibitörlerin varlığı biyojenik aminlerin toksisitesi ile ilgili limitlerin belirlenmesini zorlaştırmaktadır. Gıdalarda 500–1000 mg/kg HİS ve 100–800 mg/kg TYR seviyeleri, insan sağlığında potansiyel risk oluşturmaktadır (Brink ve ark., 1990)

Bu limitler şaraplar için 2-10mg/L olarak önerilmektedir. Toksikasyonun başladığı eşik değerleri tiramin için 100-800 mg/kg ve feniletılamin için 30 mg/kg gıda olarak bildirilmektedir. Biralarda tiramin düzeyinin 10 mg/L'den fazla olmasının MAO inhibitörü ilaçlar alan hastalar için güvenli olmadığı belirtilmektedir (Izquierdo-Pulido ve ark., 1996).

Avrupa Birliği (EU), 100 g balık etindeki histamin yasal limitini 10 mg belirtirken, son olarak FDA bu limiti 50 ppm olarak belirlemiştir (FDA, 1996).

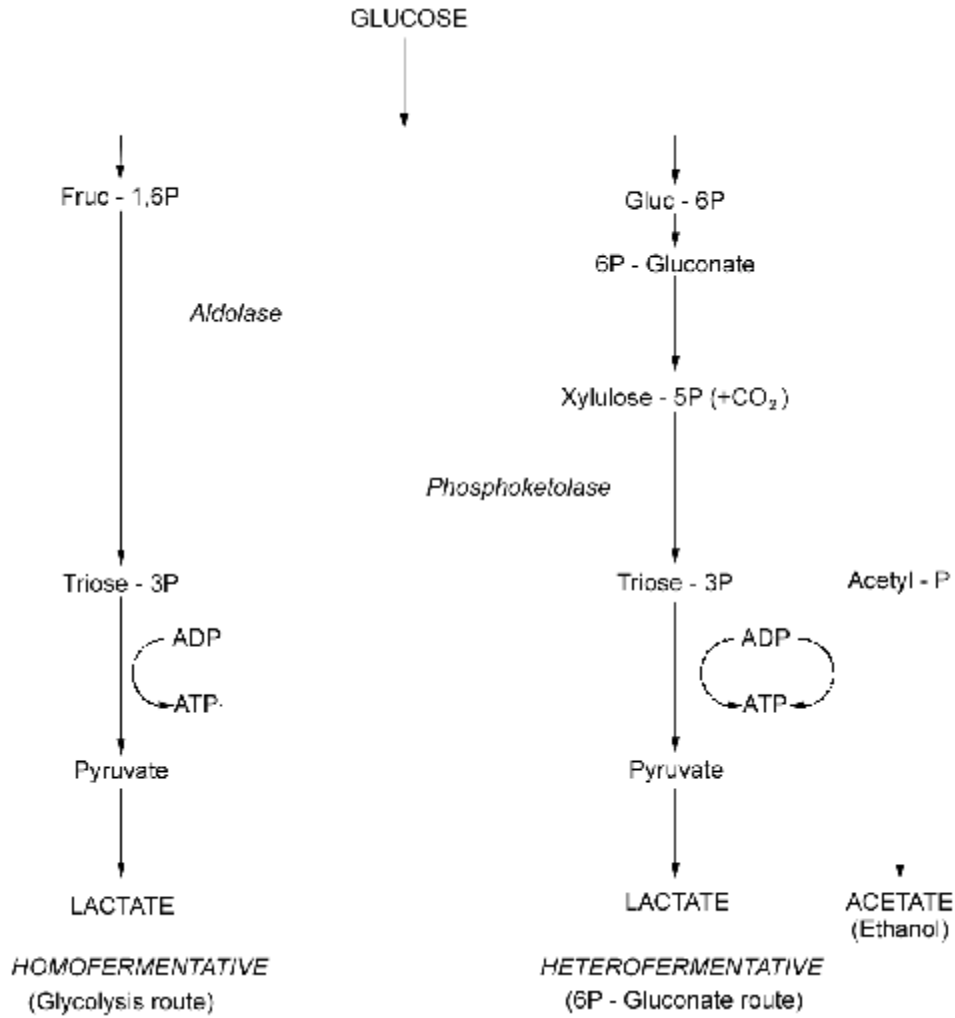
Bazı kaynaklarda insanlarda 8-40 ppm histaminin hafif, 70-1000 ppm histaminin orta, 1500-4000 ppm histaminin ağır zehirlenmelere neden olduğu belirtilirken (Würziger ve Dickhaut, 1978; Sinell, 1978; Schulze ve ark., 1979), bazı kaynaklarda ise 50-100 ppm histaminin hassas yapılı insanlarda hafif, 100-1000 ppm konsantrasyonun ise şiddetli toksik etki gösterdiği belirtilmektedir (Würziger ve Dickhaut, 1978).

2.2.Laktik Asit Bakterileri

Laktik asit bakterileri (LAB), karbonhidrat metabolizmaları sırasında şekeri parçalayarak başlıca laktik asit oluşturan bakteri grubunu temsil etmektedir (Tekinşen ve Atasaran, 1994). Morfolojik olarak farklı özellikler gösterebilirler de tüm LAB üyeleri; gram pozitif olup katalaz negatiftirler. *Sporolactobacillus inulinus* dışında spor oluşturmazlar. Genellikle fakültatif anaerobiktirler. LAB üyeleri *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*,

Bifidobacterium, *Carnobacterium*, *Enterococcus* ve *Sporolactobacillus* 'i içermekte olup fermentasyonda bu LAB üyeleri önemli rol oynamaktadır (Wood ve Holzapfel, 1995). LAB, glukozu fermente etme özelliklerine göre iki ana gruba ayrılmakta ve laktik asit üretimi bakımından homolaktik (yalnız laktik asit üreten) ve heterolaktik (karbondioksit, laktat, asetat, bazı zaman da etenol üreten) olarak tanımlanmaktadır. Homofermentatif laktik asit bakterileri, şekerleri fruktozdifosfat yolu ile fermente ederek %90'dan fazla laktik asit üretmektedir. Heterofermentatif laktik asit bakterileri ise fruktozdifosfat yolunun önemli enzimlerinden olan aldolaz ve triozfosfat izomeraza sahip olmadıklarından dolayı glukozun yıkımı için pentozfosfat yolunu kullanmakta olup, laktik asit yanında farklı ürünler de oluşturabilmektedirler (Schlegen, 1986).

Gıdalarda LAB üyelerinin etkisiyle koruma sağlamak için fermente edilebilir şekerlerin bulunması başarılı bir fermentasyon için önemli ön koşuldur. Şekil 2.1' de glukozdan homolaktik ve heterolaktik yönle laktik asit üretimi tanımlanmıştır.



Şekil.2.4.Laktik asit bakterilerinin metabolik yolla laktik asit üretimi
(Han ve Ching, 1992).

Birçok LAB üyesi karbondioksit, amonyum, ve uçucu yağ asitleri üretimi ile dekarboksilasyon veya deaminasyon yolla aminoasitleri katabolize etme yeteneğine sahiptirler. Dekarboksilasyon, biyojenik amin oluşumuna ve sülfür içeren aminoasitler de hidrojen sülfid oluşumuna neden olabilmektedir (Han-Ching ve ark., 1992).

2.2.1.Laktik Asit Bakterilerinin Amino Asit Dekarboksilasyonu

LAB üyelerinden bazı türler dekarboksilaz aktivitesine sahip olup genellikle TYR oluştururlar (Masson ve ark., 1996).

Kontaminant LAB üyelerinin de fermente sosislerde TYR ve diğer aminlerin oluşumu ile ilişkili oldukları belirtilmektedir (Trevino ve ark., 1997b).

Staphylococcus carnosus ve *Staphylococcus xylosus*'un in vitro TYR üretimlerine rağmen güvenilir starter kültürler olarak kullanılabilceği bildirilmiştir (Mason ve ark., 1996). Birçok araştırmacı, *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus sakei*' nin starter kültür olarak fermente et ürünlerinde kullanılabilceğini bildirmişlerdir (Suzzi ve ark., 2003; Bauer ve ark., 1994).

Fermente sucukların olgunlaşma süresince en önemli LAB üyelerinden olan *Lactobacillus sake* ve *Lactobacillus curvatus*, kontrolsüz fermentasyon uygulanan sucuklardan yaygın olarak izole edilebilmektedir. Fermente sucuklardan izole edilen bazı *L.curvatus* suşlarının HİS ve TYR oluşturduğu belirlenmiştir (Straub, 1994).

Bazı *L. buchneri* suşlarının İsviçre peynirlerinde çok az miktarda olması durumunda bile olgunlaşma döneminde önemli miktarlarda histamin oluşturduğu belirtilmektedir (Stratton ve ark., 1991).

L. buchneri dışındaki bazı LAB üyelerinin de HİS üretme yeteneğinde olduğu belirlenmiştir. İsviçre peynirlerinden izole edilen *Enterococcus faecium*, *Streptococcus mitis*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *L. Helveticus* ve iki adet *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* suşunun ve propiyonik asit bakterilerinin histamin ürettiği bildirilmektedir (Stratton ve ark., 1991).

LAB üyelerinden *Lactobacillus buchneri* swiss peynirlerinde histamin üreticisi olarak tanımlanmıştır. LAB üyelerinden bazılarının ise İspanya peynirlerinde (*L. casei casei* and *Lactococcus lactis*) HİS ve TYR üreticisi olduğu rapor edilmiştir (Prieto,1998).

L. brevis, *L. plantarum* ve *L. delbrueckii* peynir ve ette TYR üretmektedir (Roig-Sagués, 1997; Baumgart, 1979). *Leuconostoc mesenteroides*, *Pediococcus*

damnosus ve diğer LAB üyelerinin fermente soslarda amin üretebildiği rapor edilmiştir (Roig-Sagués,1997; Delfini, 1989).

Pereira ve ark. (2001) fermente sosislerden izole ettikleri *Lactobacillus curvatus* ve *Lactobacillus homohiochii*'nin tirozin ve ornitin dekarboksilaz aktivitesine sahip olduklarını belirlemişlerdir.

2.2.2.LAB Üyelerinin Antimikrobiyal Özelliği

LAB üyeleri, gıda fermentasyonunda önemli mikroorganizmalardır. LAB üyelerinin çok geniş çeşidi ticari süt, et, sebze ve unlu mamullerde starter kültür olarak kullanılmakta ve sağlıklı ve yararlı besinler özelliğini kazandırmaktadır (Gilliand, 1990; Sandine, 1990). Güvenli kabul edilen (GRAS) LAB üyelerinin ürettikleri bakteriyosinler, gıda ürünlerinde patojenleri kontrol etmede büyük önem taşımaktadır. Gram-pozitif ve gram-negatif bakteriler tarafından üretilen bakteriyosin ve antimikrobiyal protein yapıları maddeler yakın ilişkili duyarlı türleri inhibe edebilmektedir (Tagg ve ark., 1976). LAB üyeleri gıda ortamında gösterdikleri yüksek besin rekabeti, redoks potansiyeli, su aktivitesi, pH ve sıcaklık gibi faktörlere karşı geliştirdikleri adaptasyonla gıda muhafazasında önemli bir yer tutmaktadır.

LAB üyelerinin inhibisyon etkisi fermentasyon boyunca (Lindren ve Dobrogosz, 1990; Oyetayo ve ark., 2003) ürettiği doğal koruyucu özelliğe sahip organik asitler, hidrojen peroksit, diasetil (Gilliland ve Speck, 1977), antimikrobiyal özelliğe sahip bakteriyosinler (Brink ve ark., 1994; Klaenhammer, 1988) ve spesifik maddelerden kaynaklanmaktadır (Devlieghere ve ark., 2004; Buchanan ve Bagi, 1997; Nilsson ve ark., 1999). Bu ürünler gıda güvenliğini etkileyen patojenler ve raf ömrünü kısaltan bozulma etkeni mikroorganizmalar ile beslenme yarışına girerek (Holzapfel ve ark., 1995) gıda bozucuların ve patojen bakterilerin gelişimini inhibe edebilmektedirler (Ray ve Daeschel, 1992).

Roig-Sagues ve ark. (1997) amino negatif starter kültür ilavesiyle kuru sosislerde amin oluşumu engellenebildiğini rapor etmişlerdir.

Ratanapibulsawat ve ark. (2005) çalışmalarında fermente edilmiş domuz ve silajından izole edilen 50 LAB üyesi serbest hücre ekstraktının gıda bozucu ve,

Staph. aureus ve *Bacillus* spp. *Salmonella* spp. ve *E. coli* gibi patojenik bakterilerin yanında spektrofotometrik tayinle inhibitör etkileri araştırmışlardır. Sonuç olarak LAB üyesi SH ekstraktının bu patojenler üzerinde inhibitör etki gösterdiğini rapor etmişlerdir. Aynı ekstraktların pH 5- 6 olarak uygulamalarında daha düşük inhibitör etki oluşturduğunu bulmuşlardır. SH ekstraktının içerdiği antimikrobiyal madde ve organik asitlerin sinerji oluşturmasından kaynaklandığı sonucuna varmışlardır.

Ashraf ve ark. (2009) bölgesel *Lactobacillus* türlerinin (*Lb. acidophilus*, *Lb. rhamnosus* ve *Lb. salivarius*, *Lb. delbrucekii* spp., *bL.bulgaricus* ve *Lb. paracasei* spp. *paracasei*), *E. coli* ve *Staph. aureus* 'u inhibe ettiğini göstermişlerdir. *Lb. delbruceki*'nin kaydadeğer antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu sonuç olarak *Lb. acidophilus*, *Lb. rhamnosus* and *Lb. salivarius*'in invitro koşullarda probiyotik özellikte olduklarını göstermişlerdir

Çon ve Gökalp (2000), LAB üyeleri suşlarından *Lb. plantarum*' un *Staph. aureus* ST 44 üzerine güçlü antimikrobiyel etki gösterdiğini, *E. coli* NRRL B-3704 üzerine etkili olmadığını, *L. monocytogenes* Li6 üzerine ise zayıf antimikrobiyal etki gösterdiğini bildirmişlerdir. *Lb. curvatus*' un ise *Staph. aureus* üzerine güçlü antimikrobiyel etki gösterdiğini fakat *E. coli* üzerine zayıf antimikrobiyal etki gösterdiğini bulmuşlardır.

LAB ile ilgili yapılan diğer bir araştırmada, LAB üyelerinin oluşturduğu bazı metabolik ürünlerin ayrı veya kombine halde patojen mikroorganizmalar üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu çalışma için 5 adet *Lb. bulgaricus* ve 5 adet *Strep. thermophilus* suşu kullanılmıştır. Suşların oluşturduğu metabolik ürünlerin (laktik asit, hidrojen peroksit, asetaldehit, diasetil) *Staph. aureus* ve *E. coli* (test bakterileri) üzerindeki inhibisyon etkileri tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda, metabolik ürünlerin test bakterilerine karşı inhibisyon etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Hidrojenperoksit, asetaldehit, diasetil gibi metabolitlerin inhibisyon etkisi belirlenemezken, laktik asidin 5-20 mg/mL konsantrasyonlarda test bakterileri üzerinde inhibisyon etkisi olduğu saptanmıştır (Aslım ve ark., 2000).

Tome ve ark. (2000) soğukta tütsülenmiş balık ürünlerindeki LAB üyelerinin raf ömrüne etkisini araştırmışlardır. Bazı patojen mikroorganizmalar ve *L. monocytogenes* türü üzerinde LAB üyelerinin inhibitör kapasitesi ölçülmüştür.

İnhibitör etkinin büyük kısmının fermentasyonda kullanılan doğal koruyucu özellikteki yarışmacı türlerden kaynaklandığı açıklanmıştır.

Nieto-Lozano ve ark. (2002) ticari olarak kullanılan starter kültür suşlarının patojen bakterilere karşı inhibitör etki gösterdiğini belirlemişlerdir. *Ped. acidilactici*, *Lb. curvatus*, *Lb. pentosus* ve *Lb. plantarum* olarak tanımlanan suşların daha çok gram pozitif bakterilere karşı inhibitör etki gösterdiği ve patojenik indikatör suşlara karşı en iyi inhibitör etki gösteren suşun *Ped. acidilactici* olduğunu rapor etmişlerdir.

Chuayana ve ark. (2003), süt ürünlerinden izole ettikleri laktik asit bakteri kültürlerinin *Staph. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhi*, *Serratia marcescens* üzerine antimikrobiyal etkilerini araştırmışlar ve sonuç olarak *Lb. casei*' nin tüm bakterilere karşı bakteriyostatik etki gösterdiğini bulmuşlardır. *Streptococcus spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium* suşları *Staph. aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa*' ya karşı bakterisit etki gösterirken; *S. typhi* ve *E. coli* 'ye karşı bakteriyostatik etki göstermiştir.

2.2.1.1.Organik Asitler

LAB üyelerinin karakteristik fermentasyon ürünü olan laktik asit ve asetik asit pH düşüşünü sağlayarak bozulma etkeni veya patojen (*Salmonella* ve *Listeria spp.*) bakterilerin gelişimini sınırlamakta veya inaktive etmektedir. Ayrıca her iki asit direkt antimikrobiyal aktivite de göstermektedir. Zayıf asitler olan laktik ve asetik asidin çözünmemiş formları hidrofobik özellikleri nedeniyle bakteri içerisine nüfus ederek hücre içinde çözünmektedir. Sonuçta stoplazmada gerçekleşen pH düşüşü nedeniyle, hücre ölümü meydana gelmektedir (Ray, 2001). Asetik asit çözünürlük sabitinin daha yüksek olması nedeniyle (pKa 4,75) belirli bir pH ve konsantrasyonda laktik asitten (pKa 3,1) daha güçlü antimikrobiyal etki göstermektedir (Holzapfel ve ark., 1995).

Laktik asitin diğer antimikrobiyal faktörlerle, diasetil, hidrojen peroksit, laktoperoksidaz ve reuterin, sinerjisi araştırılmış ve gram-negatif bakterilere karşı antimikrobiyal potansiyelin artmasına yardımcı olduğu bulunmuştur (Ray, 1992; Daeschel ve Panner, 1992).

Laktik asit, doğal yollu fermente ürünlerde bir biyokoruyucu olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Ray, 1992). Ayrıca et ürünlerinde dekontaminasyon uygulamalarında kullanılmaktadır (Dickson ve Anderson, 1992; Greer ve Dilts, 1995; Van Netten ve ark., 199.).

Doores (1993), laktik asitin birçok gram-negatif gıda bozucu bakterilerin gelişmesinde inhibisyon etki gösterdiğini rapor etmiştir.

Jin ve ark (1996), tavuk bağırsağından izole ettikleri *Lactobacillus* spp. tarafından üretilen organik asitlerin patojenik bakterilere karşı inhibitör etki gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Yang ve ark. (1997), yaptıkları araştırmada, 13 *Lactobacillus* ve 5 *Pediococcus* suşunun bir antimikrobiyal olan 2-pyrodilone-5-karboksilik asit (PCA) ürettiklerini, PCA'nın *Enterobacter cloacae* 1575, *Pseudomonas fluorescens* KSLG ve *Pseudomonas putida* 1560-2 bakterileri üzerine inhibisyon etki gösterdiğini rapor etmişlerdir.

L. monocytogenes soğuk-tütsülenmiş salmonlarda düşük sayıda bulunabilmektedir (Cortesi ve ark, 1997; Jørgensen ve Huss, 1998). Bu ürünlerin muhafazası boyunca gelişen laktik asit bakteriyal mikroflora bu patojenleri baskılamada önemli rol oynamaktadır.

2.2.1.2.Hidrojen Peroksit

LAB üyeleri tarafından oksijen, laktat, pürivat, NADH varlığında hidrojen peroksit sentezlenmektedir. Güçlü oksitleyici etkiye sahip olması nedeniyle antimikrobiyal aktivite gösteren hidrojen peroksit (Holzapfel ve ark., 1995) yüksüz olup kolayca hücre içerisine nüfus etmektedir. Hücre içerisinde gerçekleşen indirgenme reaksiyonları sonucu oluşan hidroksi radikaller kalıtım materyalini etkileyerek hücre ölümüne neden olmaktadır (Lindgren ve Dobrogosz, 1990). Geniş bir etki spektrumuna sahip hidrojen peroksit, bakteriler, mayalar, küfler, virüsler ve bakteri sporlarına karşı antagonistik aktivite göstermektedir (Russel ve ark., 1992).

Okereke ve Montville (1991) laktik asit, hidrojen peroksit, diasetil ve bakteriyosinin inhibitör etkisi oluşturduğunu bildirirlerken, bazı laktik asit bakterilerinin oluşturduğu H₂O₂'nin inhibitör etkisinin olmadığını gözlemişlerdir.

Lactobacillus delbrueckii subsp.*lactis* ile yapılan bir çalışmada laktik asit bakterileri tarafından üretilen H₂O₂'in psikrotrofik mikroorganizmaların ve buzdolabı sıcaklıklarında gelişebilen bakterilerin gelişmesini inhibe ettiği bildirilmektedir (Turantaş ve Öksüz, 1998).

2.2.1.3.Diasetil

LAB üyeleri tarafından üretilen bir başka antimikrobiyal madde ise diasetil (2,3-butanedione)'dir. Tereyağına özgü aromasını kazandıran ve ara metabolit olan prüvattan sentezlenmektedir. Başlıca dört laktik asit bakterisi cinsi Streptokoklar, Leukonostoklar, Laktobasiller ve Pediokoklar tarafından sentezlenebilmektedir (Jay, 1982). Diasetil, mayalar, gram negatif bakteriler ve laktik asit bakterileri dışındaki gram pozitif bakteriler üzerinde antibakteriyal etki göstermektedir. Varasimhan ve ark. (1988) 0.50 ppm ve 100 ppm arasında diasetili, 3 gram pozitif, 3 gram negatif bakteri (pH: 6.5 ve 6.8) ve *Saccharomyces cerevisiae* üzerine (pH: 5.0, 5.5 ve 6.0) denemişler, pH 6.0'da 100 ppm diasetilin test edilen bütün bakterilerde, ve pH 5.0'de yine 100 ppm diasetilin *S. cerevisiae*'da en yüksek inhibisyon etkisinin olduğunu gözlemişlerdir.

2.2.1.4.Reuterin

LAB üyesi olan *Lactobacillus reuteri* tarafından Reuterin anaerobik koşullarda gliserolden üretilen düşük molekül ağırlığında protein yapıda olmayan yüksek çözünürlüğe sahip bir bileşiktir (Dobrogosz ve ark., 1989). Reuterin, *Clostridium* spp., *Staphylococcus* spp., *Listeria* spp. gibi gram pozitif ve *Salmonella* spp., *Shigella* spp. gibi gram negatif bakterilere, *Candida* türü mayalara ve *Trypanosoma*'a karşı antimikrobiyal etki göstermektedir (Daeschel, 1989).

2.2.1.5.Bakteriyosinler

Bakteriyosinler ribozomal sentezli, gram pozitif türlere karşı bakterisidal ya da bakterisit etki gösterebilen protein yapısında bileşiklerdir (Klaenhammer, 1993). 1928 yılında çeşitli laktokok türlerinin diğer LAB üyeleri üzerinde inhibitör etki gösterdikleri belirlenmiştir. Çoğunlukla *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* ve *Propionibacterium* cinsi starter kültür bakterileri diğer gram pozitif bakterilere karşı bakteriyosidal etkili düşük molekül ağırlıklı proteinleri üretirler. Bu proteinler; bakteriyosinler, lantibiyotikler (lantiyonin içeren bakteriyosinler) ve bakteriyosin benzeri inhibitör maddeler olarak tanımlanmıştır (Ray, 1994).

Bakteriyosinler bakteri ribozomlarında sentezlenen yakın türler üzerinde bakterisidal etki gösteren ve insan sindirim sisteminde enzimlerle parçalanabilen polipeptid yapısındaki antimikrobiyal bileşiklerdir (Klaenhammer, 1993). Günümüzde bakterisidal peptidler veya proteinler, bakteriyosin olarak adlandırılmaktadır.

Bakteriyosinlerin gıdalarda koruyucu olarak ilk kullanımları resmi olarak 1951 yılı olsa da, insanoğlu 8000 yıldır (peynir ve diğer fermente gıdaları üretmeye başladığından beri) farkında olmadan bakteriyosinlerden faydalanmaktadır. Evrensel bakteriyosin veri tabanında (Hammami, 2005); 39 adet lantiyonin içeren bakteriyosin (sınıf I), 40 adet lantiyonin içermeyen bakteriyosin (sınıf II) ve sınıflandırılmayan türler olmak üzere 145 bakteriyosin yer almaktadır (Linde, 2008). 1933 yılında Yeni Zelanda' da protein yapısında bir madde tanımlanmış ve 1947 yılında nisin olarak isimlendirilmiştir. Nisin ilk olarak 1953 yılında ticari olarak İngiltere'de satışa sunulmuştur ve günümüzde yaklaşık 50 ülkede kullanılmaktadır. 1969 yılında Gıda ve Tarım Organizasyonu/Dünya Sağlık Organizasyonu gıda katkıları uzman kurulu tarafından gıdalarda kullanımının güvenli olduğu onaylanmıştır. Nisin, 1983 yılında Avrupa gıda katkı maddeleri listesinde E234 olarak numaralandırılmış (EEC 1983) ve 1988' de FDA tarafından peynir üretiminde kullanımına izin verilmiştir (Cotter ve ark., 2005).

Süt ve sebzelerde doğal olarak bulunan ve bunlardan izole edilen *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* tarafından nisin üretilmektedir. Gıda patojenleri üzerinde geniş bir spektrumlu antogonistik etkiye sahiptir. Nisin geniş yelpazede taze ve işlenmiş gıdalarda biyokoruyucu olarak kullanılmaktadır (Jung ve ark., 1992).

Vignolo ve ark. (2000), laktik asit bakterilerinin ürettiği 3 bakteriyosin; *Lb. casei* CRL705'in ürettiği Lacticin 705, *Enterococcus faecium* CRL35'in ürettiği Enterocin CRL35 ve nisinin *L. monocytogenes* ve *L.innocua* üzerine antimikrobiyel etkilerini araştırmışlardır. Bakteriyosinlerin kombine kullanılmasında özellikle ortamda nisin bulunduğunda antimikrobiyel etkinin arttığı belirlenmiştir.

2.2.2.Laktik Asit Bakterileri Tarafından BA'nın İnhibisyonu

Bazı araştırmacılar, starter olarak kullanılan *Lb. sakei*' nin biyojen amin oluşumunu engellemede yeterli olmadığını, fakat ham materyalde bulunan ve biyojen amin oluşturan kontaminant floranın gelişmesini inhibe ederek bazı biyojen aminlerin oluşturulmasını engellediği belirlemişlerdir. Özellikle *Lactobacillus sakei*' nin CAD ve PUT oluşumunu engellediği, fakat histamin ve tiramin oluşumunu engellemediği rapor etmişlerdir. (Suzzi ve Gardini, 2003, Roig-Sagues ve Eerola, 1997). Araştırma sonuçlarına göre, *Lactobacillus sakei*' nin birkaç suşu hariç genel olarak dekarboksilaz aktivitesine sahip olmadığı ve fermente et ürünlerinde BA'ların oluşumunu engellemek için starter kültür olarak kullanılmasının uygun olabileceğini göstermektedir (Roig-Sagues ve Eerola, 1997; Bover-Cid ve Holzapfel, 1999).

Maijala ve ark. (1995a) yaptıkları çalışmada *Pediococcus pentosaceus* ve *Staphylococcus carnosus* starter kültürlerinin HİS, KAD ve TYR oluşumunu önemli derecede azalttığını belirlemişlerdir.

Başka bir çalışmada ise fermente sosis üretiminde tirozin, histidin, lizin, ornitin ve triptofan' a karşı dekarboksilaz aktivite göstermeyen starter kültürler *Lb. plantarum* ve *Micrococcus carnosus* ile *Pediococcus pentosaceus* ve *Micrococcus carnosus* kullanılmış ve TYR, HİS, PUT ve KAD biyojen aminlerinin oluşumunu azalttıkları, fakat engelleyemedikleri belirlenmiştir (Hernandez-Jover ve ark., 1997b).

Yongjin ve ark. (2007), üç starter kültürü karışık halde, ticari sosislerde BA oluşumuna etkisini incelemiştir. Çiğ materyallerde karışık starter kültürler pH'yı hızlıca düşürerek kontaminant mikroorganizmaların gelişimini inhibe etmiş ve HİS, CAD, PUT, TRPT, TYR artışını baskılamıştır.

İki farklı starter kültürün (*Lactobacillus plantarum*+*Micrococcus carnosus*, *Pediococcus pentasaceus*+*Micrococcus carnosus*) fermente sosislerde biyojen amin oluşumuna etkisinin araştırılmasında, fermentasyon sırasında TYR, PUT ve KAD miktarlarının arttığını ve TYR'in yaygın bulunduğunu belirlenmiştir. Starter ilavesiyle yapılan sosislerde doğal fermentasyonla yapılan sosislerden TYR, PUT ve KAD miktarlarının daha az olduğu bulunmuştur (Hernandez-Jover, 1996).

Hernandez-Jover (1997b) diğer çalışmalarında, tirozin, histidin, lizin, ornitin ve triptofan'a karşı dekarboksilaz aktivite göstermeyen starter kültürler *Lb. plantarum* ve *Micrococcus carnosus* ile *Pediococcus pentasaceus* ve *Micrococcus carnosus*'un TYR, PUT ve KAD oluşumunu azalttıkları, fakat engelleyemedikleri belirlenmiştir.

Leuschner ve Hammes (1998), fermente sosislerde starter kültür olarak kullanılan *Micrococcus varians* ile *Lactobacillus sakei* beraber kullanıldığında tiramin miktarında azalmaya neden olduğunu belirlemiştir.

Ayhan ve ark. (1999), starter kültür (*Lactobacillus sakei*+ *Pediococcus pentasaceus*+ *Staphylococcus carnosus*+ *Staphylococcus xylosus*) ilave ederek yaptıkları sucuklardaki biyojen amin oluşumunu incelemişler ve starter ilavesinin PUT oluşumunu inhibe ettiğini fakat TYR oluşumunu inhibe etmediğini rapor etmişlerdir.

Suzzi ve Gadrini (2003), *Lactobacillus sakei* + *Staphylococcus carnosus* ve *Staphylococcus xylosus*' un kombine olarak kullanıldığı sosis üretiminde starter ilave edilmeden (kontrol) yapılan sosislere göre BA miktarının % 80-90 oranında azaldığını belirlemiştir.

Mufandaedza ve ark. (2006), klinik örneklerden (*E. coli* ve *S. enteridis*) ve fermente edilmiş süttten (LAB üyeleri ve maya türleri) izole ettikleri mikroorganizmalarla ilgili yapmış oldukları çalışmada, *Lactococcus lactis subsp. lactis* türünün tek başına ve maya türü *Candida kyfir* ile kombine olarak patojenler

üzerinde inhibitör kapasitelerini araştırmışlardır. En iyi inhibitör etki *Lactococcus lactis subsp. lactis* 'in yalnız uygulaması ile görölmüştür. Bu durum LAB üyesinin hızlı asit üretimiyle ortamın asidik özellik kazanmasıyla ilişkilendirilmiştir.

3.MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1 Kullanılan Besi Yerleri ve Kimyasallar

Araştırmada, Man Ragosa ve Sharp Broth (Merck), Nutrient Broth (Agar) (Merck) ve Mueller Hinton Agar kullanılmıştır. Bakteriyolojik peptone, Lab-Lemco powder, NaCl, L-histidine HCl, L-tyrosine ve pyridoxal HCl Sigma, Aldrich'den elde edilmiştir.

3.1.2. Mikroorganizmalar

3.1.2.1. Gıda Kaynaklı Patojen Bakteriler

Çalışmada gıda kaynaklı patojen bakteri olarak *Listeria monocytogenes* (ATCC7677), *Staphylococcus aureus* (ATCC29213), *Escherichia coli* (ATCC25922) ve *Salmonella paratyphi* A (NCTC13) suşları kullanılmıştır.

3.1.2.2. Laktik Asit Bakterileri

Gıdalarda fermentasyon için sıklıkla kullanılan *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* (DSMZ 20346), *Pediococcus acidophilus* (ATCC 25741), *Lactococcus Lactis* subsp. *lactis* (IL 1403), *Streptococcus thermophilus* (NCFB 2392) kùltürleri Kahraman Marař Sùtçü imam üniversitesi'nden BGVM stok kùltür olarak sağlanmıştır.

3.2.Metod

3.2.1.Bakteri Kùltürlerinin Üretilmesi

Stok kùltürden öze yardımıyla alınan patojen bakteri örnekleri Nutrient Agar besi yerine ekilerek 30 °C’de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır ve bu süre sonunda tekrar öze ile tek koloni alınarak 5mL’lik Nutrient Broth’a inoküle edilmiştir. Laktik asit bakterilerine ait suşlar inokulum düzeyi % 1 v/v olacak şekilde 10 mL’ lik tüplerde 5 mL MRS besiyerine ekimler yapılarak 37°C’de 18 saat 2 kez alt kùltür edilmiştir.

3.2.2.LAB Serbest Hücre Ekstraktının Hazırlanması

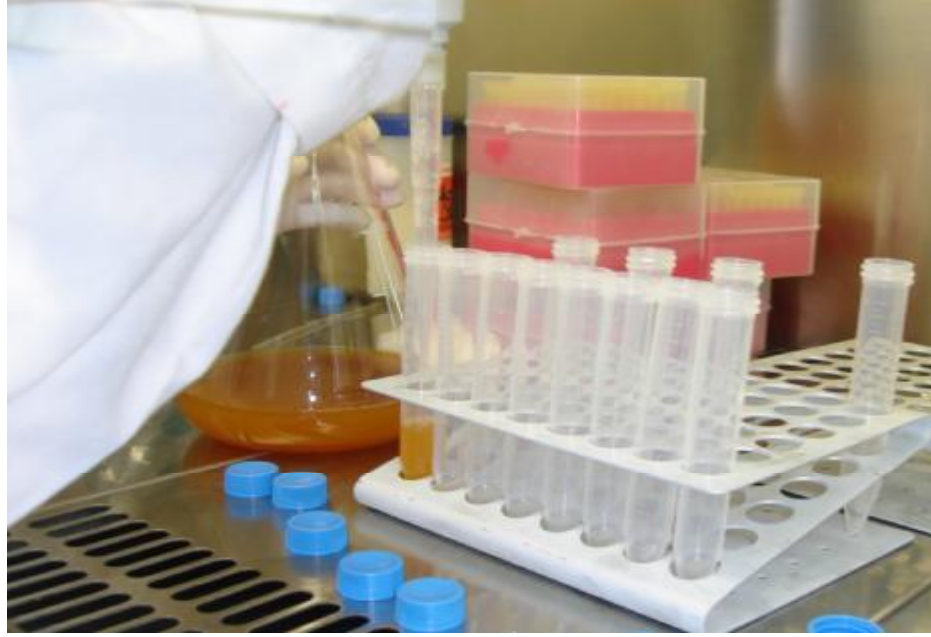


Şekil 3.1.LAB üyelerinin MRS broth içerisinde 16 saat inkübasyon sonunda gelişimi

Dört adet 1000 ml lik erlenmayerde 500 mL MRS broth hazırlanarak 121 °C’ de 15 dakika sterilizasyonu gerçekleştirilmiştir. Sıcaklığı yaklaşık olarak 40°C’ye düşen bu sıvı besiyerlerine iki kez alt kùltür edilen LAB %1 oranında her

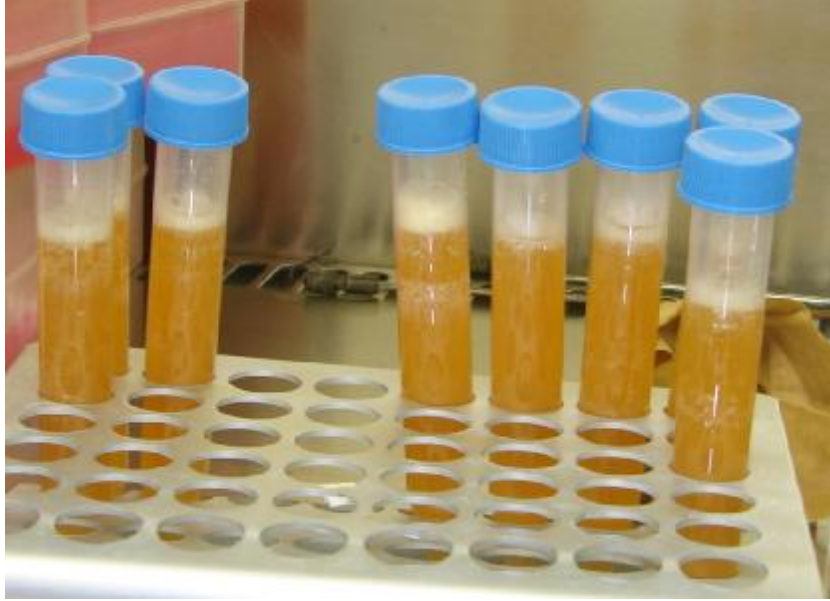
bir erlenmayere inoküle edilerek yaklaşık 37 °C de 16 saat inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon sonunda falkon tüplere alınan bakteri içerikli MRS sıvısı 10000 RPM 4°C de 20 dakika santrüfuj edilmiş ve hücreler çöktürülmüştür.



Şekil 3.2.MRS broth ta gelişen LAB üyelerinin serbest hücre ekstraktlarının Hazırlanması

Elde edilen üst faz 0.22 µm lik membran filtreden geçirilerek sterilize edilmiş ve elde edilen sıvı laktik asit bakteri serbest hücre (LAB SH) ekstraktı olarak adlandırılmıştır (Savadoğo, 2004).



Şekil 3.3.LAB üyelerinin sterilize edilmiş serbest hücre ekstraktları

3.2.3. LAB SH Ekstraktının Patojenler Üzerindeki Antimikrobiyal Etkinin Belirlenmesi

3.2.3.1. Agar Difüzyon Yöntemi

Laktik asit bakterilerinin indikatör patojenler üzerindeki antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için agar difüzyon yöntemi uygulanmıştır (Bonade ve ark., 2001). LAB üyeleri serbest hücre ekstraktlarının patojenlerin gelişimine etkisi agar difüzyon metoduna göre araştırılmış ve sonuçlar yorumlanmıştır.

Agar kuyu difüzyon yöntemi ile LAB SH ekstraktının inhibisyon etkilerinin belirlenmesinde; patojen bakteri süspansiyonlarının Muller Hinton Agarla dökme ekim yöntemiyle her birinden bir petriye 1 mL ekim yapılmıştır. Daha sonra katılaştıran besiyerinin belirli yerlerinde 5mm çapında kuyucuklar açılarak, bu kuyucuklara 100 µl LAB süpernatantlarından ilave edilerek antimikrobiyal özelliği, zon oluşumu mm cinsinden değerlendirilmiştir (Simonetta ve ark., 2002).

3.2.4. Biyojen Amin Analizi

3.2.4.1. Aminoasit Dekarboksil Sıvısı (HDS ve TDS)

Patojen bakterilerin histamin ve tiramin üretimi için sırasıyla histidin/ve tiramin dekarboksil sıvısı (HDS ve TDS) Klausen and Huss (1987) tarafından kullanılan yöntemine göre hazırlanmıştır. HDS için 500 ml saf su içerisine 1 g pepton, 0.5 g Lab-Lemco powder, 2.5 NaCl, 4.01 g L-histidine HCl and 2.5 mg pyridoxal HCl. Tirozin dekarboksil sıvısı için benzer solüsyon kullanılmış ancak, solüsyon içerisine L-histidine HCl yerine L-Tyrosine eklenmiştir. 1M NaOH ve 0.1 N HCl çözeltileri ile pH bakteriler için optimum gelişme ortamına uygun ayarlanmıştır. Hazırlanan HDS ve TDS, %25 ve %50 (v/v) karışık oranları için 5 mL ve 7.5 ml olarak 10 mL'lik tüplerde kullanmadan önce 121°C de 15 dakika otoklavlanmıştır.

3.2.4.2. Kontrol Grubu

Patojen bakteri üyeleri Nurient Broth'da zenginleştirildikten sonra salin sıvısında 0.5 macfarland da %5'lik (v/v) oranda 10 mL' lik HDS ve TDS besiyerine transfer edilmiştir. Amaç HDB ve TDB besiyerlerinde 4 patojen bakterinin hangi biyojenik aminleri ne kadar ürettiğini tespit etmektir.

3.2.4.3. Muamele Grubu

Histidin ve tyrosin aminoasitleriyle hazırlanan dekarboksil sıvı besiyerine %25 SHE ve %50 SHE olmak üzere 2 farklı konsantrasyonda %5 oranda patojen bakteri kültürünün her birinden transfer edilmiş ve biyojenik amin üretimleri için 37°C de 72 saat inkübasyona bırakılmışlardır. Hızlı bir HPLC metodu kullanılarak (Özoğul ve ark., 2002) bakterilerin biyojenik amin üretim kapasiteleri belirlenmiştir.

3.2.4.4. Bakteriyel Dekarboksil Sıvısının Ekstraksiyonu

Her bir inoküle kültürden 5 ml alınarak üzerine 2 ml % 6 TCA eklenmiştir. Bu örnekler 9000 rpm'de 4 °C'de 10 dk santrüfjü edilerek ekstrakte edilmiştir. Ekstrakte edilen örnekler sonrasında filtrelenmiştir.

3.2.4.5. Biyojenik Amin Analizi İçin Türevlendirme İşlemi

Bakterilerin türevlendirilme prosedürü Özoğul ve ark. (2002) yöntemine göre yapılmıştır. Ekstrakte edilen bakteri solüsyonundan 4 ml alınarak üzerine 1 mL 2 M sodyum hidroksit ve 40 µL benzoil chloride eklendikten sonra 30 sn vortekste karıştırılmıştır. Reaksiyon karışımı 20 dk oda sıcaklığında (24°C) bırakılmıştır. Benzolasyon işlemi 2 mL doymuş sodyum hidroksit eklenmesi ile durdurularak, solüsyon iki kez 2mL dietil eter ile ekstrakte edilmiştir. Karıştırma işleminden sonra üst organik faz temiz tüp içerisine alınarak azot gazıyla uçurulmuştur. Tüp içerisinde bulunan kalıntılar 1 ml asetoneitrilde çözdürülerek, HPLC tüplerine aktarılmıştır.

3.2.4.6. Standart Amin Solüsyonunun Hazırlanması

Çalışmada kullanılan bütün biyojenik amin standartları Sigma–Aldrich'den (Munich, Germany) sağlanmıştır. Triptamin hidroklorid (122.8 mg), putresin dihidroklorid (182.9 mg), 2-feniletülamın hidroklorid (130.1 mg), kadaverin dihidroklorid (171.4 mg), spermidin trihidroklorid (175.3 mg), spermin tetrahidroklorid (172.0 mg), histamin dihidroklorid (165.7 mg), tiramin hidroklorid (126.7 mg), 5-hidroksitriptamin (serotonin) (133.9 mg), 3-hidroksitiramin hidroklorid (dopamin) (123.8 mg), agmatin sülfat (175.4 mg), ammonia chloride (296.9 mg) ve trimetilamin hidroklorid (161.7 mg) 10 mL ultra saf suda çözdürülmüştür. Her bir amin için serbest bazın son konsantrasyonu 10 mg/mL olmuştur.

3.2.4.7. Kromatografik koşullar

Amin analizi için mobil faz, asetonitril ve HPLC ultra saf su olmuştur. Toplam aminlerin ayırım süresi 20 dk olmuştur. Enjeksiyon seviyesi 5 µl olup, 254 nm dalga boyunda tespit gerçekteşmiştir.

3.2.4.8. Ekipman ve Kolon

Biyojenik amin analizi için bir SPD-M20A diode array dedektör, iki kanallı gradient pompa (Shimadzu LC-10AT), autosampler (SIL 20AC), kolon fırını (CTO-20AC), FCV-11AL dalga birimli communication bus module (CBM-20A) sahip Shimadzu Prominence HPLC cihazı (Shimadzu. Kyoto. Japan) kullanılmıştır. BA analizi için ters-fazlı ODS Hypersil, 5µl, 250X4.6 mm kolon (Phenomenex. Macclesfield. Cheshire. UK) kullanılmıştır.



şekil 3.4.HPLC cihazı

3.2.5. İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin karşılaştırılmasında SPSS 15.0 paket programı kullanılarak istatistiksel farklılıklar ($P < 0.05$) çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir.

4.BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1.Laktik Asit Bakterilerinin Patojenler Üzerindeki Antimikrobiyal Etkisi

Laktik asit bakterileri (LAB) üyelerinden elde edilen SH ekstraktlarının 4 farklı patojen üzerindeki antimikrobiyal etkisi Agar Difüzyon metoduna göre yapılmıştır. LAB üyelerinden elde edilen SH ekstraktlarının 4 farklı patojen üzerinde antimikrobiyal etkisi Çizelge 4.1’da verilmiştir. Doores (1993), LAB üyelerinden elde edilen SH ekstraktında bulunan laktik asitin birçok gram-negatif gıda bozucu bakterilerin gelişmesinde inhibisyon etki gösterdiğini rapor etmiştir. Bu çalışma sonucunda da, SH ekstraktları bakteri gelişimini önemli düzeyde inhibe etmiştir ($P<0.05$). SH ekstraktları *S. paratyphi* A üzerinde 9.33-12.33 mm’lik zon oluşturur iken (Şekil 4.1), bu ekstraktların *Staph. aureus* üzerinde 8.67-12.63 mm’lik zon oluşturduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4.1. LAB üyeleri Serbest Hücre Ekstraktlarının Patojenlerin Üzerindeki Antimikrobiyal Etkisi

Serbest hücre ekstraktı	Ortalama Zon Çapları *			
	<i>S. paratyphi</i> A	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E.coli</i>	<i>Staph. aureus</i>
<i>Strep. thermophilus</i>	9.33 ^a ±0.58	11.67 ^a ± 0.58	11.67 ^a ±0.58	12.33 ^b ±0.58
<i>Leu.lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	12.33 ^a ±0.58	9.33 ^b ±0.58	11.33 ^a ±0.58	8.67 ^c ±0.58
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	12.33 ^b ±0.58	10.67 ^a ±0.58	11.67 ^a ± 0.58	10.00 ^a ±1.00
<i>P.acidophilus</i>	11.33 ^a ±0.58	11.33 ^a ±0.58	10.67 ^a ± 0.58	11.33 ^a ±0.58

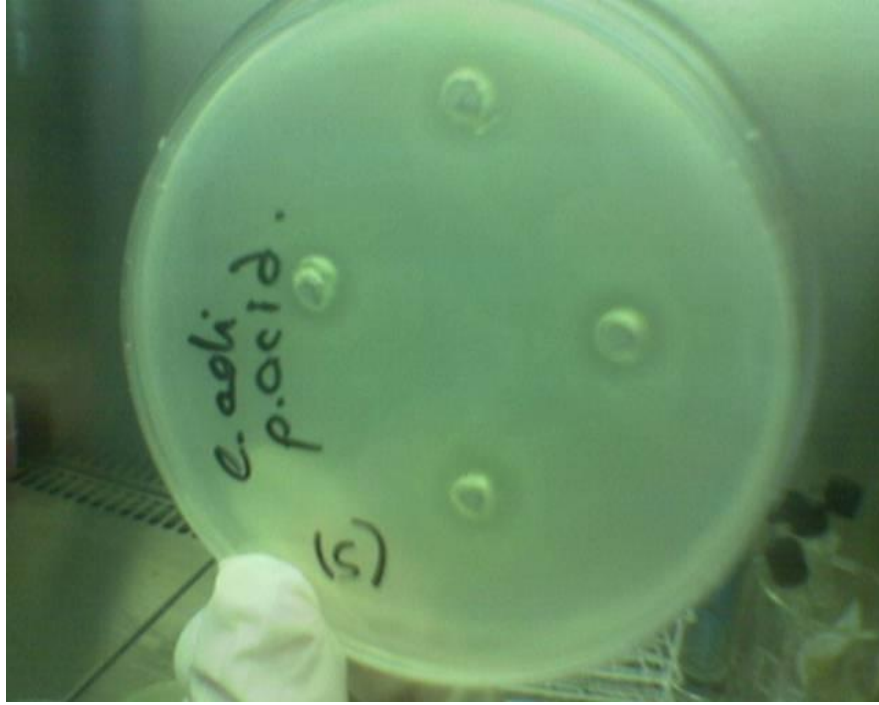
(*) Ortalama zon çapları mm cinsinden belirtilmiştir.

Çizelgede sütunlar arasındaki farklı harfler (^{a-c}) değerler arasındaki farkın istatistik olarak önemli olduğunu ($P<0.05$) göstermektedir.



Şekil 4.1. Muller-Hilton Agar'da *Salmonella paratyphi* A'nın laktik asit bakterilerinden elde edilen SH ekstraktı inhibisyon zon görünümü

Benzer olarak, disk difüzyon metoduna göre bazı LAB üyeleri serbest hücre ekstraktlarının *E. coli* 105182 CIP, *E. fecealis* 103907 CIP, *S. aureus* ATCC 25293, *B.cereus* 13569 LMG üzerinde 8-12 mm arasında inhibisyon zonu oluşturdukları rapor edilmiştir (Savadoğ, 2004). Reinheimer ve ark. (1990), LAB üyelerinin *E. coli* için 0.7-5.8 mm, *Enterobacter aerogenes* için 0.4-7.3 mm, *Klebsiella* spp. için 0.5-8.9 mm inhibisyon zonu oluşturduğunu rapor etmişlerdir. Mevcut çalışmada SH ekstraktları *E. coli* üzerinde (Şekil 4.2) daha yüksek inhibisyon zon değerine sahip olmuştur (>10 mm).



Şekil 4.2. Muller-Hilton Agar'da *E.coli*'nin laktik asit bakterilerinden elde edilen SH ekstraktı inhibisyon zon görünümü

Coolborn (2005), fermente ürünlerden izole edilen *Leuconostoc* spp ve *Pediococcus* spp. üyelerinin *Staph. aureus*, *Shigella flexneri*, *Salmonella* spp. ve *E. coli* O157:H7 üzerinde 15 mm'in üzerinde inhibisyon zonu rapor etmiştir. Bu çalışmada *Leuconostoc* spp. ve *Pediococcus* spp.'in patojenler üzerindeki en yüksek inhibisyon zonu 12.33 mm (*S. paratyphi* A için) ve 11.33 mm (*S. paratyphi* A, *L. monocytogenes* ve *Staph. aureus* için) olmuştur. Tome ve ark. (2006) LAB üyelerinin *L. monocytogenes* üzerindeki inhibitör etkisini araştırmalarında agar-difüzyon yöntemiyle 8 mm'in üzerinde zonların oluştuğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışmada *L. monocytogenes* üzerinde test edilen LAB üyeleri arasında en yüksek inhibisyon etkiye (>11 mm) sahip grup *P. acidophilus* ve *Strep. thermophilus*'dan elde edilen SH ekstraktları olmuştur (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Muller-Hilton Agar'da *L. monocytogenes*'in A'nın laktik asit bakterilerinden elde edilen SH ekstraktı inhibisyon zon görünümü

4.2. Bakteriyel Biyojenik Amin Üretimi

4.2.1. Serbest Hücre Ekstraktlarının Bakteriyel BA Üretimine Etkisi

4.2.1.1. Histidin Dekarboksilaz Sıvısında *S. paratyphi* A' ın Amonyak ve BA Üretimi

LAB üyelerinden elde edilen SH ekstraktının *S. paratyphi* A' nın histidin dekarboksil sıvısında (HDS), amonyak (AMN) ve BA üretimi Çizelge 4.2'de verilmiştir. Patojen ve serbest hücre ekstraktlarını içeren muamele grupları tarafından üretilen AMN ve BA üretimini gösteren kromotogramlar ekte verilmiştir. *S. paratyphi* A ve serbest hücre ekstraktlarını içeren muamele grupları tarafından üretilen AMN miktarında önemli farklılıklar gözlenmiştir ($P<0.05$). *S. paratyphi* A önemli düzeyde AMN üretme yeteneğine sahip olmuştur (5449.60 mg/L). SH ekstraktları, *S. paratyphi* A tarafından üretilen AMN miktarını önemli düzeyde düşürmüştür.

Çizelge 4.2. Laktik asit bakterileri serbest hücre ekstraktı ile muamele edilen *S. paratyphi A*'nın histidin dekarboksilaz sıvısı içerisinde amonyak ve biyojenik amin üretimi (mg/L).

Gruplar	AMN	PUT	KAD	SPD	TRPT	PHEN	SPN	HIS	SER	TYR	TMA	DOP	AGM
Kontrol	5449.60 ^{ns} (44.68) ^y	1297.16 ^b (19.12)	122.27 ^a (6.21)	226.73 ^a (6.28)	136.00 ^a (14.41)	615.92 ^a (16.69)	0.00 ^z 0.00	10387.53 ^a (12.40)	228.84 ^a (4.27)	334.08 ^a (42.87)	15.08 ^a (0.01)	109.46 ^d (9.64)	35.07 ^b (1.20)
PASHE %25	812.03 ^d (28.18)	211.78 ^{de} (2.91)	28.56 ^b (2.44)	88.50 ^c (4.09)	5.96 ^c (0.00)	69.77 ^c (2.28)	52.39 ^c (0.18)	16.93 ^b (0.34)	58.90 ^{de} (4.50)	41.27 ^b (2.96)	7.63 ^b (0.12)	77.02 ^e (3.42)	20.44 ^d (1.59)
PASHE %50	346.46 ^e (18.67)	132.41 ^f (2.81)	12.41 ^c (0.42)	58.51 ^f (4.16)	3.49 ^c (0.09)	40.39 ^d (0.40)	21.45 ^e (0.04)	5.83 ^{cd} (0.20)	24.77 ^z (0.23)	15.03 ^e (1.62)	1.86 ^f (0.08)	17.61 ^g (3.36)	7.32 ^e (0.35)
STSHE %25	942.23 ^c (25.08)	181.04 ^e (4.76)	15.09 ^c (0.51)	80.25 ^{de} (7.06)	7.30 ^c (0.49)	64.59 ^c (3.19)	37.67 ^d (1.73)	15.60 ^{bc} (0.51)	54.66 ^v (2.69)	67.20 ^{bc} (4.15)	3.31 ^c (0.01)	184.75 ^b (6.87)	31.12 ^e (0.41)
STSHE %50	1023.72 ^b (7.79)	282.53 ^e (6.10)	26.86 ^b (0.20)	138.22 ^c (3.87)	8.74 ^c (0.13)	96.83 ^b (8.75)	59.36 ^b (0.43)	19.77 ^b (0.29)	75.63 ^c (5.10)	68.09 ^{bc} (4.36)	5.49 ^d (0.01)	54.55 ^f (4.58)	36.11 ^b (2.29)
LACSHE %25	332.66 ^e (16.389)	208.07 ^{de} (14.31)	12.67 ^e (0.31)	68.20 ^{ef} (2.99)	12.90 ^e (0.31)	61.52 ^e (0.50)	37.11 ^d (2.56)	15.72 ^{bc} (0.91)	65.49 ^d (3.16)	62.44 ^{bed} (0.54)	5.78 ^d (0.28)	110.45 ^d (12.16)	28.46 ^c (0.09)
LACSHI 50	599.08 ^f (18.68)	1502.26 ^a (47.27)	16.48 ^c (1.39)	130.01 ^c (5.31)	1.26 ^c (0.01)	63.04 ^c (3.99)	13.30 ^f (0.02)	0.20 ^c (0.00)	46.09 ^f (3.97)	31.04 ^{de} (0.28)	3.50 ^e (0.47)	146.40 ^c (13.02)	31.55 ^c (0.20)
LEUSHE %25	747.71 ^e (23.55)	238.05 ^d (4.43)	28.81 ^b (2.19)	134.76 ^b (4.64)	6.99 ^c (0.52)	92.42 ^b (3.56)	59.29 ^b (2.07)	14.33 ^{bc} (0.36)	62.13 ^{de} (3.02)	60.41 ^{bed} (2.29)	6.68 ^e (0.07)	215.16 ^b (6.44)	43.22 ^a (1.76)
LEUSHE %50	773.97 ^{de} (25.91)	239.71 ^d (15.50)	25.13 ^b (1.54)	159.43 ^b (10.65)	25.24 ^b (3.99)	98.60 ^b (8.24)	75.25 ^a (5.70)	23.48 ^b (1.48)	96.35 ^e (3.73)	80.27 ^b (0.72)	5.30 ^d (0.10)	185.47 ^a (10.85)	36.92 ^a (2.32)

PASHE: *Pediococcus acidophilus* serbest hücre ekstraktı; STSHE: *Streptococcus thermophilus* serbest hücre ekstraktı; LACSHE: *Lc.lactis* subsp. *lactis* serbest hücre ekstraktı; LEUSHE: *Leuostococcus lactis* subsp. *cremoris*. %25: 75 TDB+%25 spesifik laktik asit bakterisi serbest hücre ekstraktı. %50: %50 TDB+%50 spesifik laktik asit bakterisi serbest hücre ekstraktı. AMN: amonyak, PUT: putresin, KAD: kadaverin, SPD: spermidin, TRPT: triptamin, PHEN: 2-fenilettilamin, SPN: spermin, HIS: histamin, SER: serotonin, TYR: tiramin, TMA: trimetilamin, DOP: dopamin, AGM: agmatin. Aynı sütündeki satırlar üzerinde belirtilen farklı harfler (^{a-h}), gruplar arasında istatistiksel olarak farklılıkları (P<0.05) göstermektedir. ^y: ortalama, ^z: standart sapma.

AMN üretimi bakımından SH ekstraktları arasında da önemli farklılıklar bulunmuştur ($P<0.05$). AMN üretiminde bütün muamele gruplarının %25'lik konsantrasyonları %50'lik konsantrasyonlara göre daha yüksek inhibitör etki göstermiştir. AMN miktarında en fazla düşüş *P. acidophilus* üyesinden elde edilen SH ekstraktının % 25'lik konsantrasyonu ve *Lc. lactis subsp. lactic* üyesinden elde edilen SH ekstraktının % 50'lik konsantrasyonlarında bulunmuştur (sırasıyla 346.46 ve 332.66 mg/L). *Strep. thermophilus* üyesinden elde edilen SH ekstraktının % 50'lik konsantrasyonu *S. paratyphi A* tarafından üretilen AMN miktarında en az etkili grup olmuştur (1023.72 mg/L). AMN üretiminde *Leu. lactis subsp. cremoris* SH ekstraktının her iki konsantrasyonunun benzer inhibitör etki gösterdiği bulunmuştur ($P>0.05$).

S. paratyphi A tarafından üretilen BA bakımından önemli farklılıklar gözlenmiştir ($P<0.05$). *S. paratyphi A* HDS'da spermin (SPN) dışında test edilen bütün aminleri üretmiş olup, bu bakteri tarafından en yüksek düzeyde üretilen amin PUT ve HİS olmuştur. Özoğul (2011) tarafından yapılan çalışma sonuçları benzerlik göstermektedir. Profilik veya profilik olmayan HİS üreten bakteri türleri spesifik besiyerinde HİS yanında diğer BA'ları da (KAD, PUT, SPN) üretmişlerdir. Bu durum HDS'nin, pepton ve beef ekstrakt ve diğer aminoasitleri (lizin, ornitin, tirozin v.b.) içermesinden kaynaklanmaktadır (Özoğul, 2011).

SH ekstraktı konsantrasyonlarının etkisi bakteri türlerine ve spesifik BA'e göre değişkenlik göstermesine karşın, SH ekstraktları genellikle *S. paratyphi A* tarafından BA üretimini baskılamıştır ($P<0.05$). HDS'da *S. paratyphi A* tarafından PUT üretimi 1297.16 mg/L olarak bulunmuştur. *S. paratyphi A* ve SH ekstraktı içeren muamele grupları tarafından PUT üretiminde önemli farklılıklar bulunmuştur ($P<0.05$). Test edilen bütün SH ekstraktları *S. paratyphi A* tarafından üretilen PUT üretimini önemli düzeyde düşürmesine karşın, *Lactococcus* spp. üyelerinden elde edilen %50 konsantrasyonundaki SH ekstraktları *S. paratyphi A* tarafından üretilen PUT üretimini önemli derecede artırmıştır (1502.26 mg/L). Muamele gruplarından *P. acidophilus* SH ekstraktının % 50 konsantrasyonu *S. paratyphi A* tarafından üretilen PUT üretimini 132.41 (mg/L) en yüksek düzeyde baskılayan grup olduğu bulunmuştur. *Strep. thermophilus* SH ekstraktının %50 konsantrasyonu %25 konsantrasyona göre HDS'de

daha yüksek PUT birikimine yol açmıştır. *S. paratyphi* A tarafından PUT üretimi bakımından *Leu. lactis subsp. cremoris* SH ekstraktının önemli düzeyde inhibitör etkisi bulunmuş olup, konsantrasyonlar bakımından PUT üretiminde fark bulunmamıştır.

Çoğu bakterinin histamin üretimine yol açan histidin dekarboksilaz aktivitesine sahip oldukları bilinmektedir (Ababouch ve ark., 1991; Lopez-ve ark., 1996; Tsai ve ark., 2005). *S. paratyphi* A HDS'da oldukça yüksek konsantrasyonda HİS (10387.53 mg/L) üretmiştir. Mah ve ark. (2009) laktik asit katkısının gıdalarda HİS, KAD, PUT, TYR ve SPN üretimlerinde yaklaşık %15 -35 azalmaya yol açtığını bulmuşlardır. SH ekstraktları *S. paratyphi* A tarafından HİS üretiminde önemli inhibitör etkiye neden olmuştur ($P<0.05$). Muamele grupları arasında HİS üretimindeki en fazla düşüş, *P. acidophilus* SH ekstraktının ve *Leu. lactis subsp. lactic* SH ekstraktının % 50 konsantrasyonlarında (sırasıyla 5.83 ve 0.20 mg/L) olmuştur. HİS üretimi bakımından *P. acidophilus* SH ekstraktının %25 konsantrasyonu, *Strep. thermophilus* SH ekstraktının %50 konsantrasyonu ile *Leu. lactis subsp. cremoris* SH ekstraktının %50 konsantrasyonları en az etkiye sahip olurken (sırasıyla 16.93, 19.77, 23.48 mg/L), *Strep. thermophilus* SH, *Lc. lactis subsp. lactic* SH ve *Leu. lactis subsp. cremoris* SH ekstraktlarının %25 konsantrasyonları sırasıyla 15.60, 15.72 ve 14.33 mg/L değer ile aynı düzeyde inhibitör etki göstermişlerdir.

S. paratyphi A tarafından KAD üretimi 122.27 mg/L olarak bulunmuştur. SH ekstraktları arasında *S. paratyphi* A tarafından KAD üretimi bakımından önemli farklılıklar bulunmuştur ($P<0.05$). LAB üyeleri arasında *P. acidophilus* üyesinin SH ekstraktının %50 konsantrasyonu %25 konsantrasyonuna göre KAD üretiminde daha fazla inhibitör etki gösterirken, *Lc. lactis subsp. lactic* ve *Leu. lactis subsp. cremoris* üyelerinin SH ekstraktları arasında etki bakımından fark bulunamamıştır. *P. acidophilus* SH ekstraktı (%50 konsantrasyon), *Strep. thermophilus* SH ekstraktı (%25 konsantrasyon), *Lc. lactis subsp. lactic* SH ekstraktı (%25 ve %50 konsantrasyon) KAD üretiminde sırasıyla 12.41 , 15.09, 12.67 ve 16.48 mg/L değer ile KAD üretiminde en yüksek inhibitör etki göstermiştir. KAD üretiminde en düşük inhibitör etki, *P. acidophilus* SH ekstraktının % 25'lik konsantrasyonu, *Strep. thermophilus* SH ekstraktının %50'lik konsantrasyonu ve *Leu. lactis subsp. cremoris* SH ekstraktının her

iki konsantrasyonu tarafından gerçekleştirilmiştir (sırasıyla 28.56, 26.86, 25.13 ve 28.81mg/L).

HDS’da *S. paratyphi* aynı zamanda iyi düzeyde TYR (334.08 mg/L) üretme yeteneğine sahip olmuştur. TYR üretiminde de LAB üyelerinin önemli düzeyde inhibitör etkisi gözlenmiştir ($P<0.05$). *P. acidophilus* SH ekstraktının % 50 konsantrasyonu TYR üretiminde en yüksek inhibitör etkiye sahip grup olmuştur (15.03 mg/L).

S. paratyphi A tarafından SPD, TRPT, PHEN, SER, TMA ve DOP üretimi sırasıyla 226.73, 136.00, 615.92, 228.84 ve 15.08 ve 109.46 mg/L olmuştur. SH ekstraktlarının bu aminler üzerindeki etkisi farklılıklar göstermiştir ($P<0.05$). *S. paratyphi* A SPN üretim yeteneğine sahip olmaz iken, başta *Leu. lactis subsp. cremoris* olmak üzere LAB SH ekstraktları *S. paratyphi* A tarafından yüksek oranda SPN üretimine yol açmıştır. *S. paratyphi* A tarafından AGM üretimi 35.07 mg/L olup, SH ekstraktları AGM üretiminde kaydadeğer azalma göstermiştir. En yüksek etki 7.32 mg/L değer ile *P. acidophilus* SH ekstraktı varlığında gözlenmiştir. *Leu. lactis subsp. cremoris*’in %25 ve 50 konsantrasyonu sırasıyla 43.22 ve 36.92 mg/L değer ile AGM miktarını artırmıştır.

4.2.1.2.Tirosin Dekarboksilaz Sıvısında *S. paratyphi* A’ ın Amonyak ve BA Üretimi

S. paratyphi A’ nın TDS’da AMN ve BA üretimi Çizelge 4.3.’de verilmiştir. *S. paratyphi* A tarafından TDS’ da üretilen AMN miktarı bakımından önemli farklılıklar gözlenmiştir ($P<0.05$). *S. paratyphi* A oldukça yüksek miktarda AMN üretme yeteneğine sahip olmuştur (2410.79 mg/L). SH ekstraktı uygulaması *S. paratyphi* A tarafından üretilen AMN miktarını önemli düzeyde düşürmüştür ($P<0.05$). AMN üretimi bakımından SH ekstraktları arasında da önemli farklılıklar bulunmuştur ($P<0.05$).

AMN üretiminde SH ekstraktlarının % 25’lik konsantrasyonları % 50’lik konsantrasyonlarına göre daha fazla inhibitör etki göstermiştir. AMN miktarı bakımından en fazla düşüş *Lc. lactis subsp. lactic* ve *P. acidophilus* SH ekstraktının

Çizelge 4.3. Laktik asit bakterileri serbest hücre ekstraktı ile muamele edilen *S. paratyphi A*'nın tirozin dekarboksilaz sıvısı içerisinde amonyak ve biyojenik amin üretimi (mg/L).

Mix cultür	AMN	PUT	KAD	SPD	TRPT	PHEN	SPN	HİS	SER	TYR	TMA	DOP	AGM
Kontrol	2410.79 ^a (73.15)	1504.52 ^a (48.29)	191.71 ^a (12.81)	212.20 ^a (812.10)	679.28 ^a (34.349)	70.71 ^d (3.83)	343.32 ^b (16.34)	20.06 ^{bc} (0.349)	25.32 ^f (1.87)	5955.86 ^a (91.12)	279.08 ^a (13.39)	101.67 ^e (7.84)	328.89 ^d (8.48)
PASHE %25	893.55 ^e (20.06)	216.6 ^e (3.54)	27.58 ^e (1.07)	103.20 ^e (7.65)	0.00 ^e (0.00)	76.92 ^{cd} (4.24)	174.38 ^d (3.34)	9.33 ^d (0.46)	122.20 ^e (3.01)	321.15 ^e (9.21)	4.95 ^d (0.03)	821.45 ^{cd} (20.03)	231.36 ^f (1.37)
PASHE %50	1041.09 ^d (32.92)	220.54 ^{de} (3.74)	27.59 ^e (1.95)	97.85 ^e (2.90)	2.49 ^e (0.12)	65.28 ^d (3.06)	194.98 ^d (5.29)	16.69 ^e (0.21)	112.93 ^e (1.19)	199.48 ^f (4.73)	5.07 ^d (0.24)	1451.44 ^e (19.76)	221.29 ^f (3.19)
STSHE %25	638.38 ^e (3.15)	208.61 ^e (0.88)	25.15 ^e (0.99)	90.38 ^e (1.82)	3.67 ^e (0.05)	74.58 ^d (2.02)	644.86 ^e (11.29)	6.73 ^d (0.33)	138.18 ^d (7.86)	204.69 ^f (5.99)	8.53 ^{cd} (0.52)	1486.49 ^e (73.57)	284.03 ^e (9.55)
STSHE %50	1077.37 ^d (61.48)	138.48 ^f (5.69)	30.34 ^e (2.98)	133.43 ^d (7.23)	8.10 ^e (2.64)	76.67 ^{cd} (8.95)	291.85 ^e (8.06)	28.61 ^a (1.48)	140.30 ^d (9.56)	137.81 ^f (10.28)	10.12 ^{cd} (0.97)	2373.54 ^b (95.84)	272.22 ^e (7.05)
LACSHE %25	749.89 ^f (17.21)	299.67 ^e (9.89)	50.05 ^d (2.83)	132.2 ^d (0.51)	0.00 ^e (0.00)	113.63 ^b (2.26)	285.04 ^e (12.22)	31.34 ^a (4.19)	205.49 ^e (2.68)	712.09 ^c (15.81)	15.17 ^{bcd} (0.41)	1427.43 ^{cd} (35.16)	485.35 ^e (13.99)
LACSHE 50	1721.02 ^b (19.21)	344.31 ^b (6.69)	68.33 ^e (3.40)	189.99 ^b (2.97)	13.06 ^{bc} (0.08)	142.31 ^a (4.06)	660.91 ^a (20.76)	1.48 ^e (0.09)	379.30 ^a (7.74)	469.73 ^d (29.29)	18.06 ^{bc} (0.07)	749.21 ^d (27.62)	935.67 ^a (5.65)
LEUSHE %25	737.55 ^f (24.68)	233.04 ^{de} (12.21)	43.48 ^d (1.31)	122.95 ^d (3.52)	0.00 ^e (0.00)	90.86 ^{cd} (3.02)	144.07 ^e (7.75)	0.94 ^e (0.05)	192.86 ^e (5.31)	798.61 ^b (30.49)	15.69 ^{bcd} (1.34)	3680.39 ^a (80.35)	592.67 ^b (15.29)
LEUSHE %50	1212.35 ^e (29.31)	261.05 ^{cd} (5.00)	94.72 ^b (1.58)	173.14 ^c (4.42)	38.88 ^b (1.06)	130.92 ^a (1.91)	187.02 ^d (7.02)	21.14 ^b (0.38)	312.81 ^b (9.86)	479.56 ^d (5.14)	25.16 ^b (1.55)	1109.96 ^{cd} (14.81)	599.81 ^b (3.39)

PASHE: *Pediococcus acidophilus* serbest hücre ekstraktı; STSIII: *Streptococcus thermophilus* serbest hücre ekstraktı; LACSHE: *Lc.lactis* subsp. *lactis* serbest hücre ekstraktı, LEUSHE: *Leuostoc.lactis* subsp. *cremoris*. %25: 7.5 TDB+%25 spesifik laktik asit bakterisi serbest hücre ekstraktı. %50: %50 TDB+%50 spesifik laktik asit bakterisi serbest hücre ekstraktı AMN:amonyak, PUT:putresin, KAD:kadaverin, SPD:spermidin, TRPT:tripiamin, PHEN:2-feniletiamin, SPN:spermin, HİS:histamin, SER:serotonin, TYR:tramin, TMA:trimetilamin, DOP:dopamin, AGM:agmatin.Aynı sütündeki satırlar üzerinde belirtilen farklı harfler (^{a-b}) gruplar arasında istatistik olarak farklılıkları (P<0.05) göstermektedir. ^a:ortalama, ^b: standart sapma.

%25'lik konsantrasyonlarında gözlenmiştir (sırasıyla 749.89 ve 737.55 mg/L). AMN üretiminde en az inhibitör etki ise *Lc. lactis subsp. lactic* SH ekstraktının % 50'lik konsantrasyonunda gözlenmiştir (1721.02 mg/L). *P. acidophilus* SH ekstraktının % 25'lik konsantrasyonu AMN düşüşünde ikinci en büyük inhibitör etkiyi göstermiştir. *S. paratyphi* A TDS'de test edilen bütün aminleri üretmiştir. TDS'de *S. paratyphi* A tarafından en yüksek miktarda üretilen aminler sırasıyla TYR ve PUT olmuştur. SH ekstraktı uygulaması DOP, SER ve AGM dışında genellikle *S. paratyphi* A tarafından BA üretimini baskılamıştır.

S. paratyphi A tarafından TDS'da üretilen HİS miktarı 20.06 mg/L olup, LAB üyelerinden *P. acidophilus* ve *Leu. lactis subsp. cremoris* SH ekstraktlarının % 50 konsantrasyonları % 25 konsantrasyonlarına kıyasla daha yüksek HİS üretmiştir (sırasıyla 16.69 ve 21.14 mg/L) ($P<0.05$). HİS üretimindeki en fazla artış ise *Strep. thermophilus* SH ekstraktının % 50, *Lc. lactis subsp. lactic* SH ekstraktının % 25 konsantrasyonlarında bulunmuştur (sırasıyla 61 ve 31.34 mg/L). Bover-Cid ve ark. (1999) *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus brevis* ve *Lactobacillus buchneri* gibi LAB üyelerinin TYR ve bazı LAB üyelerinin ise HİS üretme yeteneğine sahip olduklarını rapor etmişlerdir.

S. paratyphi A'nın TDS'da 5955.86 mg/L TYR ürettiği bulunmuştur. *S. paratyphi* A tarafından üretilen TYR miktarı bakımından çok önemli farklılıklar gözlenmiştir ($P<0.05$). Muamele grupları arasında TYR üretimindeki en yüksek inhibisyon *P. acidophilus* SH ekstraktının %50 konsantrasyonu ve *Strep. thermophilus* SH ekstraktının her iki konsantrasyonunda (sırasıyla 199.48 , 204.69 ve 137.81 mg/L) gözlenmiştir. TYR üretiminde en az düşüş *Leu. lactis subsp. cremoris* SH ekstraktının % 25 konsantrasyonunda (798.61 mg/L) ve *Lc. lactis subsp. lactic* SH ekstraktının %50 konsantrasyonunda (712.09 mg/L) gözlenmiştir.

S. paratyphi A tarafından PUT üretimi 1504.52 mg/L olmuştur. SH ekstraktları PUT üretiminde kayda değer azalma gösterirken SH ekstraktları arasında *S. paratyphi* A tarafından PUT üretimi üzerinde en fazla inhibitör etkiyi *P. acidophilus* ve *Strep. thermophilus* SH ekstraktlarının %25' lik konsantrasyonları göstermiştir (sırasıyla 216.6 ve 208.61 mg/L). *Lc. lactis subsp. lactic* SH ekstraktının %25' lik konsantrasyonu PUT üretiminde en az etkiye sahip grup olmuştur (344.31 mg/L). *P. acidophilus* SH

ekstraktının %50'lik konsantrasyonu ile *Leu. lactis subsp. cremoris* SH ekstraktının %25'lik konsantrasyonu PUT üretiminde benzer derecede inhibitör etkiye sahip olmuştur.

TDS'da *S. paratyphi A* tarafından KAD üretimi 191.71 mg/L olarak bulunmuştur. Bütün muamele gruplarının KAD üretiminde önemli düşüşe sebep oldukları bulunmuştur ($P<0.05$). *P. acidophilus* SH ekstraktının ve *Strep. thermophilus* SH ekstraktının her iki konsantrasyonları KAD üretiminde en yüksek inhibitör etki gösterirken, *Leu. lactis subsp. cremoris* SH ekstraktının % 50'lik konsantrasyonu KAD üretiminde en az etkiye sahip grup olmuştur (94.72 mg/L). Muamele gruplarından *Lc. lactis subsp. lactic* ve *Leu. lactis subsp. cremoris* SH ekstraktının %50'lik konsantrasyonları *S. paratyphi A* tarafından KAD üretimine benzer inhibitör etki göstermiştir.

S. paratyphi A tarafından AGM üretimi 328.89 mg/L olarak bulunmuştur. Muamele grupları arasında AGM üretimi bakımından önemli farklılıklar gözlenmiştir ($P<0.05$). *S. paratyphi A* tarafından AGM üretimi üzerine en yüksek inhibitör etkiyi *P. acidophilus* SH ekstraktının her iki konsantrasyonu göstermiştir (231.36 ve 221.29 mg/L). *Lc. lactis subsp. lactic* SH ekstraktının % 50'lik konsantrasyonu AGM üretimini artırmıştır (935.67 mg/L). Benzer şekilde, *Leu. lactis subsp. cremoris* SH ekstraktı *S. paratyphi A* tarafından AGM üretimini artırıcı özelliğe sahip olmuştur (592.67 ve 599.81 mg/L).

S. paratyphi A tarafından SPD, TRPT, SPN, TMA ve DOP miktarı sırasıyla 212.20, 679.28, 343.32, 279.08 ve 107.67 mg/L olurken, PHEN ve SER *S. paratyphi A* tarafından en düşük düzeyde üretilen aminler olmuştur (sırasıyla 25.2, 70.71 mg/L). SH ekstraktları bu aminlerin üretiminde önemli etkilere sahip olmuştur ($P<0.05$). *S. paratyphi A* tarafından DOP üretimi 101.67 mg/L'den *Leu. lactis subsp. cremoris* SH ekstraktı varlığında (%25'lik konsantrasyonunu) 3638.39 mg/L'e çıkmıştır.

4.2.1.3.Histidin Dekarboksilaz Sıvısında *L. monocytogenes*'in Amonyak ve BA Üretimi

L. monocytogenes'in HDS'da BA üretimi Çizelge 4.4.'de verilmiştir. *L. monocytogenes* ve muamele grupları tarafından HDS 'de üretilen AMN miktarı bakımından önemli farklılıklar gözlenmiştir ($P<0.05$). *L. monocytogenes* HDS'da oldukça yüksek miktarda AMN üretme yeteneğine sahip olmuştur (3407.34 mg/L). SH ekstraktı uygulaması *L. monocytogenes* tarafından üretilen AMN miktarını önemli düzeyde düşürmüştür. AMN üretimi bakımından SH ekstraktları arasında da önemli farklılıklar bulunmuştur ($P<0.05$). AMN üretiminde SH ekstraktlarının % 25'lik konsantrasyonları % 50 konsantrasyonlara göre daha fazla inhibitör etki göstermiştir. AMN üretimi bakımından en yüksek inhibitör etkiyi *Lc. lactis subsp. lactic* ve *Strep. thermophilus* SH ekstraktlarının % 50'lik konsantrasyonları göstermiştir (347.22 ve 671.93 mg/L). AMN miktarında en az etkili grup, *Leu. lactis subsp. cremoris*'den elde edilen SH ekstraktının %50'lik konsantrasyonu olmuştur.

L. monocytogenes HDS'da SPN dışındaki bütün BA'leri üretmiştir. *L. monocytogenes* tarafından en yüksek miktarda üretilen amin HİS olmuştur. SH ekstraktı muamele grupları arasında önemli farklılıklar gözlenmiştir ($P<0.05$). SH ekstraktı uygulaması SPN, SPD ve DOP dışında genellikle amin üretimini engelleyici özelliğe sahip olmuştur. *L. monocytogenes* HDS'da 7722.01 mg/L HİS üretme yeteneğine sahip olmuştur. *L. monocytogenes* ve muamele grupları tarafından üretilen HİS miktarı bakımından çok önemli farklılıklar gözlenmiştir ($P<0.05$). SH ekstraktı uygulaması HİS üretimini önemli düzeyde baskılamıştır. HİS üretimi bakımından bütün SH ekstraktı ve konsantrasyonları aynı inhibitör etkiyi göstermiştir ($P>0.05$).

L. monocytogenes tarafından HDS'de PUT üretimi 471.87 mg/L olarak oldukça yüksek düzeyde bulunmuştur. SH ekstraktları PUT üretiminde kaydadeğer azalma gösterirken muamele gruplarından en fazla düşüş 113.80 mg/L olarak *Lc. lactis subsp. lactic* ve *Leu. lactis subsp. cremoris* SH ekstraktlarının %50'lik konsantrasyonları göstermiştir (157.98 mg/L).. *L. monocytogenes* tarafından PUT üretiminde en az etkili grup, *P. acidophilus* SH ekstraktının % 25'lik konsantrasyonu ile *P. acidophilus* SH ekstraktının % 50'lik konsantrasyonları olmuştur.

Çizelge 4.3. Laktik asit bakterileri serbest hücre ekstraktı ile muamele edilen *S. paratyphi A*'nın tirozin dekarboksilaz sıvısı içerisinde amonyak ve biyojenik amin üretimi (mg/L).

Mix cultür	AMN	PUT	KAD	SPD	TRPT	PHEN	SPN	IIS	SER	TYR	TMA	DOP	AGM
Kontrol	2410.79 ^a (73.15)	1504.52 ^a (48.29)	191.71 ^a (12.81)	212.20 ^a (812.10)	679.28 ^a (34.349)	70.71 ^d (3.83)	343.32 ^b (16.34)	20.06 ^{bc} (0.349)	25.32 ^f (1.87)	5955.86 ^a (91.12)	279.08 ^a (13.39)	101.67 ^e (7.84)	328.89 ^u (8.48)
PASHE %25	893.55 ^b (20.06)	216.6 ^c (3.54)	27.58 ^e (1.07)	103.20 ^e (7.65)	0.00 ^c (0.00)	76.92 ^{cd} (4.24)	174.38 ^d (3.34)	9.33 ^a (0.46)	122.20 ^e (3.01)	321.15 ^c (9.21)	4.95 ^d (0.03)	821.45 ^{cd} (20.03)	231.36 ^f (1.37)
PASHE %50	1041.09 ^d (32.92)	220.54 ^{de} (3.74)	27.59 ^e (1.95)	97.85 ^e (2.90)	2.49 ^e (0.12)	65.28 ^d (3.06)	194.98 ^d (5.29)	16.69 ^e (0.21)	112.93 ^e (1.19)	199.48 ^f (4.73)	5.07 ^d (0.24)	1451.44 ^e (19.76)	221.29 ^f (3.19)
STSHHE %25	638.38 ^e (3.15)	208.61 ^e (0.88)	25.15 ^e (0.99)	90.38 ^e (1.82)	3.67 ^e (0.05)	74.58 ^d (2.02)	644.86 ^a (11.29)	6.73 ^d (0.33)	138.18 ^d (7.86)	204.69 ^f (5.99)	8.53 ^{cd} (0.52)	1486.49 ^e (73.57)	284.03 ^b (9.55)
STSHHE %50	1077.37 ^f (61.48)	138.48 ^f (5.69)	30.34 ^e (2.98)	133.43 ^d (7.23)	8.10 ^c (2.64)	76.67 ^{cd} (8.95)	291.85 ^c (8.06)	28.61 ^a (1.48)	140.30 ^d (9.56)	137.81 ^f (10.28)	10.12 ^{cd} (0.97)	2373.54 ^b (95.84)	272.22 ^e (7.05)
LACSHE %25	749.89 ^e (17.21)	299.67 ^e (9.89)	50.05 ^d (2.83)	132.2 ^d (0.51)	0.00 ^c (0.00)	113.63 ^b (2.26)	285.04 ^e (12.22)	31.34 ^a (4.19)	205.49 ^e (2.68)	712.09 ^b (15.81)	15.17 ^{bcd} (0.41)	1427.43 ^{cd} (35.16)	485.35 ^e (13.99)
LACSHE 50	1721.02 ^b (19.21)	344.31 ^b (6.69)	68.33 ^e (3.40)	189.99 ^b (2.97)	13.06 ^{bc} (0.08)	142.31 ^a (4.06)	660.91 ^a (20.76)	1.48 ^e (0.09)	379.30 ^a (7.74)	469.73 ^d (29.29)	18.06 ^{bc} (0.07)	749.21 ^d (27.62)	935.67 ^a (5.65)
LEUSHE %25	737.55 ^f (24.68)	233.04 ^{de} (12.21)	43.48 ^d (1.31)	122.95 ^d (3.52)	0.00 ^c (0.00)	90.86 ^{cd} (3.02)	144.07 ^e (7.75)	0.94 ^e (0.05)	192.86 ^c (5.31)	798.61 ^b (30.49)	15.69 ^{bcd} (1.34)	3680.39 ^a (80.35)	592.67 ^b (15.29)
LEUSHE %50	1212.55 ^e (29.31)	261.05 ^{cd} (5.00)	94.72 ^b (1.58)	173.14 ^c (4.42)	38.88 ^b (1.06)	130.92 ^a (1.91)	187.02 ^d (7.02)	21.14 ^b (0.38)	312.81 ^b (9.86)	479.56 ^d (5.14)	25.16 ^b (1.55)	1109.96 ^{cd} (14.81)	599.81 ^b (3.39)

PASHE: *Pedococcus acidophilus* serbest hücre ekstraktı; STSHHE: *Streptococcus thermophilus* serbest hücre ekstraktı; LACSHE: *Lc.lactis* subsp. *lactis* serbest hücre ekstraktı; LEUSHE: *Leuconostoc lactis* subsp. *cremona*. %25: 75 TDB-%25 spesifik laktik asit bakterisi serbest hücre ekstraktı. %50: %50 TDB+%50 spesifik laktik asit bakterisi serbest hücre ekstraktı. AMN:amonyak, PUT:patresin, KAD:kadaverin, SPD:spermidin, TRPT:triptamin, PHEN:2-feniletülamın, SPN:spermin, HIS:histamin, SER:serotonin, TYR:tramin, TMA:trimetilamin, DOP:dopamin, AGM:agmatin.Aynı sütundaki satırlar üzerinde belirtilen farklı harfler (^{a-f}) gruplar arasında istatistiksel olarak farklılıkları (P<0.05) göstermektedir. ^a:ortalama, ^b: standart sapma.

L. monocytogenes tarafından HDS'da KAD üretimi 52.39 mg/L olarak bulunmuştur. KAD üretiminde *P. acidophilus* SH ekstraktının % 50'lik konsantrasyonu ile *Strep. thermophilus* SH ekstraktının %25'lik konsantrasyonu ve *Lc. lactis subsp. lactis* SH ekstraktının % 50'lik konsantrasyonu en fazla inhibitör etkiyi göstermiştir (sırasıyla 21.07, 20.77 , 14.57 mg/L).

L. monocytogenes tarafından HDS'da AGM üretimi 38.83 mg/L olmuştur. SH ekstraktı AGM üretiminde kaydadeğer azalma gösterirken, en yüksek inhibitör etki *P. acidophilus* ve *Lc. lactis subsp. lactis* SH ekstraktının %50'lik konsantrasyonunda gözlenmiştir (sırasıyla 25.76 ve 27.42 mg/L).

TMA *L. monocytogenes* tarafından HDS'de en düşük seviyede üretilen aminlerden birisi olup, SER ve DOP üretimi yaklaşık 100 mg/L olmuştur. *L. monocytogenes* tarafından TRPT ve PHEN üretimi sırasıyla 53.25 ve 266.90 mg/L olmuştur. SH ekstraktları genel olarak bu aminlerin üretiminde inhibitör etki gösterirken, SPN ve SPD üretimini artırdıkları bulunmuştur. *L. monocytogenes* HDS'da SPN üretme yeteneğine sahip olmaz iken, SH ekstraktları, *L. monocytogenes* tarafından 28 mg/L'in üzerinde SPN üretimine yol açmıştır. Trevino ve ark. (1993) yaptıkları bir çalışmada starter kültür olarak kullandıkları *Pediococcus pentosaceus* ve *Staphylococcus carnosus*' un yüksek miktarda TYR, SPN, PUT ve SPD ürettiklerini, diğer aminleri ise üretmediklerini belirlemişlerdir.

4.2.1.4.Tirosin Dekarboksilaz Sıvısında *Listeria monocytogenes*'ın Amonyak ve BA Üretimi

L. monocytogenes'in TDS'de BA üretimi Çizelge 4.5.'de verilmiştir. *L. monocytogenes* tarafından TDS'de üretilen AMN miktarı bakımından önemli farklılıklar gözlenmiştir ($P<0.05$). *L. monocytogenes* *Lc. lactis subsp. lactis* SH ekstraktının % 50'lik konsantrasyonuna sahip muamele grubu oldukça yüksek miktarda AMN üretme yeteneğine sahip olmuştur (1432.77 mg/L). SH ekstraktı uygulaması *L. monocytogenes* tarafından üretilen AMN miktarını önemli düzeyde düşürmüştür. AMN üretimi bakımından SH ekstraktları arasında da önemli farklılıklar bulunmuştur ($P<0.05$). AMN üretiminde *Leu. lactis subsp. cremoris* SH ekstraktının %25'lik konsantrasyonu

Çizelge 4.5. Laktik asit bakterileri serbest hücre ekstraktı ile muamele edilen *L. monocytogenes*'in tirozin dekarboksilaz sıvısı içerisinde amonyak ve biyojen amin üretimi (mg/L).

Gruplar	AMN	PUT	KAD	SPD	TRPT	PHEN	SPN	HİS	SER	TYR	TMA	DOP	AGM
Kontrol	1432.77 ^b (843.55)	827.17 ^a (17.25)	57.25 ^e (3.12)	49.67 ^e (2.65)	3.79 ^e (0.13)	96.53 ^b (2.80)	395.48 ^c (14.759)	15.51 ^f (0.29)	24.21 ^f (1.56)	367.54 ^b (13.18)	119.26 ^b (5.87)	811.82 ^e (19.83)	229.52 ^e (10.25)
PASHE %25	906.38 ^e (25.17)	248.71 ^b (5.15)	39.18 ^d (1.27)	135.58 ^{cd} (4.00)	14.65 ^b (1.87)	122.49 ^a (3.26)	445.54 ^b (18.83)	27.57 ^{cd} (1.24)	159.75 ^e (2.23)	358.72 ^{bc} (8.83)	1.21 ^e (0.02)	1418.09 ^e (35.57)	502.17 ^c (7.24)
PASHE %50	1727.27 ^a (59.45)	233.24 ^{bc} (7.23)	103.00 ^a (83.98)	204.93 ^a (6.71)	8.34 ^d (0.47)	131.30 ^a (5.88)	219.43 ^d (13.77)	27.07 ^{cd} (1.01)	118.14 ^e (3.89)	162.51 ^e (8.05)	7.14 ^d (0.65)	2397.00 ^d (66.84)	394.42 ^d (15.699)
STSHE %25	727.97 ^{fg} (15.00)	212.82 ^{cd} (5.41)	38.28 ^d (2.23)	114.04 ^e (4.23)	15.93 ^b (0.86)	89.07 ^{bc} (9.57)	367.32 ^c (37.57)	38.42 ^a (0.75)	109.48 ^e (8.89)	386.66 ^b (14.44)	5.72 ^e (0.30)	4774.79 ^b (83.69)	377.68 ^e (9.99)
STSHE %50	1313.41 ^c (62.57)	211.72 ^{cd} (9.33)	39.78 ^d (1.96)	142.29 ^{bc} (9.34)	12.99 ^c (0.12)	76.37 ^d (4.52)	491.39 ^a (3.19)	29.43 ^b (1.05)	178.92 ^c (8.90)	332.85 ^c (2.72)	19.13 ^b (1.20)	2304.32 ^d (94.159)	427.33 ^{cd} (7.689)
LACSHE %25	1059.86 ^d (33.78)	230.66 ^{bc} (9.89)	37.54 ^d (5.03)	129.94 ^d (3.82)	15.50 ^b (0.53)	76.07 ^d (2.02)	484.60 ^a (10.04)	25.85 ^d (0.08)	250.37 ^b (4.97)	582.42 ^a (20.93)	21.84 ^b (0.35)	8101.12 ^a (68.74)	572.63 ^{ab} (14.14)
LACSHE 50	760.40 ^{fg} (14.73)	183.52 ^e (5.39)	75.13 ^b (3.79)	151.35 ^b (5.58)	44.11 ^a (1.59)	86.81 ^{bcd} (1.25)	494.53 ^a (3.56)	28.07 ^c (0.52)	183.37 ^c (5.69)	226.95 ^e (6.95)	18.39 ^b (0.21)	3619.74 ^e (88.62)	595.48 ^a (27.13)
LEUSHE %25	704.95 ^e (18.90)	198.14 ^{ab} (8.29)	32.67 ^d (0.60)	107.29 ^f (3.67)	4.83 ^e (0.10)	85.71 ^{cd} (1.89)	173.61 ^e (5.97)	22.15 ^e (0.70)	321.71 ^a (5.58)	602.20 ^a (16.57)	11.60 ^c (1.77)	751.63 ^e (12.69)	282.87 ^{de} (7.97)
LEUSHE %50	814.96 ^f (21.62)	121.84 ^f (6.85)	25.28 ^e (0.71)	97.04 ^f (0.28)	8.51 ^d (0.08)	77.71 ^d (1.33)	179.28 ^e (14.06)	37.94 ^a (0.63)	174.86 ^c (2.45)	294.10 ^d (8.35)	8.33 ^d (0.11)	1237.95 ^f (16.96)	344.05 ^{cd} (2.12)

PASHE: *Pedococcus acidophilus* serbest hücre ekstraktı; STSHE: *Streptococcus thermophilus* serbest hücre ekstraktı), LACSHE: *Lc.lactic* subsp. *lactic* serbest hücre ekstraktı, LEUSHE: *Leuonstoc.lactis* subsp. *cremoris*, %25: 75 IDB+%25 spesifik laktik asit bakterisi serbest hücre ekstraktı. %50: %50 TDB+%50 spesifik laktik asit bakterisi serbest hücre ekstraktı. AMN:amonyak, PUT:putresin, KAD:kadaverin, SPD:spermidin, TRPT:triptamin, PHEN:2-feniletilamin, SPN:spermin, HIS:histamin, SER:serotonin, TYR:tiramin, TMA:trimetilamin, DOP:dopamin, AGM:agmatin.Aynı sütundaki satırlar üzerinde belirtilen farklı harfler (^{a-b}) gruplar arasında istatistik olarak farklılıklar: (P<0.05) göstermektedir. ^a:ortalama, ^b: standart sapma.

(704.95 mg/L), diğer SH ekstraktlarına göre daha fazla inhibitör etki göstermiştir. *P. acidophilus* SH ekstraktının % 25'lik konsantrasyonu ile *Lc. lactis subsp. lactic* SH ekstraktının %50 konsantrasyonu (sırasıyla 727.97, 760.40 mg/L) istatistik olarak AMN üretiminde benzer inhibitör etki göstermiştir. AMN üretiminde en az etkili grup, *Strep. thermophilus* SH ekstraktının %50'lik konsantrasyonu bulunurken, *P. acidophilus* SH ekstraktının % 50'lik konsantrasyonunun AMN üretim miktarını artırdığı bulunmuştur (1727.27 mg/L).

L. monocytogenes tarafından PUT üretimi 827 mg/L olmuştur. SH ekstraktları PUT üretiminde kaydadeğer azalma gösterirken muamele gruplarından en fazla etkiyi *Leu. lactis subsp. cremoris* SH ekstraktının %50 konsantrasyonu göstermiştir (121.84 mg/L). *Lc. lactis subsp. lactic* SH ekstraktının ve *Leu. lactis subsp. cremoris* SH ekstraktlarının %25'lik konsantrasyonlarının da önemli düzeyde etkili olduğu bulunmuştur (sırasıyla 183.52 ve 198.14 mg/L).

L. monocytogenes'in TDS' da 367.54 mg/L TYR üretme yeteneğine sahip olduğu bulunmuştur. *L. monocytogenes* ve muamele grupları tarafından üretilen TYR miktarı bakımından önemli farklılıklar gözlenmiştir ($P<0.05$). SH ekstraktı uygulaması ile TYR üretimindeki en fazla düşüş *Lc. lactis subsp. lactic* SH ekstraktının % 50 konsantrasyonu (226.95 mg/L) tarafından gözlenmiştir. *P. acidophilus* SH ekstraktı ile *Strep. thermophilus* SH ekstraktının % 25'lik TYR üretimi üzerinde benzer etkiye sahip olmuştur.

L. monocytogenes tarafından KAD üretimi 57.25 mg/L olarak bulunmuştur. KAD miktarında en yüksek inhibisyon etki *Leu. lactis subsp. cremoris*'den elde edilen SH ekstraktlarının %50 konsantrasyonunda gözlenmiştir. *P. acidophilus* SH ekstraktının %50 konsantrasyonu *L. monocytogenes* tarafından KAD üretimini artırmıştır.

Test edilen bütün patojen bakteriler arasında en yüksek SPN üretimi *L. monocytogenes* tarafından TDS'da gerçekleşmiştir. *Strep. thermophilus* SH ekstraktları *L. monocytogenes* tarafından SPN üretimini artırmıştır. *L. monocytogenes* tarafından SPD, TRPT, PHEN, SER, TMA ve DOP üretimi sırasıyla 49.67, 3.79, 96.53, 24.21 ve 811.82 mg/L bulunmuştur. LAB üyeleri SH ekstraktları genel olarak bu aminlerin üretiminde inhibitör etki gösterirken SPD üretimini artırdıkları bulunmuştur.

4.2.1.5.Histidin Dekarboksilaz Sıvısında *Staphylococcus aureus*'un Amonyak ve BA Üretimi

Staph. aureus'un HDS'de BA üretimi Çizelge 4.6.'da verilmiştir. *Staph. aureus*'un HDS'da üretilen AMN miktarı bakımından önemli farklılıklar gözlenmiştir ($P<0.05$) *S.aureus* oldukça yüksek miktarda AMN üretme yeteneğine sahip olmuştur (3771.32 mg/L). SH ekstraktı uygulaması *Staph. aureus* tarafından üretilen AMN miktarını önemli düzeyde düşürmüştür. AMN üretimi bakımından SH ekstraktları arasında da önemli farklılıklar bulunmuştur ($P<0.05$). AMN üretiminde *Lc. lactis subsp. lactic* SH ekstraktı dışında, LAB SH ekstraktlarının %50'lik konsantrasyonları %25'lik konsantrasyonlara göre daha az etkili olduğu bulunmuştur. En yüksek AMN üretimindeki düşüş, *Lc. lactis subsp. lactic* SH ekstraktının %50'lik konsantrasyonunda yaklaşık 10 kat düşüş olduğu gözlenmiştir (403.63 mg/L). *P. acidophilus* ve *Leu. lactis subsp. cremoris* SH ekstraktlarının %25'lik konsantrasyonları AMN üretiminde (sırasıyla 498.98 ve 563.92 mg/L) benzer etkiye sahip olmuştur. AMN üretimini engellemede *P. acidophilus* SH ekstraktının %50'lik konsantrasyonu en az etkiye sahipken (1091.30 mg/L), *Leu. lactis subsp. cremoris* SH ekstraktının %50'lik konsantrasyonu benzer etki gösterdiği bulunmuştur (1003.35 mg/L).

Staph. aureus HDS'de test edilen tüm aminleri üretmiş olup, HİS ve PUT en yüksek oranda üretilen aminler olmuştur. *Staph. aureus* HDS'de BA üretimi bakımından önemli farklılıklar gözlenmiştir ($P<0.05$).

Staph. aureus HDS'de 7330.66 mg/L HİS üretmiştir. *Staph aureus*'ın ürettiği HİS miktarı bakımından muamele grupları arasında önemli farklılıklar gözlenmiştir ($P<0.05$). SH ekstraktları arasında HİS miktarını en fazla baskılayan grup, *Leu. lactis subsp. cremoris* SH ekstraktı (her iki konsantrasyon) ve *P. acidophilus* SH ekstraktının %50'lik konsantrasyonu olmuştur. HİS üretiminde en az etki *Strep. thermophilus* SH ekstraktının %25'lik konsantrasyonunda (28.40 mg/L) ve bunu takiben *P. acidophilus* SH ve *Lc. lactis subsp. lactic* SH ekstraktının %25'lik konsantrasyonunda görülmüştür (sırasıyla 15.50 ve 15.52 mg/L).

Staph. aureus HDS'de önemli düzeyde PUT üretme yeteneğine sahip olmuştur (1050.59mg/L). SH ekstraktları PUT üretiminde kaydedeğer azalma görülmüştür

Çizelge 4.6. Laktik asit bakterileri serbest hücre ekstraktı ile muamele edilen *S. aureus*'un histidin dekarboksilaz sıvısı içerisinde amonyak ve biyojen amin üretimi (mg/L)

Gruplar	AMN	PUT	KAD	SPD	TRPT	PHEN	SPN	HIS	SER	TYR	TMA	DOP	AGM
Kontrol	3771.32 ^a (50.31)	1050.59 ^a (43.87)	67.34 ^a (0.34)	199.01 ^b (8.72)	133.87 ^a (2.53)	455.14 ^a (17.58)	169.31 ^a (0.64)	7330.66 ^a (3.75)	44.01 ^{cd} (1.00)	245.13 ^b (10.16)	17.02 ^a (0.00)	115.20 ^c (8.72)	40.26 ^a (2.87)
PASHE %25	498.98 ^{fg} (31.38)	183.40 ^{cd} (16.43)	13.71 ^e (0.09)	60.65 ^e (4.38)	11.14 ^b (0.20)	50.09 ^c (3.17)	32.88 ^c (2.50)	15.52 ^c (0.40)	43.64 ^{cd} (3.13)	57.04 ^d (3.14)	5.05 ^d (0.08)	100.58 ^{ad} (8.59)	16.90 ^e (0.55)
PASHE %50	1091.30 ^b (34.38)	396.25 ^b (10.79)	28.22 ^c (2.98)	127.75 ^b (10.05)	7.94 ^{cd} (0.38)	74.17 ^b (5.79)	43.56 ^d (6.87)	6.56 ^{cd} (0.06)	63.41 ^b (4.11)	57.71 ^d (2.91)	4.24 ^d (0.94)	80.69 ^e (4.03)	19.60 ^e (2.86)
STSHE %25	629.39 ^f (12.08)	220.23 ^e (9.71)	41.43 ^c (0.04)	107.15 ^c (5.85)	9.11 ^{bc} (0.13)	89.17 ^b (3.07)	65.84 ^b (2.04)	28.40 ^b (3.28)	80.90 ^c (4.66)	98.18 ^b (6.44)	8.72 ^b (0.01)	141.73 ^b (11.78)	34.20 ^b (0.27)
STSHE %50	761.34 ^e (14.40)	157.07 ^{ce} (8.54)	19.67 ^f (0.68)	87.38 ^d (5.57)	3.93 ^e (0.51)	55.59 ^c (5.29)	36.90 ^{de} (1.67)	10.23 ^{de} (0.10)	47.56 ^b (1.40)	56.92 ^d (5.25)	9.54 ^b (0.59)	241.39 ^a (12.78)	38.13 ^a (0.16)
LACSHE %25	870.84 ^d (12.45)	224.88 ^e (2.10)	45.67 ^b (2.74)	102.45 ^c (7.32)	6.44 ^d (0.17)	77.09 ^b (1.22)	57.79 ^c (0.53)	15.50 ^c (0.16)	57.55 ^c (2.84)	77.21 ^c (5.79)	6.59 ^c (0.31)	108.70 ^{cd} (0.85)	39.22 ^a (0.06)
LACSHE %50	403.63 ^h (29.45)	134.56 ^e (0.00)	33.51 ^d (1.88)	47.86 ^e (2.05)	7.86 ^{cd} (0.31)	46.05 ^c (2.98)	32.10 ^e (0.28)	11.74 ^{cd} (0.16)	39.99 ^a (1.03)	30.80 ^f (1.51)	2.48 ^e (0.00)	90.90 ^{de} (2.59)	23.79 ^d (0.27)
LEUSHE %25	563.92 ^{fg} (21.04)	198.02 ^{cd} (17.71)	10.41 ^e (2.15)	56.78 ^a (0.39)	0.65 ^f (0.92)	55.17 ^c (3.06)	13.45 ^f (0.24)	5.40 ^f (0.88)	37.34 ^u (0.88)	47.20 ^{de} (1.72)	4.89 ^d (1.42)	111.79 ^c (7.36)	29.45 ^c (1.11)
LEUSHE %50	1003.35 ^e (67.67)	122.36 ^a (11.47)	17.82 ^f (1.74)	75.41 ^d (3.33)	0.38 ^f (0.11)	27.81 ^d (1.44)	42.77 ^d (5.98)	6.80 ^{de} (0.22)	37.59 ^d (4.60)	44.37 ^e (2.33)	2.69 ^e (0.04)	135.11 ^b (5.07)	31.84 ^c (0.74)

PASHE: *Pedococcus acidophilus* serbest hücre ekstraktı; STSHE: *Streptococcus thermophilus* serbest hücre ekstraktı; LACSHE: *L. lactis* subsp. *lactis* serbest hücre ekstraktı; LEUSHE: *Lemnastoc. lactis* subsp. *cremoris*. %25: 75 TDB+%25 spesifik laktik asit bakterisi serbest hücre ekstraktı. %50: %50 TDB+%50 spesifik laktik asit bakterisi serbest hücre ekstraktı. AMN:amonyak, PUT:putresin, KAD:kadaverin, SPD:spermidin, TRPT:triptamin, PHEN:2-feniletamin, SPN:spermin, HIS:histamin, SER:serotonin, TYR:tiramin, TMA:trimetilamin, DOP:dopamin, AGM:agmatin.Aynı sütundaki satırlar üzerinde belirtilen farklı harfler (^a–^h) gruplar arasında istatistikî olarak farklılıkları (P<0.05) göstermektedir. ^u:ortalama, %: standart sapma.

($P < 0.05$). *P. acidophilus* SH ekstraktı hariç bütün LAB SH ekstraktlarının % 50'lik konsantrasyonu %25'lik konsantrasyona göre daha fazla inhibitör etki göstermiştir. PUT üretiminde *P. acidophilus* SH ekstraktının %50' lik konsantrasyonunun inhibitör etkisi (396.25 mg/L) %25 konsantrasyonuna göre (183.40 mg/L) daha düşük olmuştur.

Staph. aureus tarafından HDS'de PUT üretimi *Leu. lactis subsp. cremoris*, *Lc. lactic subsp. Lactic* ve *Strep. thermophilus* SH ekstraktlarının % 50'lik konsantrasyonlarında en düşük oranda bulunmuştur. *P. acidophilus* SH ekstraktının %50 konsantrasyonu ile PUT üretimini en az etkileyen grup olmuştur. *P. acidophilus* ile *Leu. lactis subsp. cremoris* SH ekstraktları (sırasıyla 183.40 ve 198.02 mg/L) PUT üretiminde aynı düzeyde baskılama göstermiştir. Pereira ve ark. (2001) çeşitli kaynaklardan izole ettikleri iki farklı *Lactobacillus* üyesi ile yaptıkları çalışmada bu üyelerin ve az da olsa ornitin aminoasitinden PUT üretme yeteneğine sahip olduğunu rapor etmişlerdir.

Staph. aureus, KAD üretme yeteneğine sahip olmuştur (67.34 mg/L). Bütün SH ekstraktları KAD miktarını önemli düzeyde düşürmüştür. *P. acidophilus* ve *Leu. lactis subsp. cremoris* SH ekstraktlarının aksine *Strep. thermophilus* ve *Lc. lactic subsp. lactic* SH ekstraktlarının %25'lik konsantrasyonları %50'lik konsantrasyonlardan daha fazla inhibitör etki gösterdiği bulunmuştur. *Staph. aureus* tarafından HDS'de KAD üretimine *Leu. lactis subsp. cremoris* ve *Strep. thermophilus* SH ekstraktlarının %50'lik konsantrasyonları en fazla inhibitör etki göstermiştir (sırasıyla 19.67 ve 17.82 mg/L). *Lc. lactis subsp. lactic* SH ekstraktının %25'lik konsantrasyonu ise 45.67. mg/L ile en az etkili bulunmuştur

Staph. aureus'un AGM üretimi 40.26 mg/L olarak bulunmuştur. SH ekstraktlarını içeren muamele grupları arasında AGM üretiminde farklılıklar gözlenmiştir ($P < 0.05$). AGM üretimine en fazla inhibitör etkiyi *P. Acidophilus* SH ekstraktının %50'lik konsantrasyonu 16.90 mg/L göstermiştir. AGM üretiminde en az etkili *Strep. thermophilus* SH ekstraktının %25'lik konsantrasyonu 34.20 mg/L bulunurken, *Strep. thermophilus* SH ekstraktının %50'lik konsantrasyonu ile *Lc. lactic subsp. lactic* SH ekstraktının %25'lik konsantrasyonunda AGM miktarı aynı düzeyde olup kontrolle farklılık göstermediği bulunmuştur.

Staph. aureus tarafından HDS'da önemli düzeyde TYR üretmiştir. LAB üyelerinin hepsi yaklaşık aynı seviyede ama kayda değer inhibitör etki göstermiştir.

Staph. aureus tarafından HDS'de SPD, TRPT, PHEN, SPN, SER, TMA ve DOP üretimi sırasıyla olmuştur(199.01, 133.87, 455.14, 169.31, 44.01, 12.07 ve 115.20 mg/L). LAB üyeleri SH ekstraktları genel olarak bu aminlerin üretiminde inhibitör etki gösterirken DOP ve SER üretimini artırdıkları bulunmuştur.

4.2.1.6.Tirosin Dekarboksilaz Sıvısında *Staphylococcus aureus*'un Amonyak ve BA Üretimi

LAB SH ekstraktının *Staph. aureus* TDS'de BA Üretimi Çizelge 4.7.'de verilmiştir. SH ekstraktlarını içeren muamele grupları tarafından üretilen AMN miktarında önemli farklılıklar gözlenmiştir ($P<0.05$). *Staph. aureus* önemli düzeyde AMN üretme yeteneğine sahip olmuştur (1314.99 mg/L). AMN üretimi bakımından SH ekstraktları arasında da önemli farklılıklar bulunmuştur ($P<0.05$). AMN üretiminde *Strep. thermophilus* SH ve *Lc. lactis subsp. lactic* SH ekstraktının %50'lik konsantrasyonlarının AMN üretimini artırdığı bulunmuştur (sırasıyla 1623.27 ve 1381.16 mg/L). *Strep. thermophilus* ve *Leu. lactis subsp. cremoris* SH ekstraktının %25. konsantrasyonları (674.58 ve 684.12 mg/L) AMN üretiminde en fazla düşüş sergilemiştir.

Staph. aureus'un TDS'da 584.91 mg/L TYR ürettiği bulunmuştur. Muamele grupları tarafından üretilen TYR miktarı bakımından çok önemli farklılıklar gözlenmiştir ($P<0.05$). *P. acidophilus* SH ekstraktının her iki konsantrasyonunu içeren muamele grubu dışında diğer LAB üyeleri serbest hücre ekstraktlarının % 50'lik konsantrasyonları TYR üretiminde artışa sebep olduğu bulunmuştur. TYR üretimindeki en fazla artış *Strep. thermophilus* ve *Lc. lactis subsp. lactic* SH ekstraktının %50'lik konsantrasyonlarında gözlenmiştir (sırasıyla 900.25 ve 767.79 mg/L). Bover-Cid ve ark (1999) çalışmalarında *Lb. curvatus*, *Lb. brevis* and *Lb. buchinneri* özellikle TYR üretme ve bazı LAB üyelerinin ise HİS üretme yeteneğine sahip olduklarını rapor etmişlerdir.

Çizelge 4.7. Laktik asit bakterileri serbest hücre ekstraktı ile muamele edilen *S. aureus*' un tirozin dekarboksilaz sıvısı içerisinde amonyak ve biyojenik amin üretimi (mg/l).

Gruplar	AMN	PUT	KAD	SPD	TRPT	PHEN	SPN	HIS	SER	TYR	TMA	DOP	AGM
Kontrol	1314.99 ^b (49.16)	1034.72 ^b (21.74)	83.27 ^a (4.45)	54.72 ^f (2.59)	0.00 ^b (0.00)	130.09 ^b (7.33)	622.73 ^{ab} (17.88)	28.65 ^{abc} (0.64)	136.90 ^{ef} (17.13)	584.91 ^e (7.34)	136.38 ^g (3.01)	710.71 ^a (15.77)	290.71 ^e (6.33)
PASHE %25	947.48 ^c (53.20)	197.27 ^e (9.97)	32.75 ^c (3.80)	113.88 ^d (8.30)	0.00 ^b (0.00)	84.23 ^c (4.60)	645.02 ^a (23.77)	5.65 ^{de} (0.38)	121.16 ^{bc} (4.11)	281.56 ^f (12.25)	19.78 ^d (0.43)	3941.97 ^d (60.02)	580.55 ^b (13.75)
PASHE %50	892.28 ^{cd} (57.30)	184.77 ^e (7.57)	25.62 ^c (1.38)	94.33 ^e (4.63)	0.00 ^b (0.00)	72.62 ^c (3.67)	329.71 ^b (31.97)	16.07 ^{bcde} (1.64)	101.38 ^{gh} (7.61)	157.97 ^g (7.42)	7.79 ^e (0.63)	2004.72 ^f (90.56)	250.59 ^f (4.04)
STSHE %25	684.12 ^{ef} (14.5)	227.72 ^f (4.45)	37.29 ^{cd} (2.04)	124.03 ^d (5.97)	0.00 ^b (0.00)	122.60 ^b (7.41)	308.89 ^b (17.96)	30.69 ^{ab} (19.46)	210.49 ^c (12.98)	437.55 ^d (10.27)	16.58 ^e (0.13)	4364.90 ^b (38.60)	578.85 ^b (15.67)
STSHE %50	1623.27 ^a (53.76)	366.89 ^b (17.62)	87.60 ^a (3.38)	202.85 ^a (9.39)	0.00 ^b (0.00)	153.02 ^a (3.80)	525.43 ^{ab} (11.89)	1.12 ^e (0.15)	175.29 ^d (13.50)	900.25 ^b (14.98)	38.53 ^b (1.58)	5130.50 ^a (56.57)	958.11 ^a (20.36)
LACSHE %25	755.83 ^{ef} (27.57)	370.21 ^b (15.39)	41.20 ^c (1.26)	163.52 ^e (7.29)	0.00 ^b (0.00)	121.18 ^b (0.54)	550.81 ^{ab} (22.76)	40.14 ^a (1.05)	245.08 ^b (6.43)	350.63 ^c (16.99)	9.87 ^e (0.76)	3366.93 ^e (96.86)	464.28 ^c (11.66)
LACSHE 50	1381.16 ^b (32.93)	272.43 ^e (12.67)	72.91 ^b (6.64)	187.59 ^b (7.11)	0.00 ^b (0.00)	131.54 ^b (4.80)	315.87 ^b (15.86)	19.04 ^{bcd} (2.24)	345.23 ^a (14.69)	767.79 ^b (16.25)	27.50 ^e (1.37)	4077.00 ^e (46.54)	418.19 ^d (13.65)
LEUSHE %25	674.58 ^f (17.42)	275.23 ^e (8.74)	31.55 ^c (2.57)	124.75 ^b (3.11)	0.00 ^b (0.00)	79.69 ^c (4.75)	312.58 ^b (7.41)	12.62 ^{cde} (0.24)	158.24 ^{de} (8.07)	298.88 ^f (1.74)	13.46 ^f (0.11)	1224.30 ^f (38.33)	299.84 ^e (5.70)
LEUSHE %50	837.73 ^{de} (47.52)	211.23 ^{de} (2.33)	35.47 ^d (1.46)	114.28 ^a (2.39)	8.32 ^a (0.24)	76.18 ^c (3.98)	398.97 ^{ab} (3.87)	12.89 ^{cde} (0.21)	81.63 ^b (2.74)	460.52 ^b (3.83)	13.66 ^f (5.25)	908.90 ^h (8.15)	311.30 ^e (11.68)

PASHE: *Pediococcus acidophilus* serbest hücre ekstraktı; STSHE: *Streptococcus thermophilus* serbest hücre ekstraktı; LACSHE: *Lc.lactis* subsp. *lactis* serbest hücre ekstraktı; LEUSHE: *Leuostoc. lactis* subsp. *cremoris*; %25: 75 TDB+%25 spesifik laktik asit bakterisi serbest hücre ekstraktı. AMN:amonyak, PUT:pürresin, KAD:kadaverin, SPD:spermidin, TRPT:triptamin, PHEN:2-feniletamin, SPN:spermin, HIS:histamin, SER:serotonin, TYR:tiyamin, TMA:trimetilamin, DOP:dopamin, AGM:agmatin.Aynı sütündeki satırlar üzerinde belirtilen farklı harfler (^{ab}) gruplar arasında istatistiksel olarak farklılıkları (P<0.05) göstermektedir. ^x:ortalama, ^y: standart sapma.

Staph. aureus'un 1034.72 mg/L PUT ürettiği gözlenmiştir. SH ekstraktları içeren muamele gruplarında PUT üretiminde kaydadeğer azalma görülmüştür. ($P<0.05$). *Lc. lactis subsp. lactic* ve *Strep. thermophilus* SH ekstraktı muamele gruplarının %25'lik konsantrasyonları %50'lik konsantrasyonlarına göre PUT üretiminde daha fazla inhibitör etki göstermiştir. *Lc. Lactic subsp. lactic* ile *Strep. thermophilus* SH ekstraktının %25'lik konsantrasyonları TYR üretiminde inhibitör etki gösterirken aynı LAB üyelerinin %50'lik SH ekstrakt konsantrasyonları PUT miktarı bakımından %25'lik konsantrasyona göre artış gösteren gruplar olmuşlardır.

P. acidophilus SH ekstraktının iki konsantrasyonu ve *Leu. lactis subsp. Cremoris* SH ekstraktının %50'lik konsantrasyonu PUT üretiminde yüksek inhibitör etki gösteren muamele grupları olmuştur (sırasıyla 197.27, 184.77 ve 211.23 mg/L).

Staph. aureus tarafından KAD üretimi 83.27 mg/L olarak bulunmuştur. Bütün LAB üyeleri SH ekstraktlarının, *Strep. thermophilus* SH ekstraktının %50'lik konsantrasyonu 87.60 mg/L dışında KAD üretiminde kaydadeğer inhibitör etki gösterdikleri bulunmuştur. ($P<0.05$). En fazla inhibitör etki *P. acidophilus* ve *Leu. lactis subsp. cremoris* SH ekstraktının %50'lik konsantrasyonları (sırasıyla 32.75 ve 25.62 ve 31.55 mg/L) KAD miktarıyla gözlenmiştir. *Lc. Lactic subsp. lactic* ekstraktının %50'lik konsantrasyonu %25'lik konsantrasyona göre KAD miktarını artırdığı gözlenmiştir.

Staph. Aureus 'un TDS'da AGM üretimi 290.71 mg/L olarak bulunmuştur. SH ekstraktlarını içeren muamele gruplarının AGM üretiminde farklılıklar gözlenmiştir. ($P<0.05$). Bütün LAB SH ekstraktları muamele grupları AGM miktarı bakımından önemli düzeyde artış gösterdikleri bulunmuştur. En fazla *Strep. thermophilus* SH ekstraktının %50'lik konsantrasyonu AGM miktarını artırdığı gözlenmiştir (958.11 mg/L).

S. aureus tarafından TDS'de yukarıda bahsedilen AMN ve BA'ların yanında diğer BA'de (SPD, TRPT, PHEN, SPN, SER, TMA ve DOP) ürettiği gözlenmiştir. LAB üyeleri SH ekstraktları muamele gruplarının bu aminlerin üretiminde önemli düzeyde farklılıklar gözlenmiştir ($P<0.05$). LAB üyeleri SH ekstraktları genel olarak bu aminlerin üretiminde inhibitör etki gösterirken DOP ve SER üretimini artırdıkları bulunmuştur.

Bütün LAB üyelerinin DOP üretiminde artışa neden olduğu *Strep. thermophilus* SH ekstraktının %50'lik konsantrasyonu çok yüksek artış gözlenmiştir (5130.50 mg/L).

4.2.1.7.Histidin Dekarboksilaz Sıvısında *E.coli*'in Amonyak ve BA Üretimi

LAB üyelerinden elde edilen SH ekstraktının *E. coli*'nin HDS'de AMN ve BA üretimi Çizelge 4.8.'de verilmiştir. *E. coli* ve SH ekstraktlarını içeren muamele grupları tarafından üretilen AMN miktarında önemli farklılıklar gözlenmiştir ($P<0.05$). *E. coli* oldukça yüksek miktarda AMN üretme yeteneğine sahip olmuştur (5394.25 mg/L).

LAB SH ekstraktı uygulaması *E. coli* tarafından üretilen AMN miktarını önemli düzeyde düşürmüştür. AMN üretimi bakımından LAB SH ekstraktları arasında da önemli farklılıklar bulunmuştur ($P<0.05$). *P. acidophilus* SH ekstraktının %25'lik konsantrasyonu ile *Strep. thermophilus* SH ekstraktının %50'lik konsantrasyonu AMN üretiminde en fazla düşüşe yol açan gruplar olmuştur (sırasıyla 675.55 ve 527.30 mg/L). En az inhibitör etkiyi ve *Leu. lactis* subsp. *cremoris* SH ekstraktının %50'lik konsantrasyonu göstermiştir (1039.70 mg/L). *Lc. lactis* subsp. *lactic* SH ekstraktının her ki konsantrasyonu aynı düzeyde inhibitör etki göstermiştir (722.06 ve 721.02 mg/L) .

E. coli, HDS' de 11163.53 mg/L HİS üretme yeteneğine sahip olmuştur. *E. coli* ve muamele grupları tarafından üretilen HİS miktarı bakımından çok önemli farklılıklar gözlenmiştir ($P<0.05$). Muamele grupları *E coli*'nin HİS üretimini yaklaşık 1000 kat düşürmüştür. Muamele grupları arasında en fazla HİS üretimindeki düşüş *P. acidophilus* SH ekstraktının %50'lik konsantrasyonunu içeren muamele grubunda, olmuştur (1.14 mg/L). HİS miktarında en az düşüş LEU SH ekstraktının %50'lik konsantrasyonunu içeren muamele grubunda olmuştur (32.65 mg/L). *P. acidophilus* *Strep. thermophilus*, *Lc. lactic subsp. Lactic* ve *Leu. lactis subsp. cremoris* SH ekstraktlarının sırasıyla %25, %50, %50 ve %25'lik konsantrasyonları HİS üretimi bakımından benzer inhibitör etki göstermişlerdir (sırasıyla 19.34, 15.60, 14.96 ve 19.46 mg/L). *E. coli*' nin HDS 'de PUT üretimi 1529.08 mg/L olup, muamele grupları PUT üretiminde kayda değer azalma gösterirken muamele gruplarından en fazla inhibitör etkiyi *P. acidophilus* SH ekstraktının %25'lik konsantrasyonu göstermiştir (741 mg/L).

Çizelge 4.8. Laktik asit bakterileri serbest hücre ekstraktı ile muamele edilen *E. coli*'nin histidin dekarboksilaz sıvısı içerisinde amonyak ve biyojenik amin üretimi (mg/L).

Gruplar	AMN	PUT	KAD	SPD	TRPT	PHEN	SPN	HIS	SER	TYR	TMA	DOP	AGM
Kontrol	5394.25 ^a (4.48)	1529.08 ^a (4.39)	199.40 ^a (2.20)	186.38 ^a (6.97)	54.86 ^b (2.82)	539.03 ^a (6.91)	13.70 ^e (0.23)	11163.53 ^a (25.96)	1.45 ^e (0.47)	5.84 ^f (6.56)	3.99 ^{de} (0.49)	33.57 ^e (0.52)	22.00 ^f (0.36)
PASHE %25	675.55 ^e (13.78)	227.77 ^b (9.58)	30.67 ^c (0.77)	109.72 ^c (16.999)	9.22 ^{de} (0.24)	100.28 ^b (5.92)	138.64 ^b (11.04)	19.34 ^{bcd} (0.51)	62.13 ^b (2.08)	84.39 ^c (6.35)	3.22 ^e (0.31)	99.75 ^{cd} (6.17)	21.86 ^f (0.76)
PASHE %50	749.56 ^d (13.19)	128.74 ^f (5.28)	12.91 ^f (0.60)	74.62 ^d (4.00)	1.41 ^f (0.04)	38.84 ^e (2.46)	15.05 ^e (0.48)	1.14 ^d (0.56)	47.43 ^d (2.41)	33.74 ^c (2.57)	4.90 ^d (0.10)	157.04 ^b (14.52)	20.01 ^f (0.10)
STSHE %25	909.10 ^c (0.00)	162.74 ^{de} (0.00)	19.05 ^e (0.00)	85.68 ^d (0.00)	1.59 ^f (0.00)	48.44 ^f (0.00)	16.40 ^e (0.00)	7.29 ^{cd} (0.00)	45.34 ^d (0.00)	43.15 ^d (0.00)	4.41 ^d (0.00)	46.07 ^e (0.00)	36.77 ^e (0.00)
STSHE %50	527.30 ^f (20.05)	208.22 ^c (8.13)	24.93 ^d (1.12)	88.87 ^d (6.37)	6.88 ^e (0.06)	75.73 ^d (5.50)	48.76 ^d (1.58)	15.60 ^{bcd} (1.65)	52.09 ^d (2.26)	87.57 ^{bc} (4.24)	7.20 ^e (0.13)	106.57 ^{cd} (89.37)	33.20 ^d (0.33)
LACSHE %25	722.06 ^{de} (35.26)	157.44 ^e (4.14)	22.99 ^{de} (5.71)	118.06 ^{bc} (4.45)	9.31 ^{de} (1.82)	102.88 ^b (3.52)	66.30 ^c (4.12)	26.63 ^{bc} (1.39)	104.36 ^c (6.93)	94.12 ^b (1.53)	17.30 ^a (1.34)	92.31 ^d (1.92)	52.70 ^a (1.76)
LACSHE 50	721.02 ^{e,d} (1.03)	213.16 ^{bc} (5.50)	27.62 ^{cd} (1.31)	91.04 ^d (2.77)	60.60 ^a (1.01)	97.94 ^b (1.05)	165.45 ^a (0.12)	19.46 ^{bcd} (1.52)	80.60 ^b (5.54)	125.95 ^a (4.31)	3.07 ^e (0.13)	111.84 ^c (4.93)	33.86 ^d (0.20)
LEUSHE %25	786.67 ^d (47.94)	210.25 ^e (9.93)	32.32 ^{bc} (1.53)	108.60 ^e (8.53)	23.22 ^e (0.31)	87.15 ^e (3.84)	42.27 ^d (3.30)	14.96 ^{cd} (0.52)	65.42 ^e (2.37)	81.81 ^c (1.56)	0.94 ^f (0.08)	175.54 ^a (5.16)	29.36 ^e (0.94)
LEUSHE %50	1039.70 ^b (51.86)	177.34 ^d (7.94)	37.51 ^b (1.98)	127.39 ^b (2.45)	10.27 ^d (0.22)	64.19 ^e (2.17)	63.56 ^c (2.12)	32.65 ^b (2.08)	68.23 ^c (2.66)	81.3 ^c (2.28)	13.53 ^b (0.26)	180.89 ^a (8.96)	46.35 ^b (1.33)

PASHE: *Pediococcus acidophilus* serbest hücre ekstraktı; STSHE: *Streptococcus thermophilus* serbest hücre ekstraktı; LACSHE: *Lc.lactis* subsp. *lactis* serbest hücre ekstraktı, LEUSHE: *Leuostoc. lactis* subsp. *cremoris*. %25: 75 TDB / %25 spesifik laktik asit bakterisi serbest hücre ekstraktı. %50: %50 TDB-%50 spesifik laktik asit bakterisi serbest hücre ekstraktı. AMN:amonyak, PUT:putresin, KAD:kadaverin, SPD:spermidin, TRPT:riptamin, PHEN:2-feniletiamin, SPN:spermin, HIS:histamin, SER:serotonin, TYR:tiramin, TMA:trimetilamin, DOP:dopamin, AGM:agmatin.Aynı situndaki satırlar üzerinde belirtilen farklı harfler (^{a,b}) gruplar arasında istatistik olarak farklılıkları (P<0.05) göstermektedir. ^a:ortalama, ^b: standart sapma.

PUT üretiminde, *P. acidophilus* SH ekstraktının % 25 konsantrasyonu ve *Lc. lactic subsp. lactic* SH ekstraktının %50'lik konsantrasyonu en az etkili olmuştur (sırasıyla 227.77, 213.16 mg/L). *Strep. thermophilus* SH ile *Leu. lactis subsp. cremoris* SH ekstraktlarının %50'lik ve %25'lik konsantrasyonları PUT üretiminde benzer inhibitör etki göstermiştir.

HDS'de *E. coli*'nin KAD üretimi 199.40 mg/L olarak bulunmuştur. Muamele grupları *E. coli*'nin KAD üretiminde önemli düzeyde inhibitör etki gösterdikleri bulunmuştur.

E. coli tarafından AGM üretimi 22.00 mg/L olup, muamele gruplarında AGM üretimi bakımından farklı inhibitör etkiler gözlenmiştir. AGM miktarında en fazla düşüş *P. acidophilus* SH ekstraktının her iki konsantrasyonunu içeren muamele grubunda olmuştur (21.86 ve 20.01 mg/L). Ancak, *Lc. lactic subsp. lactic* SH ekstraktının %25'lik konsantrasyonu AGM üretiminde önemli artışa neden olmuştur (52.70 mg/L).

E. coli'nin HDS' de çok az düzeyde TYR üretildiği gözlenmiştir (5.84 mg/L). Ancak LAB üyeleri SH ekstraktlarını içeren muamele grupları TYR üretimini önemli düzede artırmıştır. TYR üretiminde en yüksek artış *Lc. lactic subsp. lactic* SH ekstraktının %50'lik konsantrasyonunu içeren muamele grubunda gözlenmiştir (125.95 mg/L). Masson ve ark. (1996), bazı LAB üyelerinin dekarboksilaz aktivitesine sahip olduğunu ve genellikle TYR ürettiğini rapor etmişlerdir. Bu sonuç bizim çalışmamızdaki TYR artışına açıklık getirmektedir.

E. coli tarafından HDS'de SPD, TRPT, PHEN, SPN, SER, TMA ve DOP üretimi sırasıyla 186.38, 54.86, 539.03, 13.70, 1.45, 3.99 ve 33.57 mg/L olmuştur. LAB üyeleri SH ekstraktlarının bu aminlerin üretimi üzerindeki etkisi önemli düzeyde farklılıklar göstermiştir ($P<0.05$). LAB üyeleri SH ekstraktlarını içeren muamele gruplarının DOP ve SER üretimini artırdıkları bulunmuştur.

4.2.1.8. Tirosin Dekarboksilaz Sıvısında *E.coli*'in Amonyak ve BA Üretimi

E. coli'nin TDS'de AMN ve BA Üretimi Çizelge 4.9.'da verilmiştir. *E. coli* ve muamele grupları tarafından TDS 'de üretilen AMN miktarı bakımından önemli farklılıklar gözlenmiştir ($P<0.05$) *E. coli* oldukça yüksek miktarda AMN üretme

Çizelge 4.9. Laktik asit bakterileri serbest hücre ekstraktı ile muamele edilen *E. coli*'nin tirozin dekarboksilaz sıvısı içerisinde amonyak ve biyojenik amin üretimi (mg/L).

Gruplar	AMN	PUT	KAD	SPD	TRPT	PHEN	SPN	HIS	SER	TYR	TMA	DOP	AGM
Kontrol	1362.07 ^a (50.20)	638.68 ^a 13.16	48.37 ^{bc} 2.26	55.29 ^d 1.79	0.00 ^c 0.00	142.28 ^b 4.01	578.72 ^b 10.02	20.32 ^{bc} 0.52	97.01 ^f 4.43	2167.25 ^a 53.36	70.63 ^a 0.94	512.93 ^a 9.33	137.76 ^e 45.89
PASHE %25	624.13 ^d (20.74)	192.07 ^{fe} (0.57)	27.12 ^e (1.78)	103.76 ^e 1.82	32.85 ^a 2.20	82.79 ^f 3.94	246.49 ^f 63.45	11.16 ^{cd} 13.60	221.36 ^e 36.21	351.13 ^e 39.08	12.03 1.86 ^d	2491.90 ^d 59.76	296.70 ^{cd} 14.21
PASHE %50	927.35 ^e (36.12)	267.99 ^e (16.87)	37.27 ^d (1.55)	144.69 ^b 0.75	11.60 ^b 0.67	108.04 ^e 3.50	529.59 ^{bc} 15.85	2.72 ^d 0.24	129.52 ^{ef} 8.15	354.38 ^e 22.56	7.74 ^f 0.94	2838.50 ^c 67.34	491.48 ^{ab} 3.84
STSHE %25	1017.66 ^b (25.04)	379.23 ^b (7.26)	57.70 ^a (4.23)	186.28 ^a 14.16	0.00 ^c 0.00	170.74 ^c 5.82	269.21 ^{ef} 4.14	50.44 ^a 1.86	136.60 ^a 9.33	969.24 ^b 23.46	19.53 ^e 0.62	2893.65 ^c 29.22	603.02 ^a 7.33
STSHE %50	897.25 ^e (37.31)	178.12 ^f (9.68)	42.54 ^{bcd} (1.05)	143.62 ^b 6.33	0.00 ^c 0.00	115.37 ^{de} 8.08	1905.95 ^b 177.14	23.3 ^b 1.96	286.10 ^b 8.35	738.61 ^e 9.99	7.02 ^f 0.06	6120.44 ^a 72.47	524.74 ^{ab} 20.69
LACSHE %25	1090.35 ^b (41.63)	216.84 ^e (4.05)	49.68 ^b (0.10)	164.16 ^b (2.84)	6.53 ^{bc} 0.10	117.91 ^{de} 1.13	449.30 ^d 7.58	0.13 ^d 0.01	323.56 ^a 4.02	423.92 ^d 10.86	16.84 ^e 0.30	3058.69 ^b 50.42	431.15 ^{bc} 186.88
LACSHE 50	689.00 ^d (28.84)	204.20 ^{ef} (3.31)	52.90 ^{ab} (0.94)	143.73 ^b (19.42)	8.45 ^{bc} 11.95	127.82 ^c 18.74	329.66 ^e (28.67)	21.59 ^{bc} (0.35)	253.40 ^{bc} (4.45)	190.63 ^f (7.21)	10.02 ^d (0.04)	1742.42 ^c (4.95)	246.63 ^{de} (15.55)
LEUSHE %25	446.76 ^e 12.41	237.42 ^d (8.31)	49.23 ^{bc} (6.30)	70.80 ^d (4.18)	0.00 ^c (0.00)	65.37 ^{bc} (5.07)	75.00 ^a (2.52)	5.71 ^d (0.08)	185.48 ^d (16.01)	182.95 ^f (1.92)	10.97 ^{de} (0.28)	1535.78 ^f (36.21)	253.81 ^{de} (15.63)
LEUSHE %50	1019.14 ^b (17.55)	197.90 ^{de} (6.12)	53.83 ^{ab} (3.81)	148.33 ^b (7.86)	4.06 ^{bc} (0.07)	121.29 ^{cd} (4.28)	467.63 ^{cd} (36.68)	0.00 ^d (0.00)	255.42 ^{bc} (18.38)	299.83 ^e (3.51)	32.39 ^b (3.59)	383.04 ^b (11.20)	498.82 ^{ab} (6.64)

PASHE: *Pediacoccus acidophilus* serbest hücre ekstraktı; STSHE: *Streptococcus thermophilus* serbest hücre ekstraktı, LACSHE: *Lc lactis* subsp. *lactic* serbest hücre ekstraktı, LEUSHE: *Leuostococcus lactis* subsp. *eremoris* %25: 75 TDB+%25 spesifik laktik asit bakterisi serbest hücre ekstraktı. %50: %50 TDB+%50 spesifik laktik asit bakterisi serbest hücre ekstraktı. AMN:amonyak, PUT:putresin, KAD:kadaverin, SPD:spermidin, TRPT:triptamin, PHEN:2-feniletülin, SPN:spermin, HIS:histamin, SER:serotonin, TYR:tiramin, TMA:trimetülin, DOP:dopamin, AGM:agmatin.Aynı sütündeki satırlar üzerinde belirtilen farklı harfler (^{a-b}) gruplar arasında istatistiksel olarak farklılıkları (P<0.05) göstermektedir. ^o:ortalama, ^v: standart sapma.

yeteneğine sahip olmuştur (1362.07 mg/L). SH ekstraktı uygulaması *E. coli* tarafından üretilen AMN miktarını önemli düzeyde düşürmüştür. AMN üretimi bakımından SH ekstraktları arasında da önemli farklılıklar bulunmuştur ($P<0.05$). *Leu. lactis subsp. cremoris* SH ekstraktının %25'lik konsantrasyonu, AMN üretimini en fazla düşüren grup olmuştur (446.76 mg/L). AMN üretiminde *Strep. thermophilus* SH ekstraktlarının %25'lik konsantrasyonu ile *Leu. lactis subsp. cremoris* SH ekstraktının %50'lik konsantrasyonu en az düşüşe sebep olmuştur (1017.66 ve 019.14 mg/L). Diğer muamele grupları kayda değer inhibitör etki göstermiştir. *P. acidophilus* ve *Lc. lactic subsp. lactic* SH ekstraktının ekstraktlarının sırasıyla %25'lik ve %50'lik konsantrasyonları benzer inhibitör etki göstermiştir (sırasıyla 624.13 ve 689.00 mg/L).

E. coli TDS'de TRPT dışında test edilen bütün aminleri üretmiştir. TDS'de *E. coli* tarafından en yüksek miktarda üretilen aminler sırasıyla TYR ve PUT olmuştur. *E. coli* TDS' de 2167.25 mg/L TYR ürettiği bulunmuştur. *E. coli* ve muamele grupları tarafından üretilen TYR miktarı bakımından çok önemli farklılıklar gözlenmiştir ($P<0.05$). Muamele grupları TYR üretiminde yaklaşık 10 kat düşüş göstermiştir. Muamele grupları arasında en fazla TYR üretimindeki düşüş, *Lc. lactic subsp. lactic* SH ekstraktı ile *Leu. lactis subsp. cremoris* SH ekstraktının sırasıyla %50'lik ve %25'lik konsantrasyonlarını içeren muamele gruplarında gözlenmiştir (sırasıyla 182.95, 299.83 ve mg/L). TYR üretiminde bir diğer düşüş *P. acidophilus* SH ekstraktı ile *Leu. lactis subsp. cremoris* %50'lik konsantrasyonunda sırasıyla gözlenmiştir. *Strep. thermophilus* SH ekstraktlarının %25'lik konsantrasyonu HİS üretimi bakımından en az düşüş göstermiştir (969.24 mg/L). *E. coli* 'nin HDS' de 638.68 mg/L PUT ürettiği bulunmuştur. *E. coli* ve SH ekstraktına sahip muamele grupları tarafından üretilen PUT miktarında önemli düzeyde farklılıklar bulunmuştur ($P<0.05$). LAB üyeleri SH ekstraktları PUT üretiminde yaklaşık 3 kat düşüşe yol açmıştır. PUT üretiminde en yüksek düşüş *Strep. thermophilus* SH ekstraktlarının %50'lik konsantrasyonu ve *P. acidophilus* SH ekstraktının %25'lik konsantrasyonunda gözlenmiştir (sırasıyla 178.12 ve 192.07 mg/L). PUT üretiminde en az inhibitör etki ise *Strep. thermophilus* SH ekstraktlarının %25'lik konsantrasyonunu içeren muamele grubunda gözlenmiştir.

E. coli tarafından TDS’de SPD, PHEN, SPN, SER, TMA ve DOP üretimi sırasıyla 55.29, 142.28, 578.72, 97.01, 70.63 ve 512.93 mg/L olmuştur. *E. coli*’nin amin üretiminde SH ekstraktlarının etkisi farklılıklar göstermiştir ($P<0.05$). LAB üyeleri

DOP ve SER üretiminde önemli düzeyde artışa yol açmıştır. *Strep. thermophilus* SH ekstraktının %50’lik konsantrasyonu en yüksek DOP üretimine neden olan grup olmuştur.

4.3.Patojenlerin Biyojenik Amin Üretme Yeteneklerine Göre Sınıflandırılması

Patojenlerin HDS’de BA, TMA, AMN üretme yetenekleri yukarıda ayrıntılı olarak anlatılmasına karşın burada sadece HİS üretme yetenekleri bakımından değerlendirilmiştir. Araştırmada kullanılan 4 farklı patojen mikroorganizmanın amin üretimi ortalama konsantrasyon değerleri mg/L olarak ölçüldü. Her bir bakteri tarafından amin üretimi (HİS ve TYR) basit tanımlamayla dört kategoride değerlendirildi (Çizelge 4.10 ve 4.11). BA üretimi 1000 mg/L ve üzeri olan bakteriler profilik amin üreticiler, 100-1000 mg/L olan bakteriler iyi amin üreticiler, 10-100 mg/L amin üretenler orta amin üreticiler ve 10 mg/L’den az amin üreten bakteriler ise zayıf amin üreticiler kategorisinde değerlendirilmiştir (Özoğul, 2004).

Çizelge 4.10. Bakterilerin histamin üretme yeteneklerine göre sınıflandırılması (mg/L)

Biyojenik Amin Üretici	Profilik Amin Üretici	İyi Derecede Amin Üretici	Orta Derecede Amin Üretici	Zayıf Derecede Amin Üretici
<i>S. paratyphi</i>	10387.53	-	-	-
<i>L. monocytogenes</i>	7722.01	-	-	-
<i>Staph. aureus</i>	7330.66	-	-	-
<i>E. coli</i>	11163.53	-	-	-

Özoğul (2004), 15 bakteri türünü HİS üretme yeteneklerine göre değerlendirmişler ve *M. morgani* (10466) and *K. pneumoniae* (673) türlerinin >3400 mg/L HİS üretim oranları ile profilik; *H. alvei*’nin (11999) 115 mg/L değer ile iyi HİS üreticileri olarak tanımlamıştır.

Çizelge 4.11. Bakterilerin tiramin üretme yeteneklerine göre sınıflandırılması (mg/L)

Biyojenik Amin Üretici	Profilik Amin Üretici	İyi Derecede Amin Üretici	Orta Derecede Amin Üretici	Zayıf Derecede Amin Üretici
<i>S. paratyphi</i>	5955.86	-	-	-
<i>L. monocytogenes</i>	-	367.54	-	-
<i>Staph. aureus</i>	-	584.91	-	-
<i>E. coli</i>	2167.25	-	-	-

Özoğul (2004), aynı çalışmasında aynı bakteri türlerinin TDS'de amin üretme yeteneklerini incelemiştir. Bütün türlerin tirosin amino asidi dekarboksile etme yeteneğine sahip olmasına karşın, en yüksek TYR üretiminin 526 mg/L olarak *E. faecalis* (iyi amin üreticisi) ve bu bakteriyi takiben *Micrococcus* spp. ve *K. pneumoniae* (2122) (orta amin üreticisi) türlerinde olduğu bulunmuştur.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Bu çalışmada in vitro koşullarda LAB üyelerinden elde edilen serbest hücre (SH) ekstraktlarının patojen mikroorganizmaların gelişimi ve iki farklı amino asit (histidin ve tirozin) sıvı besiyerinde amonyak ve biyojenik amin (BA) üretimine etkileri tespit edilmiştir ve sonuçlar aşağıda belirtilmiştir.

1. LAB üyeleri SH ekstraktları bakteri gelişimini önemli düzeyde inhibe etmiştir ($P<0.05$). En yüksek inhibisyon etkiyi *Staph. aureus* için *Strep. thermophilus*'dan ve *S. paratyphi* A için *Leu. mes. subsp. cremoris* ve *Lc. lactic subsp. Lactic*'ten elde edilen SH ekstraktları göstermiştir (12.33 mm zon çapı).

2. Histidin dekarboksil sıvısında (HDS) *S. paratyphi*, *L. monocytogenes*, *Staph.aureus* ve *E.coli* tarafından histamin üretimi sırasıyla 10387.537, 722.01, 7330.66 ve 11163.53 mg/L olmuştur. Tirozin dekarboksil sıvısında (TDS) bu bakteriler tarafından tiramin üretimi 367.54 ile 5955.86 mg/L arasında değişkenlik göstermiştir. Yine LAB üyeleri SH ekstraktlarının patojenler tarafından önemli düzeyde üretilen AMN ve BA oluşumuna yüksek düzeyde inhibisyon etki gösterdiği bulunmuştur ($P<0.05$).

3. Patojenlerin HDS' de histamin üretimi sonuçlarına LAB üyelerinin SH ekstraktları yaklaşık %99 oranında inhibisyon etki gösterdiği gözlenmiştir. HDS'de patojenlerin düşük miktarlarda TYR ürettikleri ve LAB üyelerinin SH ekstraktlarının *E. coli* dışında TYR üretimini artırdıkları gözlenmiştir.

4. LAB üyeleri SH ekstratlarının, TDS'de *S. paratyphi* A ve *E. coli*'nin TYR üretimini yaklaşık %90 inhibe ettiği gözlenirken, *L. monocytogenes* ve *S. aureus*'un TYR üretimini artırdıkları gözlenmiştir. Ayrıca TDS' de aynı bakterilerin HİS ürettikleri ve LAB üyeleri SH ekstraktlarının HİS üretimini artırdıkları gözlenmiştir.

5.2. Öneriler

1. Ticari gıda ürünlerinde BA oluşumunu engellemek için, bu ürünlere negatif aminoasit dekarboksilaz aktivesine sahip starter kültür eklenmesi önemli olmaktadır. Gıdalarda negatif aminoasit dekarboksilaz starter kültür kullanımı ile proteolitik ve dekarboksilaz pozitif mikroorganizmaların gelişimi engellenerek, amin üretimi önlenmektedir. Bu konu ile ilgili LAB üyelerinin biyojen amin üretme yetenekleri bakımından incelenmesi yapılabilir.

2. Biyojen aminler, proteince zengin ve fermente gıda maddelerinin üretimi, işlenmesi ve depolanması sırasında oluşabilen ve çok fazla miktarlarda gıdalarla alındığında toksik etkilere sebep olabilen maddelerdir. Bu nedenle gıda endüstrisinde istenmeyen pozitif aminoasit dekarboksilaz mikroorganizmaların önlenmesi bakımından bu konu ile daha fazla çalışma yapılabilir.

3. Kontaminant laktik asit bakterilerinin de fermente gıdalarda histamin ve tiramin oluşumu ile ilişkili oldukları belirtilmektedir. Balık ve balık ürünleri gibi BA oluşma riski bulunan gıdaların üretim ve depolanmasında bu aminlerin oluşumu kontrol altına alınmalıdır. Bu konu ile daha fazla çalışma yapılabilir.

4. Doğal koruyucu özelliği ile biyoteknolojik öneme sahip LAB üyeleri günümüzde önemi giderek artmakta olan ve üzerinde bilimsel çalışmaların ivme kazandığı bir konudur. Laktik asit bakterilerinin pek çok üyesinin doğal bir koruyucu gıda maddesi bakteriyosin ürettiği bilinmektedir. *Lactococcus lactis* tarafından üretilen nisin yüksek verimliliği, toksik olmaması ve insan sağlığına herhangi bir etkisi bulunmadığı yapılan pek çok bilimsel araştırmalarda ortaya konulmuştur. Bu nedenle gıdalarda güvenle kullanılabilir. Dünyada yaklaşık 50 ülkede gıdalarda doğal antimikrobiyal katkı maddesi olarak kullanımına izin verilen nisin bakteriyosinidir. Bu doğal antimikrobiyal maddelerin ticari ürün olarak üretilip satılması şu an sadece nisin (E234) ve natamisin (E235) gıda katkı maddeleri literatüründe yer almaktadır. Nisin, bazı ısıtma işlemi ile birlikte kullanıldığında, ısıtma işlemi maliyetinin azalmasına bağlı olarak proses masraflarının azalmasına, gıdaların lezzet, görüntü ve besin değerinin iyileşmesine yardımcı olmaktadır. Özellikle genetik yöntemler sayesinde daha geniş mikrobiyal spektruma ve daha fazla aktiviteye sahip olan modifiye nisin

molekülleri elde etmek mümkün olacaktır. Gelecek çalışmalarda, nisinin balık ve balık ürünlerini muhafaza etmede ve özellikle biyojenik amin oluşumunu engellemede önemli bir yere sahip olacağı düşünülmektedir. Bu nedenle LAB bakterilerinden elde edilen başta nisin olmak üzere antimikrobiyal maddelerle ilgili spesifik çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

6. Bizim çalışmamızın devamı olarak LAB üyelerinin serbest hücre ekstraktı ayrıştırılarak antimikrobiyal maddelerin tanımlanması yapılabilir. Özellikle bakteriyosin karakterizasyonu ile endüstriye spesifik biyokoruyucular kazandırılabilir ve bu konuyla ilgili çalışmalara ileride öncülük edebilir.

KAYNAKLAR

- ABABOUCHE L., AFILAL M.E., BENABDELJELIL H. AND BUSTA F.1991. Quantitative Changes in Bacteria, Amino-acids and Biogenic Amines in Sardine, Stored at Ambienttemperature (25°C) and in Ice. International Journal of Food Science and Technology, 26: 297-306.
- ABDEL-BAR, M.M., ABDEL, N.M., 1985. Purification and characterization of an antimicrobial substance produced by *Lactobacillus bulgaricus*. Dissertation Abs. -Int. -B. Sci. And Eng., 46, 1, 12, 202,
- ALBERTO M.R., ARENA M.E., MANCA DE NADRA M.C., 2002. A Comparative Survey of Two Analytical Methods for Identification and Quantification of Biogenic Amines. Food Control, 13: 125-129.
- AMMOR M. S.; FLOREZ A. B. MAYO B., 2007. Antibiotic Resistance in non enterococcal Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria Food Microbiol. 24:559-570.
- ARNOLD, S. H., W. BROWN, 1978. Histamine Toxicity from Fish Products. In Advances In Food Research, eds. C. O. Chishester, E. M. Mraak and G. F. Stewart, Academic Press. New York., 24: 113-154.
- ASHRAF M., ARSHAD M., SIDDIQUE M., MUHAMMAD1 G., 2009. In Vitro Screening Of Locally Isolated *Lactobacillus* Species For Probiotic Properties'' Pakistan Vet. J., 29(4): 186-190
- ASLIM B., BEYATLI Y., 2000 Yogurt Starter Kültür Metabolitlerinin İnhibisyon Etkisi Turk J Biol (24) 65–78
- AYHAN K., KOLSARICI N., ALSANCAK-ÖZKAN G., 1999. The Effects of Starter Culture on the Formation of Biogenic Amines in Turkish Soudjoucks, Meat Science, 53: 183-188.
- BAUMGART J., GENUIT A., MECKLENBURG D, PROEST P., 1979. Fleischwirtschaft 59:719.
- BAUER, VON F., SEUSS, I., PAULSEN P., AND VALI, S., 1994, The Formation of Biogenic Amines in Meat and Meat Products, ICMST 1994. S-V.25.

- BAUER, VON F., SEUSS, I., PAULSEN, P., VALI, S., 1994. Tyrosine and Histidine Activities of *Pediococcus Cereviciae* and *Lactobacillus* Species and the Production in Tyramine In Fermented Sausages, *J. Milk Food Technology*, 39(3): 166-169.
- BRINK T. B., DAMINK, C., JOOSTEN, H. M. L. J., HUIS IN'T VELD J. H. J., 1990. Occurrence and Formation of Biologically Activeamines in Foods. *Int. J. Food Microbiol.*, 111: 73-84..
- BROMBERG R., MORENO I., ZAGANINI C. L., DELBONI R. R., OLIVEIRA J., 2004. Isolation of bacteriosin-Producing Lactic Acid Bacteri from Meat Products and Its Spectrum of Inhibitory Activity. *Brazi J Microbiol*, 35: 137-144.
- BODMER, S., IMARK, C., KNEUBÜHL, M. 1999. Biogenic amines in foods: Histamine and food processing. *Inflamm. Res.*, 48: 296-300.
- BONADE, A., MURELLI, F., VESCOVO, M., SCOLARI, G., 2001. Partial characterization of a bacteriocin produced by *Lactobacillus helveticus*. *Letters in Applied Microbiol.*, 33, 153-158.
- BOVER-CÍD S., HOLZAPFEL W. H., 1999. Improved Screening Procedure for Biogenic Amine Production by Lactic Acid Bacteria, *International Journal of Food Microbiology*, 53:
- BUSTO O., VALERO, Y., GUASCH, J. and BORULL, F., 1994, Solid Phase Extraction Applied to The Determination of Biogenic Amines, in *Wines by HPLC, Chromatography*, 38(9-10): 571-578
- COOLBORN A. F., 2005 Antibacterial qutification from lactic acid bacteria isolated from food sources and soil *Journal Of food thecnology* 3 (4):568-571 grace publications
- CHUNG H. J., TAY A., YOUSEF A. E., 2004. Inactivation of *Listeria Monocytogenes* Inculture and Sausage by Combinations of *Lactobacillus Casei* Cell Free Extract and Highpressure Processing (in preparation).
- CHUAYANA JR., E.L., PONCE, C.V., RIVERA, M.R.B., CABRERA, E.C., 2003. Antimicrobial activity of probiotics from milk products. *Phil. J. Microbiol. Dis.*, 32(2); 71-74.

- ÇOLAK, H. ve AKSU, H., 2002, Gıdalarda Biyojen Aminlerin Varlığı ve Oluşumunu Etkileyen Faktörler, YYÜ. Veterinerlik fakültesi Dergisi, 13 (1-2): 35-40.
- ÇON, A.H., GÖKALP, H.Y., 2000. Production of bacteriocin-like metabolites by lactic acid cultures isolated from sucuk samples. *Meat Science*, 55, 89-96.
- DAESCHEL M. A., PANNER MH., 1992 Hydrogen peroxide lactoperoxide systems, and reuterine, in food Biopreservative of microbial origin, Baco Raton, FL, 155.
- DELFINI C., 1989. *Sciences des Aliments* 9:41 Bodmer, S., Imark, C., Kneubühl, M. 1999. Biogenic amines in foods: Histamine and food processing. *Inflamm. Res.*, 48: 296-300.
- DELVES-BROUGHTON J., GASSON, M.J., 1994. Nisin, 99-131, *Natural Antimicrobial Systems and Food Preservation*, Dillon , V.M. and Board, R.G. (Eds.), CAB International ,Wallingford, Oxon.
- DELVES-BROUGHTON J., BLACKBURN P., EVANS R.J., HUGENHOLTZJ. (1996): Applications of the bacteriocin, nisin. *Ant. Van Leeuwen.*, 69, 193–202.
- DEVLIEGHIERE F, VERMEIREN L, DEBEVERE J. 2004. New preservation technologies: possibilities and limitations. *Int Dairy J*, 14: 273-285.
- DE VUYST, L., VANDAMME E. J., 1994. Antimicrobial Potential of Lactic Acid Bacteria. In: L. De Vuyst, and E. J. Vandamme (Eds.), *Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria*. Chapman and Hall, London., 91-142.
- DAESCHEL, M.A., 1989. Antimicrobial substances from lactic acid bacteria for use as food preservatives. *Food Technology*, 164-167
- DAESCHAEL, M.A., JUNG D.S., WATSON, B.T., 1991. Controlling Wine Malolactic Fermentations with Nisin and Nisin Resistant Strains of *Leuconostocoenos*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57: 601–603.
- DICKSON, J. S., ANDERSON, M. E., 1992. Microbiological decontamination of food animal carcasses by washing and sanitizing systems: A review. *J. Food Prot.* 55:133–140.

- DOBROGOSZ, W.J., TALARICO, T.L., 1989. Chemical characterization of an antimicrobial substance produced by *Lactobacillus reuteri*. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy*, 674-679.
- DUNNE C., MURPHY L., FLYNN S., O'MAHONY L., O'HALLORAN S., FEENEY M., MORRISSEY D., THORNTON G., FITZGERALD, G., DALY C., KIELY B., QUIGLEY E. M. M., O'SULLIVAN G. C., SHANAHAN F. and KEVIN, J., 1999. Probiotics: from Myth to Reality. Demonstration of Functionality in Animal Models of Disease and in Human Clinical Trials. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 76: 279-292.
- EDWARDS, R. A., SANDINE, W. E. 1981. Public health significance of amines in cheese. *J. Dairy Sci.*, 64: 2431-2438.
- EOM HJ, SEO DM, HAN NS., 2007. Selection of psychrotrophic. *Leuconostoc* spp. producing highly active dextransucrase from lactate fermented vegetables. *Int. j food microbial*. 117(1):61-67.
- EITENMILLER, DE SOUZA S., 1984. Enzymatic Mechanisms for Amine Formation in Fish. In: E.R. Ragelis, Editor, *Seafood Toxins*
- FULLER R., 1989. Probiotics in Man and Animals. *J. Appl. Bacteriol.* 66: 365–378.
- FURET, J. P., QUENEE, P., TAILLIEZ, P. 2004. Molecular quantification of lactic acid bacteria in fermented milk products using real-time quantitative PCR. *Int. Journal of Food Microbiology*. 97: 197- 207.
- FDA, 1996. Decomposition and Histamine in Raw, Frozen Tuna and Mahi-mahi, Canned Tuna and Related Species. *Compliance Policy Guides*, 7108(240): 540-525.
- FERNANDEZ-SALGUERO, J., I. M. MACKIE, 1987. Technical Note: Preliminary Survey of the Content of Histamine and Other Higher Amines in Some Samples of Spanish Canned Fish. *Int. J. Food Sci. Technol.* 22: 409-412.
- GOKOGLU N, VARLIK C., 1995 Sardalya konservelerinin histamin biyojen amini yönünden incelenmesi. *Gıda*; 5: 273-9.
- GILLILAND, S.E., 1990 Health and nutritional benefits from lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 87, 175-188.

- GILLILAND S.E., SPECK, M.L., 1977. Antagonistic action of *Lactobacillus acidophilus* toward intestinal and food borne pathogens in associative cultures. *Journal of Food Protection*, 40, 820-823.
- GOFF, J. H., BHUNIA A. K. and JOHNSON M. G., 1996. Complete Inhibition of Low-levels of *Listeria Monocytogenes* on Refrigerated Chicken Meat with Pediocin AcH Poured to Heat killed *Pediococcus Acidilactici* Cells. *J. Food Prot.* 59: 1187-1192.
- GREER, G. G. AND DILTS, B. D. 1995. Lactic acid inhibition of the growth of spoilage bacteria and cold tolerant pathogens on pork. *Int. J. Food Microbiol.* 25:141–151.
- HALASZ C., A., BARATH A., SARKADI L. S., HOLZAPFEL W., 1994. Biogenic Amines And Their Production By Mikroorganism In Food. *Trend. Food Sci. And Technol.*, 51: 42-49.
- HAMMAMI R., ZOUHIR A., BEN HAMIDA J., FLISS I., BMC, 2007. *Microbiology*, 7, 89.
- HAMMES, W. P. 1986. Starterkulturen in der Fleischwirtschaft. *Chem. Microbiol. Technol. Lebensm.* 9:131-143.
- HAN-CHING L, IN T, MAUGUIN S, MESCLE J-P., 1992. ‘Application of lactic acidfermentations’, in Hall G M, *Fish Processing Technology*, 1st edn, Glasgow, Blackie Academic and Professional, 193–211.
- HAVELKA, B., 1967. Role of the *Hafnia Bacteria* in the Rise of Histamine In Tuna Fish Meat *Cesk. Hygiene*, 12: 343-3
- HWANG, D. F., CHANG, S. H., SHIUA, C. Y. & CHAI, T., 1997. High Performance Liquid Chromatographic Determination of Biogenic Amines in Fish Implicated in Food Poisoning, *Journal of Chromatography B*, 693: 23-30.
- HERNANDEZ-JOVER T., IZQUIERDO-PULIDO M., VECIANA-NAGUES M. T., MARINE-FONT A., VIDAL- CAROU M. C., 1997b. Effect of Starter Cultures on Biogenic Amine Formation during Fermented Sausage Production, *Journal of Food Production*, 60(7): 825-830.

- HERNANDEZ-JOVER, T., IZQUIERDO-PULIDO, M., VECIANA-NOGUE'S, M.T., VIDAL-CAROU, M.C., 1996. Biogenic amine sources in cooked cured shoulder pork. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44, 3097– 3101
- HOLTEN C.H. ,1971 *Lactic Acid*. Verlag Chemble 428-423
- HORNERO-MENDEZ D, GARRIDO-FERNANDEZ A. 1997. Rapid High Performance Liquid Chromatography Analysis of Biogenic Amines in Fermented Vegetable Brines. *Journal of Food Protection*, 60(4): 414-419.
- HOLZAPFEL, W., GEISEN, R. VE SCHILLINGER, R.G.U., 1995. Biological preservation of foods with reference to protective cultures, bacteriocins and food-grade enzymes. *International Journal of Food Microbiology*, 24, 343-362.
- GILLILAND, S. E., M. L. SPECK. 1977. Use of the Ylinitex system for characterizing lactobacilli. *Appl. Envir. Microbiol* 33:1289-1292.
- GIRARD J.P., BUCHARLES C., 1992. Acid Fermentation. In Girard J.P. (Ed.) *Technology of Meat and Meat Products*.England Pp. 138-164.
- GIRAFFA, G., 2003. Functionality of Enterococci in Dairy Products. *Int.J.Food Microbiol.* 88:215-222.
- IZQUIERDO-PULIDO, M., VECIANA-NAGUES, M. T., VIDAL-CAROU, M. C., 1996, Ion-Pair High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Biogenic Amines in Meat and Meat Products, *Journal Agricultural Food Chemistry*, 44, 2710-2715.
- JAY J.M., 1982. Antimicrobial properties of diacetyl. *Applied and Environmental Microbiology*, 44, 3, 525-532
- JAY, J.M., 1992. *Modern Food Microbiology*. Chapman and Hall, London. 675 p.
- Jin Ho LZ, Abdullah YW N, Ali MA, Jalaludin S (1996). Antagonistic effects of intestinal *Lactobacillus* isolates on pathogens of Chicken.. *Lett. Appl. Microbiol.* 23: 67-71.
- JØRGENSEN, L.V., HUSS, H.H. (1998) Prevalence and growth of *Listeria monocytogenes* in naturally contaminated seafood. *Int J Food Microbiol* **42**, 127–131.

- JOHN RP, NAMPOOTHIRI KM, PANDEY A., 2007 Fermentative production of lactic acid from biomass: an overview on process developments and future perspectives. *Appl Microbiol Biotechnol* 74: 524-534.
- JOOSTEN HMLJ, VAN BOEKEL MAJS 1988. Condition Allowing The Formation Of Biogenic Amines In Cheese.IV.A Study Of The Kinetics Of Histamine Formation. *Neth.Milk Dairy J.*42 (1) 3-24
- JUNG, H.P.K., BJELDANES, L.F. 1979. Effects of cadaverine on histamine transport and metabolism in isolated gut sections of the guinea-pig. *Food Cosmetol. Toxicol.* 17:629-632.
- JUNG D.S., BODYFELT, F.W., DAWSCHEL, M.A., 1992. Influence of fat and emulsifiers on the efficacy of nisin inhibiting *Listeria monocytogenes* in fluid milk. *J. Dairy Sci.* 75, pp. 387–393
- KILIÇ, S., 2001. Süt Endüstrisinde Laktik Asi B bakterileri. Ege Üniversitesi Ziraat Fak. Yayınları No: 542, s: 421.
- KLAENHAMMER, T.R., 1988, Bacteriocins of lactic acid bacteria, *Biochemie*, 70,337- 349.
- KLAENHAMMER, T.R., 1993. Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiolgy Review*, 12, 39-86.
- KIM SH, AN H, PRICE RJ. 1999 Histamine formation and bacterial spoilage of albacore harvested off the U.S. northwest coast. *J Food Sci*; 64 (2): 340-5.
- KOMPRDA, T., NEZNALOVA, J., STANDARA, S., BOVER-CÍD, S., 2001. Effects of starter Culture and storage Temperature on the Content of Biogenic Amines in Dry Fermented Sausage Polican, *Meat Science*, 59, 267-276.
- LEROY, F., DE VUYST, L. 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends Food Sci. Technol.* 15: 67- 68.
- LEUSCHNER, R. G. K., HAMMES, P. W., 1998. Tyramine Degradation by Micrococci During Ripening of Fermented Sausages, *Meat Science*, 49 (3), 289-296.
- LEWUS CB, KAİSER A, MONTVILLE TJ. 1991. Inhibition of Food-Borne Bacterial Pathogens by Bacteriosins from Lactic Acid Bacteria Isolated from Meat. *App Environ Microbiol*, 57 (6): 1683-1688.

- LI, P., SHEN, Q., LIU, Z., FU, P., ZHOU, W. (2008), A Newly Isolated Strain *Pediococcus Parvulus* From Xuanwei Ham, A Traditional Chinese Fermented Meat Product. *Int.Food Sci. Thecnol.* 43(8):1387-1394
- LIAO, C. C., YOUSEF A. E., CHISM G. W., RICHTER E. R., 1994. Inhibition of *Staphylococcus Aureus* in Buffer, Culture Media and Foods By Lacidin A, a Bacteriocin Produced by *Lactobacillus Acidophilus* OSU133., *J. Food Safety.* 14: 87-101.
- LINDGREN, S. E., DOBROGOSZ W. J., 1990. Antagonistic Activities of Lactic Acid Bacteria in Food and Feed Fermentations. *FEMS Microbiol. Rev.* 87: 149-164.
- LÓPEZ SABATER EI, MORA VENTURA MT (1997) *J Food Safety* 17:13
- LOVENBERG W., 1973. Some Vaso And Psychoactive Substances in Food: Amines Stimulates Depressants and Hallucinogens. *Nation. Academy Sci., Washington, DC.*
- MAGNUSSON J, SCHNURER J. 2001. *Lactobacillus coryniformis* subsp. *coryniformis* strain Si3 produces a broad-spectrum proteinaceous antifungal compound. *App Environ Microbiol*, 67: 1-5.
- MAIJALA R., EEROLA S., LIEVONEN S., HILL P. and HIRVI T., 1995a. Formation of Biogenic Amines During Ripening of Dry Sausages as Affected by Starter Culture and Thawing Time of Raw Material, *Journal of Food Science*, 60 (6): 1187-1190.
- MAIJALA RL, EEROLA SH, AHO MA, HIRN JA. 1993. The Effect of GDL-induced pH decrease on the formation of biogenic amines in meat. *J Food Protect*; 56 (2): 125-9
- MASSON F., TALON R., MONTEL M. C., 1996. Histamine and Tyramine Production by Bacteria from Meat Products, *International Journal of Food Microbiology*, 32: 199-207.
- MUFANDAEDZA J. A, B.C. VILJOEN B, S.B. FERESU C, T.H. GADAGA (2006) Antimicrobial properties of lactic acid bacteria and yeast-LAB cultures isolated from traditional fermented milk against pathogenic *Escherichia coli*

- and *Salmonella enteritidis* strains *International Journal of Food Microbiology* 108 147 – 152
- NIELSEN, J. W., DICKSON J. S., CROUSE J. D., 1990. Use of Bacteriocin Produced by *Pediococcus Acidilactici* to Inhibit *Listeria Monocytogenes* Associated with Fresh Meat. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 2142-2145.
- NIETO-LOZANO, J.C., RAGUERA-USEROS, J.I., PELAEZ-MARTINEZ, M.C., DE LA TORRE, A.H., 2002. Bacteriocinogenic activity from starter cultures used in Spanish meat industry. *Meat Science*, 62, 237-243.
- OKEREKE A. and MONTVILLE T. J., 1991. Bacteriocin inhibition of *Clostridium botulinum* spores by lactic acid bacteria, *J. Food Prot.*, 54(5): 349-353. 1991.
- OYETAYO, V.O, ADETUYI, F.C., AKINYOSOYE, F.A., 2003. Safety and protective effect of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* used as probiotic agent in vivo. *African Journal of Biotechnology* Vol. 2 (11), pp. 448-452, ISSN 1684-5315 Academic Journals
- OZOGUL F., TAYLOR, K. D. A., QUANTICK, P., OZOGUL Y., 2002 , Biogenic Amines Formation in Atlantic Herring (*Clupea Harengus*) Stored Under Modified Atmosphere Packaging Using a Rapid HPLC Method. *International Journal Of Food Science and Technology*, 37: 515-522.
- OZOGUL, F., KULEY, E., OZOGUL, Y., 2004, Balık ve Balık Ürünlerinde Oluşan Biyojen Aminler, *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 21(3-4): 375-381.
- OZOGUL, F. (2011). Effects of specific lactic acid bacteria species on biogenic amine production by food-borne pathogen. *International Journal of Food Science and Technology* (In press).
- OZOGUL F., 2004. The Ability of Biogenic Amines and Ammonia Production by Single Bacterial Cultures. *Eur. Food Res. Technol.*, 219:465–469.
- OZOGUL F., POLAT, Y. OZOGUL, 2004. The Effects of Modified Atmosphere Packaging and Vacuum Packaging on Chemical, Sensory And Microbiological Changes of Sardines (*Sardina pilchardus*). *Food Chem.*, 85: 49-57.

- OZOGUL, F., OZOGUL, Y. (2007). The ability of biogenic amines and ammonia production by single bacterial cultures. *European Food Research Technology*, 225, 385–394.
- OZOGUL F., 2004. *Eur Food Res Technol* 219:465–469
- OKUZUMI, M., FUKUMOTO I., FUJII T., 1990. Changes in Bacterial Flora and Polyamines Contents During the Storage of Horse Mackerel Meat. *Bullet. Japanese Soc. Sci. Fish.*, 56 (8): 1307-1312.
- PHILIPS, C. A. 1999. The Epidemiology, Detection and Control of *Escherichia Coli* O157. *J. Sci. Food Agric.* 79: 1367–1381.
- PEREIRA C.I., M.T. BARRETO CRESPO , M.V. SAN ROMAO 2001 Evidence for proteolytic activity and biogenic amines production in *Lactobacillus curvatus* and *L. homohiochii*, *International Journal of Food Microbiology* (68) 211–216 Prieto B, Franco I, Urdiales R, Fresno JM, Carballo J (1998) *Alimenta* 290:55
- RAMMELSBERG, M., RADLER F., 1990. Antibacterial Polypeptides of *Lactobacillus* Species. *J. App. Bacteriol.* 69: 177–184.
- RATANAPIBULSAWAT C., KROUJKAEW P, KASETSART O. 2005 Screening and Characterization of Lactic Acid Bacteria Producing Antimicrobial Substance against *Staphylococcus aureus* *Journal (Natural Sciences)* 39:2 April
- RAY B., 1992. Bacteriocins of Starter Culture Bacteria as Food Biopreservatives: An Overview. In: B. Ray, And M. Daeschel (Eds.), *Food Biopreservatives of Microbial Origin*. Boca Raton, Florida, CRC Press., 177–205.
- RAY B. DAESCHEL MA.1994. Bacteriocins of starter culture bacteria In. *Natural Antimicrobials and Food Preservation*. VM Billon and RM Board (Eds), Cab_international, pp.133-165, Guilford. S
- RICE, S. L., EITENMILLER, R. R., KOEHLER, P. E. 1976. Biologically active amines in food: a review. *J. Milk Food Technol.*, 39: 353-358.
- RODRIGUEZ-JEREZ, J.J., MORA-VENTURA M.T., LOPEZ-SABATER E.I., HERNANDEZ-HERRERO M., 1994. Histidine, Lysine And Ornithine

- Decarboxylase Bacteria in Spanish Salted Semi-Preserved Anchovies. *J. Food Prod.*, 57(5): 784-791.
- ROIG-SAGUES A., EEROLA S., 1997. Biogenic Amines in Meat Inoculated with *Lactobacillus Sake* Starter Strains and an Amine-Positive Lactic Acid Bacterium, *Zitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung A*, 205: 227-231.
- ROSS RP, MORGAN S, HILL C (2002). Preservation and fermentation: past, present and future. *Int. J. Food Microbiol.* 92: 03-16.
- RUSSEL, A.D., HOGO, W.B. VE AYLIFFE, G.A.J., 1992. Principles and Practise of Disinfection, Preservation and Sterilization. Balckwell Science, Oxford.
- RYSER, E. T., and RICHARD J.A., 1992. Detection of Bacteriocin Activity in Bacteria Using hydrophobic Grid Membrane Filters. *Lett. Appl. Microbiol.* 14: 104–107.
- SALMINEN S., WRIGHT A., MORELLI L., MARTEA U, P., BRASSART D., DEVOS W. M., FONDEN R., SAXELIN M., COLLINS K., MOGENSEN G., BIRKEL S-E., MATTILA-SANDHOLM T., 1998. Demonstration of Safety of Probiotics, a Review *International Journal of Food Microbiology*, 44: 93–106.
- SANDINE, W.E., 1990 Roles Of Bifidobacteria And Lactobacilli In Human Health *Contemporary Nutrition*, 15 (1) General Mills Nutrition Department, General Mills Inc., Stacy, MN 55079, USA.
- SHALABY, A. R., 1996. Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Res. Int.*, 29 (7): 675-690.
- SAVADOGO A, CHEIK A.T.OUATTARA, IMAEL.H.N.BASSOLE, ALFRED S.TRAORE, 2004 Antimicrobial Activites of Lctic Acid Bacteria Strains Isoled from Burkina Faso Fermented Pakistan *Journal of Nutrition* 3(3):174-179
- SCHLEGEN HG., 1986. *General Microbiology.*, Cambridge University Press, Cambridge,587.
- SCHLEIFER, K. H., EHRMANN, M., BEIMFOHR, C., BROCKMANN, E., LUDWIG, W., AMANN, R. 1995. Application of molecular methods for the

- classification and identification of lactic acid bacteria. *Int. Dairy Journal*. 5: 1081- 1094.
- SCHILLINGER U., LUCKE FK. 1989. Antibacterial Activity of *Lactobacillus sake* Isolated from Meat. *App Environ Microbiol*, 55 (8): 1901-1906.
- SOOMRO A.H., MASUD J., ANWAAR K., 2002. Role of Lactic Acid Bacteria (LAB) in Food Preservation and Human Health. *Pakistan Nutrition* 1: 20.
- STRAUB BW, TICHACZEK PS, KICHERER M, HAMMES WP. 1994. Formation of tyramine by *Lactobacillus curvatus* LTH 972.Z. *Lebensmit. Unters. Forsch.*; 199: 9-12.
- SILLA-SANTOS, S. M. H., 1996. Biogenic Amines: Their Importance in Foods. *Int. J. Food Microbiol.*, 29: 213-231.
- SMITH JS, KENNEY PB, KASTNER CL, MOORE MM, 1993 Biogenic amine formation in fresh vacuum-packaged beef during storage at 10°C for 120 days. *J Food Protect*; 56 (6): 497-500.79
- SIMONETTA, A.C., CARRASCO, M.S. VE SCARINCI, H.E., 2002. Antibacterial activity of lactic acid bacteria isolated from Argentinian dairy products. *The Australian Journal of Dairy Technology*, 57, 1, 15-19.
- STRATTON JE, HUTKINS RW, TAYLOR SL. 1991 Biogenic amines in cheese and other fermented foods : A Review. *J Food Protect* ; 54 (6): 460-70.
- SUZZI G., GARDINÌ F., 2003, Biogenic Amines in Dry Fermented Sausages: A Review, *International Journal of Food Microbiology*, 88 (1): 41-54.
- TADESSE G, EPHRAÏM E, ASHENAFÌ M., 2005. Assessment of The Antimicrobial Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Borde and Shamita, Traditional Ethiopian Fermented Beverages, on Some foodborne Pathogens And Effect of Growth Medium on Their Inhibitory Activity. *The International Journal of Food Safety* 5: 13-20.
- TAGG, J. R., DAJANI A. S., WANNAMAKER L. W., 1976. Bacteriocins of Gram Positive Bacteria. *Bacteriol. Rev.* 40: 722-756.
- TAYLOR, S. L., GUTHERTZ L. S., LEATHERWOOD M., LIEBER E. R., 1979. Histamine Production by *Klebsiella pneumoniae* and an Incident of Scombroid Fish Poisoning. *App. Envir. Microbiol.*, 37 (2): 274-278.

- TAYLOR, S.L. 1986. Histamine Food Poisoning: Toxicology and clinical aspects. CRC Crit Rev. Toxicol. 17:91-117.
- TEKİNŞEN O.C., ATASEVER M., 1994. Süt Üretiminde Starter Kültür. Selçuk Üniv. Vet. Fak. Yayın Ünitesi, Konya. Sayfa
- TREVINO E., BEIL D. and STEINHART H., 1997b. Formation of Biogenic Amines During the Maturity Process of Raw Meat Products, for Example of Cervelat Sausage, Food Chemistry, 60 (4): 521-526.
- TOME E., TEIXEIRA P., GIBBS P.A. 2006. Anti-listerial inhibitory lactic acid bacteria isolated from commercial cold smoked salmon .Food Microbiology 23 399–405
- TURANTAS, F. VE ÖKSÜZ, A. 1998. Balık ve balık ürünlerinde biyojenik aminler ve amin üretiminde rol oynayan bakteriler. Gıda Teknolojisi. 3(5): 58-65.
- THOMAS LV. AND DELVES B. 2005. Nisin. In: Antimicrobials in Food. Davidson P.M. Sofos JN, Branen AL. (chief eds), Taylor & Francis Group, New York, pp. 237-275.
- TSAI, Y. H., LIN, C. Y., CHANG, S. C., CHEN, H. C., KUNG, H. F., WEI, C. I., 2005. Occurrence of Histamine and Histamine-Formingbacteria in Salted Mackerel in Taiwan. Food Microbiology, 22: 461–467.
- VAN NETTEN P., D.A.A. MOSSEL.; HUIS J.H.J.; IN ‘VELD T., 1996. Microbial Changes On Freshly Slaughtered Pork Carcasses Due To “Hot” Lactic Acid Decontamination. Journal of Food Safety 17 (1997) 89-111
- VARASIMHAN R., RADMANABON, V. D. and ULGANATHAN V., 1988. Role of Diacetyl in Microbial. Control. J. Ind. Vet., 63(3): 216-220.
- VECIANA-NOGUES MT, MARINE-FONT A, VIDAL-CAROU MC. Biogenic amines in fresh and canned Tuna. Effects of canning on biogenic amine contents. J Agric Food Chem 1997; 45 (11): 4324-8.
- VISSER R, HOLZAPFEL WH, BEZUIDENHOUT JJ, KOTZE JM. 1986. Antagonism of Lactic Acid Bacteria against Phytopathogenic Bacteria. App ENVIRON MICROBIOL, 52 (3): 552-555.
- VIGNOLO, G., PALACIOS, J., FARIAS, M.E., SESMA, F., SCHILLINGER, U., HOLZAPFEL, W., OLIVER, G., 2000. Combined effect of bacteriocins on

- the survival of various *Listeria* species in broth and meat system. *Current Microbiology*, 41, 410-416.
- VOIGT, M. N., EITENMILLER, R. R. 1977. Production of tyrosine and histidine decarboxylase by dairy-related bacteria. *J. Food Prot.*, 40(4): 241-245. 6.
- WOOD, B.J.B., HOLZAPFEL, W.H., 1995. *The Lactic Acid Bakteria*, Volume 2, The Genera of Lactic Acid Bacteria, Chapman & Hall, London, 398s.
- WURZIGER, J., DICKHAUT, G. 1978. Zur Lebensmittelrechtlichen Beurteilung von Histamin' in Fischen., *Fischerzubereitungen.Fleischwirtschaft*. (6): 989-994.
- YATSUNAMI K., ECHIGO T., 1993. Studies on Halotolerant and Halophilic Histamine-Forming Bacteria. III. Changes in the Number of Halotolerant Histamine-Forming Bacteria And Contents of Non-Volatile Amines in Sardine Meat with Addition of Nacl. *Bul. Japanese Soc. Sci. Fish.*, 59(1): 123-127.
- YONGJIN HU WENSHUI XIA CHANGRONG (2007) Effect of mixed starter cultures fermentation on the characteristics of silver carp sausages *World J Microbiol Biotechnol* 23:1021–1031 DOI 10.1007/s11274-006-9330-2
- ZHONG-YI, L., ZHONG-HAI, L., MIAO-LING, Z. & XIAO-PING, D. (2009). Effect of fermentation with mixed starter cultures on biogenic amines in bighead carp surimi. *International Journal of Food Science and Technology*, 45, 930–936

ÖZGEÇMİŞ

10/02/1980 yılında Adana'da doğdu. İlk öğrenimini Adana'nın Çirişgediği Köyünde orta ve lise öğrenimini Adana Kız Lisesi'nde tamamladı. 1997 yılında başladığı Çukurova Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nden 2001 yılında mezun oldu. Özel eğitim kurularında öğretmen olarak çalıştı. Daha sonra resmi kurumda danışmanlık yaptı. 2008 yılında yüksek lisansa başladı. Evli ve bir çocuk annesidir.