

# Süt ve Süt Ürünlerinde Bakteriyosinlerin Kullanımı

## Using Bacteriocins in Milk and Dairy Products

Evrım GÜNEŞ ALTUNTAŞ ve Kamuran AYHAN\*

Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 06110, Ankara

Geliş Tarihi/Received : 08.06.2009, Kabul Tarihi/Accepted : 07.10.2009

### ÖZET

Bakteriyosinler bakteriler tarafından ribozomal olarak üretilen peptid yapısında antimikrobiyel bileşiklerdir. Birçok bakteri türü bakteriyosin üretme yeteneğindedir. Bunlar arasında güvenilir oldukları kabul edilmiş olan (GRAS) laktik asit bakterilerinin (LAB) ürettiği bakteriyosinlerin gıdalarda kullanımları üzerinde birçok çalışma bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar göz önüne alındığında bakteriyosin kullanım denemelerinin mikrobiyel bozulma açısından daha elverişli yapıya sahip olan et ve süt alanında olduğu görülmektedir. Bir süt ürünü olan peynirde günümüzde nisin kullanımına izin verilirken, peynirle beraber diğer süt ürünlerinde nisin, pediosin, laktisin, variasin gibi bakteriyosinlerin kullanımı üzerine çalışmalar devam etmektedir. Bu derlemede süt ve süt ürünlerinde bakteriyosinlerin kullanımı ile ilgili yapılmış olan bazı çalışmalar ve sonuçları incelenmiştir.

**Anahtar Kelimeler :** *Bakteriyosin kullanımı, Süt, Süt ürünleri.*

### ABSTRACT

Bacteriocins produced by bacteria are ribosomally synthesized and antimicrobial peptides. Lots of strains of bacteria can produce bacteriocin. There are lots of researchs on using bacteriocins produced by lactic acid bacteria (LAB) which are known as safe (GRAS) in foods. With this respect bacteriocin experiments have been generally in meat and dairy products where can become spoilage easily. It is allowed to use nisin in cheese a dairy product, and with cheese the experiments about using nisin, pediocin, lacticin, variacin etc. are going on the other dairy products. In this review some experiments on using bacteriocins and their results on milk and dairy products are reported.

**Keywords :** *Using bacteriocin, Milk, Dairy products.*

### 1. GİRİŞ

Mikrobiyel bozulmalarla ortaya çıkan ekonomik kayıpları önlemede, gıda kaynaklı hastalıkları azaltmada ve hızla artan dünya nüfusunun gıda gereksinimlerini karşılamada, daha uygulanabilir ve güvenli muhafaza yöntemlerinin geliştirilmesini hedefleyen çalışmalar önemini giderek arttırmaktadır. Buna göre, gıda endüstrisinde mümkün olduğunca ürünün orjinal değerini koruyacak çalışmalarla gıda kaynaklı sorunların çözümünde tatmin edici sonuçlara varılacağı düşünülmektedir (Galvez v.d., 2008). Biyomuhafaza olarak ifade edebileceğimiz bu yöntem, kontrollü mikroflora ve/veya antibakteriyel madde kullanımıyla uzun raf ömrü ve güvenli gıda üretimi sağlama olanağı sunmaktadır (O'Keefe ve Hill, 1999; Kuleaşan, 2002).

Laktik asit bakterileri (LAB) uzun yıllardır süt, et ve

diğer bazı fermente ürünlerin üretiminde starter olarak kullanılmaktadır. Bilindiği gibi starter kültürler hem gıdaların duyuşal özelliklerinin gelişiminde hem de mikrobiyel bozulma ve hastalık etmeni organizmaların gelişiminin engellenmesinde aktif rol oynamaktadırlar (Tunail, 2009). Diğer bir deyişle, laktik asit bakterileri ya da bu bakterilerden elde edilen bakteriyosin gibi maddeler hem güvenli olmaları hem de doğal etkileri nedeniyle gıda üretiminde patojenlere karşı inhibitör olarak kullanılmakta ve dolayısıyla gıda bozulmalarını engellemektedirler.

Laktik asit bakterilerindeki antibakteriyel aktivite; organik asitler, karbondioksit, etanol, hidrojen peroksit ve diasetilin yanında düşük moleküler ağırlıklı peptidleri içeren bakteriyosinlerden ileri gelebilmektedir (De Vuyst ve Vandamme, 1994; Tunail v.d., 1995; Menteş v.d., 2005;

\* Yazışılan yazar/Corresponding author. E-posta adresi/E-mail address : kayhan@eng.ankara.edu.tr (K. Ayhan)

Coşansu v.d., 2007, Ayhan v.d., 2008). Bakteriyosinler birçok bakteri türünün üretebildiği protein yapısındaki antimikrobiyel peptitlerdir (Carneiro de Melo v.d., 1996 ; Garneau v.d., 2002).

Son yıllarda bakteriyosinlerin veya bakteriyosin üreten türlerin gıdalarda kullanımı üzerindeki çalışmalar hammaddeye, proses koşullarına, dağıtıma, tüketime veya gıdanın çeşidine bağlı olarak gıda bozulmalarının, patojenlerin ya da bozulma yapan bakterilerin bulunabildiği bir çok alan üzerinde yoğunlaşmıştır (Galvez v.d., 2008).

Bakteriyosin kullanımı, gıdalarda koruyucu olarak kullanılan kimyasal maddelerin kullanımını azaltabildiği gibi gıdaların korunmasında başvurulan ısı uygulamasının ya da diğer fiziksel muamelelerin azaltılmasını da olanaklı kılmaktadır. Ayrıca tüketicilerin istekleri doğrultusunda daha taze, tüketime hazır ve daha az işlem görmüş gıda üretimini de olanaklı hale getirme potansiyeli vardır (O’Keeffe ve Hill, 1999 ve Powell, 2006).

Tablo 1’de bazı bakteriyosinler ve özellikleri gösterilmiştir.

**Tablo 1. Bazı bakteriyosinler ve özellikleri (Soomro v.d., 2002).**

Bakteriyosin	Üretici Organizma	Özellikler
Nisin	<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i> ATCC 11454	Lantibiyotik, geniş spektrumlu, kromozom / plazmid kaynaklı, bakterisidal, gelişme evresinin sonlarında üretilir
Pediosin A	<i>Pediococcus pentosaceus</i> FBB61 ve L-7230	Geniş spektrumlu, plazmid kaynaklı
Pediosin	<i>Pediococcus acidilactici</i> H Ach	Geniş spektrumlu, plazmid kaynaklı
Lökosin	<i>Leuconostoc gelidum</i> UAL 187	Geniş spektrumlu, plazmid kaynaklı, bakterisidal, gelişme evresinin başlarında üretilir
Helvetisin J	<i>L.helveticus</i> 481	Dar spektrumlu, kromozom kaynaklı, bakterisidal
Karnobakteriyosin	<i>Carnobacterium piscicola</i> LV17	Dar spektrumlu, plazmid kaynaklı, gelişme evresinin başlarında üretilir

Laktik asit bakterilerinin ürettiği bakteriyosinlerden üzerinde en çok çalışılanları; nisin ve pediosindir ve özellikle nisin bazı ülkelerde gıda koruyucusu olarak endüstride yaygın olarak kullanılmaktadır (Ray and Miller, 2003). Nisinin ilk ticari formunun 1953 yılında üretilmesinin ardından gıda koruyucusu olarak geniş çapta kullanımı yıllar içinde giderek artmıştır. Günümüzde E-234 numarası ile katkı maddeleri arasında yer alan nisinin kullanım amacı daha çok kremler, konserve gıdalar, peynir ve pastörize sıvı yumurta gibi gıdalarda *Bacillus* ve *Clostridium* gibi gram pozitif bakterilerin spor formlarını inhibe etmeye yöneliktir (Ayhan v.d., 1996; Adams, 2003).

## 2. SÜT VE SÜT ÜRÜNLERİNDE BAKTERİYOSİNLERİN KULLANIMI

Süt ve süt ürünlerinde bakteriyosinlerin kullanımı 2 farklı şekilde olabilir:

- Süt ve süt ürünlerinde bakteriyosinlerin preparat halinde kullanımı
- Süt ve süt ürünlerinde bakteriyosin üreten kültürün kullanımı

### 2. 1. Süt ve Süt Ürünlerinde Bakteriyosinlerin Preparat Halinde Kullanımı

Süt ürünlerinde bakteriyosin kullanım çalışmalarının özellikle peynir çeşitleri üzerinde yoğunlaştığı görülmektedir. Peynirlerin mezofil bakteri florası içinde çok çeşitli mikroorganizmalar bulunabilmektedir. Bu mikroorganizmalar arasında

ilk sırayı peynirin doğal florasında bulunan bakteriler ile peynire starter olarak katılan bakteriler alır. Laktobasillus, Lökonostok, Streptokok grubuna ait bazı türler laktik asit ve bazı antibiyotik benzeri maddeler üretirler ki bunlar peynirin aroma ve lezzet gelişiminde de etkilidirler (Uraz ve Gündoğan, 1998).

Süt ve süt ürünleri özellikle de peynir ülkemizde üretim ve tüketim açısından önemli bir yere sahiptir. Türkiye’de kişi başına yıllık peynir tüketimi bölgeler arasında değişiklik göstermesine rağmen 7 kg ile 10 kg arasındadır. Ülkemizde üretilen peynirin büyük bir kısmı mandıralarda üretilirken %10 gibi bir miktarı modern işletmelerde üretilmektedir (Tan ve Ertürk, 2002). Mandıralarda çiğ süttten elde edilen peynirler taşıdıkları mikroorganizmalar açısından halk sağlığı yönünden büyük riskler oluşturabilmektedir. Örneğin beyaz peynirlerin mikrobiyel florasının araştırıldığı bir çalışmada, araştırmacılar incelemeye aldıkları 132 adet beyaz peynir örneğinin çoğunda yüksek oranlarda *S. aureus* ve *Bacillus* spp. var olduğunu tespit etmişlerdir (Uraz ve Gündoğan, 1998). Yapılan bir diğer çalışmada Ankara piyasasından toplanan 30 adet beyaz peynir örneğinin 18’inde sayıları  $7.3 \times 10^1$ - $2.4 \times 10^3$  arasında değişen fekal koliform ve *Escherichia coli*’ye rastlanmıştır (Kaynar v.d., 2005). Bilindiği gibi bu tip bakterilerin peynirde bulunması sadece insan sağlığı açısından değil teknolojik olarak da zarara neden olmaktadır.

Mikrobiyolojik risklerin yanında fermente süt ürünleri için hala ideal bir kültür kompozisyonu sağlanamamış olması da bu konuda araştırma yapılması gerekliliğini ortaya koymaktadır. Bakteriyosin üreten kültürlerin süt ürünlerinde denendiği araştırmalarda mikrobiyolojik risklerin azaltılmasının yanı sıra ideal starter kültürlerin belirlenmesi de amaçlanmaktadır (Durlu-Özkaya, 2001).

Peynirden farklı olarak çiğ sütün uzun süreli muhafazasında hidrojen peroksit katımı, laktoperoksidaz ile muhafaza gibi değişik yöntemlerin kullanımı da söz konusu olabilmektedir. Ancak bu uygulamaların sağlık ile ilgili bazı olumsuz yönlerinin oluşu ve tüketici açısından da doğal yöntemlerin tercih edilmesi nedeniyle bakteriyosinlerin kullanım potansiyelleri çeşitli araştırmalarla denenmektedir (Rodriguez v.d., 1997; Güven, 1998; Saad, 2008).

Laktik asit bakterilerinin ürettiği bakteriyosinlerin etki spektrumu bakteriyosine göre değişmekle birlikte, etki spektrumu bakteriyosinin kullanılabilmesi alanı belirlemektedir. Örneğin laktobasiller tarafından üretilen bakteriyosinlerin etki spektrumu *Lactobacillaceae* familyası ile sınırlıdır. *Pediococcus* cinsi bakterilerin oluşturduğu bakteriyosinlerden pediosin A ise, Gram pozitif bakterileri etkilemekte, fakat Gram negatif bakteriler üzerinde etkili olamamaktadır. Propiyonibakterilerin ürettiği bakteriyosinlerin diğerlerinden en dikkate değer farklılığı, bazı maya ve küfler üzerinde de etkili olmalarıdır (Gürsel, 1999).

Laktokoklar tarafından üretilen bakteriyosinler içinde nisin, gram pozitif bakterilerin birçoğunu inhibe edebilmesi bakımından bir ayrıcalık sergilemektedir. Örneğin, Nisin başlangıçta spor oluşturan *Clostridium* ve *Bacillus* cinsi bakterilere karşı etki göstermesi nedeniyle ilgi çekici bulunmuştur (Ayhan v.d., 1996). Davidson ve Hoover (1993) tarafından

*Clostridium sporogenes*, *C. butyricum*, *C. bifermetas* üzerine nisin etkinin araştırıldığı bir çalışmada, bakteri sporlarının vejetatif hücrelerden daha fazla etkilendiği ve inhibisyonun spor yüküne bağlı olduğu belirlenmiştir.

Nisin 1928 yılında keşfedilmiş bir bakteriyosindir ve fizyolojik pH'larda çözünürlüğünün az olması nedeniyle ve sindirim proteazlarına hassas olduğundan medikal amaçlı kullanımı mümkün olmamıştır. Nisin üzerinde çok çeşitli araştırmalar bulunmaktadır ve ticari olarak nisin kullanımı 1950'li yıllara rastlamaktadır (Guzel-Seydim ve Ekinci, 2007).

Nisin (ticari formu Nisaplin) süt endüstrisinde hem preparat formunda hem de üreticisi organizmanın starter kültür olarak kullanımı ile geniş çapta test edilmiş bir bakteriyosindir. İlk yapılan çalışmalarda peynirde gaz oluşumuna yol açan *C. tyrobutyricum* üzerindeki etkisi araştırılmıştır (De Vuyst ve Vandamme, 1994). Daha sonraları nisin kullanımı, peynir çeşitlerindeki endospor formundaki canlıların, gaz oluşturan *Clostridium* türlerinin, *C. botulinum*'un ve *L. monocytogenes*'in gelişimini engellemek üzerine olmuştur. Peynirin dışında nisin diğer pastörize süt ürünleri, soğuk tatlılar, aromalı süt, konserve evapore süt ürünlerinde de kullanılmaktadır (Tunail v.d., 1995; Galvez v.d., 2008). Tablo 2'de süt ve süt ürünlerinde bakteriyosinlerin kullanım potansiyeli görülmektedir.

Bazı durumlarda bakteriyosinlerin diğer inhibitör bileşenlerle birlikte kullanımları, tek başlarına kullanımlarından daha iyi sonuçlar doğurabilmektedir. Li v.d., (2005) tarafından nisin bes ortamında tek başına kullanımı ile EDTA ile pH ile ve sıcaklık ile birlikte kullanımının bazı patojenler üzerindeki inhibisyon etkisi araştırılmıştır.

**Tablo 2. Süt ve süt ürünlerinde bakteriyosinlerin kullanım potansiyeli (Galvez v.d., 2008).**

Süt ve süt Ürünlerinde Bakteriyosinlerin Kullanım Potansiyeli.	
Çiğ Ürünlerde	Çiğ sütte mikrobiyel gelişiminin azaltılması.
	Sütte PEFs (Pulsed Electric Fields: Vurgulu Elektrik Alanı) veya HHP (High Hydrostatic Pressure: Yüksek Hidrostatik Basınç) ile kombine halde kullanımı ile mezofilik bakterilerin inaktivasyonunun sağlanması.
Fermente Ürünlerde	Sert ve yarı sert peynirlerde gaz oluşumuna neden olan <i>C. tyrobutyricum</i> 'un inhibisyonu.
	Peynirde veya peynir yüzeyinde bulunabilen <i>L. monocytogenes</i> , <i>B. cereus</i> , <i>S. aureus</i> gibi patojenik veya toksikojenik bakterilerin inhibisyonunda.
	Peynirlerde HHP ile kombine halde kullanımı ile mezofilik bakterilerin ve endospor formlarının inaktivasyonu.
	Yoğurt ve diğer fermente ürünlerde asitliğin kontrolünde.
	Peynirde ve diğer fermente süt ürünlerinde bakteriyosin üreten türlerin starter veya destek kültür olarak kullanımı ile patojenlerin ve bozulma yapan bakterilerin inhibisyonunda.
	Peynirde bakteriyosin üreten starter kültür kullanımı ile starter kültür olmayan LAB inhibisyonunda.
İşlenmiş Ürünlerde	Peynirin olgunlaşması sırasında; bakteriyel hücre içi enzimlerin salınımının arttığı durumda.
	İşlenmiş peynir ve diğer işlenmiş süt ürünlerinde özellikle de <i>C. botulinum</i> başta olmak üzere endospor formların inhibisyonu.
	Süt ürünlerinde proses sonrası <i>L. monocytogenes</i> kontaminasyonu inhibisyonunda.

Nisinin tek başına kullanımı durumunda *Micrococcus* sp. üzerinde etkili olduğu, EDTA ile her ikisinin birlikte kullanılmasında ise *Bacillus subtilis* ve *Salmonella* üzerinde de etkili olduğu tespit edilmiştir. Nisin uygulamasının pH 4'te uygulanması ile bakterilerin tamamının 3. günün sonunda inhibe olduğu, nisin kullanılmadan yalnızca pH'nın 4'e ayarlanması durumunda ise patojen bakterilerin 6. günün sonunda tamamen inhibe olduğu bildirilmiştir. Yüksek sıcaklık uygulamasının nisin ile birlikte kullanımı inhibitör etki üzerinde herhangi bir değişikliğe yol açmamıştır.

Nisinin dışında bakteriyosin preparatı halinde ticari olarak üretilen ALTA 2341 ve Mikrogard bulunmaktadır. ALTA 2341 *Pediococcus acidilactici* tarafından üretilen ve etki mekanizması pediosin PA-1 ve Ach'e dayanan bir preparattır. Bu ürün peynirde *Listeria* inhibisyonu amacıyla kullanılabilir. Mikrogard ise *Propionibacterium shermanii* hücrelerini içeren bir preparattır ve hem *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Yersinia* gibi Gram negatifler üzerinde hem de mayalar ve küfler üzerinde etkilidir (Soomro v.d., 2002).

Sınıf II'a dahil olan pediosin benzeri bakteriyosinlerin nisin ile kıyaslandığında gıdalarda bozulma yapan bakterilerin kontrolünde daha az etkili olduğu bilinmekteyse de bunun aksini gösteren çalışmalar da mevcuttur. Örneğin, *Enterococcus faecium* CTC 492 tarafından üretilen enterosin A ve B, fermente ürünlerde kullanılan *Lactobacillus sakei* CTC 746'nın sümüksü bir yapı oluşturmasının engellenmesinde nisine göre daha etkili olmuştur (Drider v.d., 2006).

Bakteriyosin preparatlarının inhibisyon şekli ve etkinliği farklı süt ürünlerinde farklı sonuçlar doğurabilmektedir. Yapılan bir çalışmada süt ürünlerinde *Listeria monocytogenes*'in inhibisyonu amacıyla bakteriyosin benzeri bir antimikrobiyel peptit olan serein 8A kullanılmıştır (Bizani v.d., 2008). 160 AU/mL aktiviteli serein 8A'nın UHT süte katılması durumunda 4 °C'de 14 günlük bir süre sonunda *L. monocytogenes* sayısının 3 log birimi azaldığı gözlenmiştir. Bu antimikrobiyel bileşiğin Minas tipi (Brezilya'da üretilen bir çeşit peynir) yumuşak peynire eklenmesi durumunda ise patojenin logaritmik gelişme fazını geciktirdiği kaydedilmiştir. Serein 8A'nın peynir yüzeyindeki kontaminasyonu engellemedeki etkinliği de aynı çalışmada araştırılmıştır. Buna göre; 4 °C'de 30 günlük muhaza sonunda *L. monocytogenes* sayısında 2 log birimi kadar azalma meydana geldiği tespit edilmiştir. Araştırmacılar denemeler sonucunda süt ürünlerinde serein 8A'nın koruyucu olarak kullanım potansiyelinin yüksek olduğunu ileri sürmüşlerdir.

## 2. 2. Süt ve Süt Ürünlerinde Bakteriyosin Üreten Kültürün Kullanımı

Bakteriyosin üreten kültürün fermente süt ürünlerinde kullanımı; bakteriyosin bileşenlerinin kullanımına göre daha avantajlı olabileceği ifade edilmektedir. (Morgan v.d., 1995). Fakat süt ürünlerinde bakteriyosin üreten kültürün kullanımı üzerinde yapılan çalışmalar genellikle starter kültür kullanımının uygun olduğu ürünlerle sınırlı kalmaktadır. Bu nedenle hem bakteriyosin preparatlarının hem de bakteriyosin üreten kültürlerin süt ve süt ürünlerinde kullanımı ve etkisinin detaylı olarak araştırılması gerekmektedir.

Martinez-Cuesta v.d., (2001) peynir üretimi sırasında kullanılan starter kültüre bakteriyosin üretme yeteneğinde olan bir başka bakteriden, bakteriyosin üretiminden sorumlu plazmidin aktarımı ile peynirin olgunlaşma süresinin kısaltılması olasılığını araştırmışlardır. Denemede Laktisin 3147 üretme yeteneğinde olan *Lactococcus lactis* IFPL105 suşundan 46 kb'lık bakteriyosin biyosentezinin kodlu olduğu plazmid peynir üretiminde starter kültür olarak kullanılan *L. lactis* IFPL359'a aktarılmıştır. Çalışma sonunda araştırmacılar bu konjugant starter kültürün kullanılması durumunda peynir üretim prosesinde herhangi bir değişiklik olmadan peynirin asitliğinin düzenli bir şekilde geliştiğini ve hatta duysal özelliklerinin de arttığını bildirmişlerdir. Sonuç olarak, bakteriyosin üreten bu konjugant suşun ideal bir koruyucu olabileceği araştırmacılar tarafından ileri sürülmüştür.

Çiğ süttten peynir üretimi sırasında yüksek basınç uygulaması ile bakteriyosin üreten laktik asit bakterisinin kombine kullanımı ile *Staphylococcus aureus* inaktivasyonunun amaçlandığı bir diğer çalışma Arques v.d., (2005) tarafından yürütülmüştür. Bakteriyosin üreten LAB ile 300 ve 500 MPa düzeylerinde yüksek basınç uygulamasının birlikte kullanımı ile 2 ve 3 gün sonunda *S. aureus* sayısının sırasıyla 1.02 ve 4.00 log kob/g azaldığını bildirmişlerdir. Buradan yola çıkarak araştırmacılar yüksek basınç uygulaması ile bakteriyosin üreten LAB kullanımının *S. aureus* inaktivasyonu üzerinde sinerjetik bir etki gösterdiğini vurgulamışlardır. Ayrıca, peynirin kalitesi üzerinde olumsuz etki yaratan yüksek basınç uygulamasının yerine, düşük seviyelerde basınç uygulama ile bakteriyosin üreten kültürün kombine kullanılmasının mümkün olabileceğini göstermişlerdir.

Son yıllarda nisinin dışında, önemli bir gıda patojeni olan *Listeria* spp. karşı kuvvetli inhibitör etkiye sahip oldukları bilinen pediosin ve pediosin benzeri bakteriyosinlerin gıdalarda kullanım potansiyelinin yüksek olduğu ifade edilmekte (Çon v.d., 2001) ve bu konuda yapılan çalışmalar hızla artmaktadır. Yapılan bir çalışmada pediosin benzeri bakteriyosinlerin

gıda muhafazasında 3 farklı yöntem ile kullanımı denenmiştir. Bunlardan ilkinde bakteriyosin üreten hücre, sosis ve Cheddar peyniri üretiminde *L. monocytogenes* kontrolü için denenmiştir. Bu amaçla pediosin PA-1/AcH üreten bir suş ile bakteriyosin üretmeyen bir kültür ile peynir üretimi yapılmış ve üründe *L. monocytogenes* sayısının azalması izlenmiştir. Çalışmada *L. monocytogenes* sayısında 2-3 log birimlik azalma meydana geldiği gözlenmiştir. İkinci uygulamada; starter kültür ürüne eklenmiş ve buzdolabı sıcaklığında ürün depolanmıştır. Bu şekilde yapılan araştırma sonuçları kullanılan bakteriyosinin türü ve kullanıldığı ürüne göre değişmekle beraber *L. monocytogenes* sayısında 1-4 log kob/g düzeyinde azalma sağlanabildiğini göstermektedir. Buna ek olarak, çalışma sırasında bakteriyosin eklenmiş ürün kontrol örneği ile

kiyaslandığında raf ömrünün daha uzun olduğu ve 5 gün daha geç bozulduğu gözlenmiştir. Üçüncü tip kullanımda ise pediosin benzeri bakteriyosin, bozulma yapan bakteri ya da patojen bakteri ile birlikte ürüne inoküle edilmektedir. Bu amaçla yapılan benzer çalışmalarda pediosin PA-1/AcH'nin, buzdolabında bekletilen vakum paketlenmiş biftekte ve düşük ısı işlem görmüş çeşitli et ürünlerinde bazı Gram negatif ve Gram pozitif bozulma yapan bakterileri inhibe ettikleri ileri sürülmektedir. Bu tip uygulamanın nisin, laktik, asetik veya propiyonik asit ile ya da lizozimle birlikte kullanımının daha etkin sonuçlar doğurduğu da bildirilmektedir (Ray ve Miller, 2003). Tablo 3'de gıdalarda ve gıda proseslerinde pediosin benzeri bakteriyosinlerin kullanım potansiyeli görülmektedir.

**Tablo 3. Gıdalarda ve gıda proseslerinde pediosin benzeri bakteriyosinlerin kullanım potansiyeli (Ray ve Miller, 2003).**

Kullanım alanı	Kullanıldığı ürünler
Et ürünleri	Düşük ısı işlem görmüş soğukta saklanan ürünlerde, özel ürünlerde
Su ürünleri	Düşük ısı işlem görmüş soğukta saklanan ürünlerde, çığ ürünlerde
Süt ürünleri	Yumuşak peynirde, peynir çeşitlerinde, yoğurtta
	Peynir fermentasyonu sırasında <i>L. monocytogenes</i> 'in kontrolünde
	Peynirin olgunlaşmasını starter kültürün lizisini (hücre çözülmesi) sağlayarak hızlandırmada
Diğer alanlar	Isıl işlem görmeden işlenmiş ürünlerde, içeceklerde, baharatlarda, probiyotiklerde, ambalaj materyalinde, sanitasyon ekipmanlarında, şeker prosesinde

Enterokoklar özellikle geleneksel olarak üretilen peynirlerde yaygın olarak bulunan bakterilerdir. (Kaleli ve Durlu-Özkaya, 2000). Bakteriyosin üretme yeteneğinde olan birçok enterokok sütte ve peynirde gıda kaynaklı patojenlere karşı koruyucu kültür olarak kullanılabilir. *Enterococcus faecium* RZS C5 doğal bir peynir izolatu olmakla beraber *Listeria monocytogenes* üzerinde kuvvetli bir inhibitör etkiye sahiptir. Bu konuda yapılan bir çalışmada laboratuvar ortamında kesikli fermentasyonla süttozu üretimi ve pilot ölçekte peynir yapımında *E. faecium* RZS C5 suşu kullanılmıştır. Süttozu üretiminde, suşun ürettiği bakteriyosinin MRS Broth'da geliştirilmesi sırasında oluşturduğu bakteriyosinden daha düşük olduğunu gözlemleyen araştırmacılar süte kazein hidrolizati eklenmesi durumunda bakteriyosin üretiminin önemli ölçüde arttığını bildirmişlerdir. Cheddar peyniri üretiminde kullanılması durumundaysa bakteriyosin üretiminin peynir üretimine başlanmasıyla beraber ortaya çıktığı ve 12 aya kadar olgunlaşma periyodunda stabil kaldığı vurgulanmıştır. Bu sonuçlara göre Cheddar peynirinde bu suşun starter olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Leroy v.d., 2003).

Rodriguez v.d., (1997) tarafından yapılan bir diğer çalışmada bakteriyosin üreten kültürlerin laktoperoksidaz (LP) sistemi ile birlikte kullanımının *Listeria monocytogenes* üzerindeki etkileri incelenmiştir. Denemede çığ süte 3 ayrı

bakteriyosin üreten kültür hem ayrı ayrı, hem de LP sistemi ile birlikte kombine halde eklenerek denemeler gerçekleştirilmiştir. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 11454, *L. lactis* subsp. *lactis* ESI 515 ve *Enterococcus faecalis* INIA 4 suşları ile aşılanmış çığ süte aynı anda *L. monocytogenes* patojeni de aşılanarak 4 °C'de 4 gün süresince çığ sütler depolanmıştır. Depolama süresi sonunda *L. monocytogenes* sayısında 0.21-0.24 log birimi azalma olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada 4 °C sıcaklıkta LP sisteminin bakteriyosin üreten suşlarla birlikte kullanılması durumunda inhibisyon üzerinde etkili olmadığı gözlenmiş ve bu nedenle çalışma 8 °C'de tekrarlanmıştır. Bu koşullarda yalnızca bakteriyosin üreten kültür kullanıldığı; 1.87 (11454 suşu kullanıldığında), 1.54 (ESI 515 suşu kullanıldığında) ve 1.11 (INIA 4 suşu kullanıldığında) log birimlik azalma tespit edilirken LP ile kombine halde suşların kullanılması durumunda bu indirgenme oranları sırasıyla 1.99, 2.10 ve 1.06 log birimi olarak tespit edilmiştir. Buradan yola çıkılarak LP sisteminin 4 °C'de inhibisyon üzerinde etkili olmadığı, 8 °C'de ise *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 11454 ve *L. lactis* subsp. *lactis* ESI 515 suşları ile birlikte kullanılması durumunda inhibisyon oranını artırmada az da olsa etkili olduğu kaydedilmiştir.

Bir İspanyol peynir çeşiti olan Hispaniko peynirinde bakteriyosin üreten kültürün kullanılmasının proteoliz ile tekstür üzerindeki etkileri Avila v.d.,

(2005) tarafından incelenmiştir. Bu amaçla nisin Z ile laktisin 481 üretme yeteneğinde olan *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* INIA 415 ile bakteriyosin üretme yeteneğinde olmayan *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* INIA 415-2 suşları, ticari starter kültür olan *Streptococcus thermophilus* ile birlikte peynir üretiminde kullanılmışlardır. Bu kombinasyon ile üretilen peynirde  $\alpha$ -kazein proteolizinin geciktiği, tekstürün ise yumuşadığı görülmüştür. Aynı zamanda peynirin olgunlaşması sırasında ikincil proteolizde gelişme olduğu tespit edilmiştir.

Foulquie Moreno v.d., (2003) Cheddar peynirinde *Enterococcus faecium*'un yardımcı kültür olarak kullanılabilirliğini araştırmışlardır. Denemede, peynir üretiminin başlangıç aşamasından olgunlaşma aşamasına kadar her aşamada enterosin aktivitesi belirlenmiştir. Araştırma sonucunda iyi üretim koşulları (GMP)'nin uygulanmasının yanında bu uygulamanın peynirin mikrobiyolojik güvenliğine katkı sağlayabileceği bildirilmiştir. Cheddar peyniri üzerinde yapılan bir diğer araştırmada( Morgan v.d., 2002) bakteriyosin üretme yeteneğinde olan, bakteriyosine duyarlı ve bakteriyosine dirençli olmak üzere 3 ayrı kültür kullanılmıştır. Bu starter kültür kombinasyonu ile starter kültürün lizizi sağlanmaya çalışılmıştır. Starter kültürlerin lizizi sırasında büyük molekül yapısında bulunan süt proteini kazeinin küçük peptitlere ve serbest amino asitlere dönüşmesini sağlayan proteinaz ve peptidazlar ortama salınmaktadır. Bu enzimler ise peynirin aromasının oluşumu ile doğrudan ilgili olmalarının yanında peynirin olgunlaşmasına da katkı sağlayabilmektedir. Bu çalışmada, bakteriyosin üreten kültürlerin peynir üretiminde yardımcı kültür olarak kullanılması ve starter kültürlerin lizizinin sağlanması durumunda, proteolizin devamı nedeniyle serbest amino asit miktarının arttığı ve aromanın iyileştiği vurgulanmıştır.

Pediosinlerin süt bazlı ortamlara zor adapte olabilmeleri nedeniyle süt endüstrisinde pediosin üreten kültür kullanımı üzerine çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Yapılan çalışmalar sütte *L. monocytogenes* inhibisyonunun sağlanması için çok yüksek konsantrasyonda Pediokok bulunması gerektiğini işaret etmektedir. Bu nedenle son yıllarda pediosin üretim geninin diğer laktik asit bakterilerine aktarımı üzerinde durulmaktadır (Somkuti ve Steinberg, 2003). Cheddar peynirinde pediosin PA-1 üreten *L. lactis* subsp. *lactis* MM217'in kullanımı ile 1 haftalık olgunlaşma süresi içerisinde *L. monocytogenes* sayısını  $10^2$  kob/g azalttığı ve ardından 3 ay süreyle depolama boyunca sayının  $10$  kob/g düzeyine indiği gözlenmiştir (Buyong v.d., 1998).

Ayad v.d., (2001) peynire karakteristik özelliklerini sağlayan starter kültürlerle beraber kendi izole ettikleri bakteriyosin üretme yeteneğinde olan kültürlerin Gouda tipi peynir üretimindeki durumlarını incelemişlerdir. Araştırmacılar denemede kullandıkları izolatların büyük bir kısmının starter kültüre adapte olduğunu ve bu izolatlar ile birlikte starter kültürlerin yeniden oluşturulabileceğini vurgulamışlardır. Araştırmacılar bu gibi uygulamalarla yeni peynir çeşitlerinin ortaya çıkarılmasının da mümkün olabileceğini bildirmişlerdir.

### 3. SONUÇ

Bakteriyosin üreten kültürün starter olarak ya da bakteriyosinin doğrudan kullanımı ile süt ve süt ürünlerinde mikrobiyel bozulmaların önlenmesi amaçlanırken aynı zamanda ideal starter kültürlerin oluşturulması da hedeflenmektedir.

Son yıllarda bakteriyosinlerin, starter kültürün hücre içi enzimlerinin salınımını artırmak ve bu sayede de olgunlaşma süresinin kısaltılması ve peynirin aromasının geliştirilmesi amacıyla kullanımı üzerinde de çalışmalar yoğunlaşmıştır. Peynirin olgunlaşması sırasında oluşan metabolitler peynirin kendine özgü aromasının oluşumundan ve peynirin tekstüründen sorumludur. Bu olgunlaşma periyodu uzun süren bir aşama olması ve endüstri açısından ekonomik görülmemesi nedeniyle konu üzerinde yapılan çalışmalar; bu prosesin kısaltılması ve iyileştirilmesi üzerinde odaklanmaktadır. Olgunlaşma aşamasının önemli bir noktası olan proteoliz aşamasında aromadan sorumlu olan küçük peptitler ve serbest amino asitler oluşmaktadır ve bu aşama, çoğu peynir için kalite belirleyicisi olarak karşımıza çıkmaktadır. Peynirin proteolizinden rennet enzimleri ile birlikte mikrobiyel enzimler sorumludur. Bakteriyosinlerin peynirde kullanım amacından biri olan peynir aromasının ve tekstürünün iyileştirilmesi, starter kültürlerin lizizinin sağlanması ve mikrobiyel enzimlerin salınımının artırılması şeklinde oluşmaktadır. Yakın gelecekte bakteriyosin üreten starter kültürlerin yeni ve spesifik aromalı peynir üretiminde kullanılmasının sözkonusu olabileceği pek çok araştırmacı tarafından ileri sürülmektedir.

KAYNAKLAR

- Adams, M. 2003. Nisin in Multifactorial Food Preservation. Chapter 2 In Natural Antimicrobials for The Minimal Processing of Foods. Edited by Sibel Roller. 306 p.
- Arques, J.L., Rodriguez, E., Gaya, P., Medina, M., Guamis, B. and Nunez, M. 2005. Inactivation of *Staphylococcus aureus* in Raw Milk Cheese by Combinations of High-Pressure Treatments and Bacteriocin-Producing Lactic Acid Bacteria. J. of Appl. Microbiol. (98), 254-260.
- Avila, M., Gadre, S., Gaya, P., Medina, M. and Nunez, M. 2005. Influence of Bacteriocin-Producing Lactic Culture on Proteolysis and Texture of Hispanico Cheese. Int. Dairy J. (15), 145-153.
- Ayad, E.H.E., Verheul, A., Wouters, J.T.M. and Smit, G. 2001. Population Dynamics of Lactococci from Industrial, Artisanal, and Non-Dairy Origins in Defined Strain Starters for Gouda-type Cheese. Int. Dairy J. (11), 51-61.
- Ayhan, K., Aydar, L.Y., Durlu, F. ve Tunail, N. 1996. *Lactococcus lactis* subsp. LL37 Suşunun Nisin Üretiminde Fermentasyon Parametrelerinin Belirlenmesi ve Nisinin Preparasyonu. Kükem Dergisi 19 (2), 49-58.
- Ayhan, K., Coşansu, S., Mol, S. ve Güneş-Altuntaş, E. 2008. Sucuktan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Antimikrobiyel Özelliklerinin Belirlenmesi ve Bakteriyosin Üreten Türlerin Seçimi. Proje numarası:2007-0745-001HPD, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu, 32 s.
- Bizani, D., Morrissy, J.A.C., Dominguez, A.P.M. and Brandelli, A. 2008. Inhibition of *Listeria monocytogenes* in Dairy Products Using The Bacteriocin-Like Peptide Cerein 8A. Int. J. Food Microbiol. 121 (2), 229-233.
- Buyong, N., Kok, J. and Luchansky, J.B. 1998. Use of a Genetically Enhanced, Pediosin-Producing Starter Culture, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* MM217, to Control *Listeria monocytogenes* in Cheddar Cheese. Appl. Environ. Microbiol. (64), 4842-4845.
- Carneiro De Melo, A.M.S., Cook, G.M., Miles, R.J. and Poole, R.K. 1996. Nisin Stimulates Oxygen Consumption by *Staphylococcus aureus* and *Esherichia coli*. Appl. Environ. Microbiol. May 1831-1834.
- Con, A.H., Gökalp, H.Y. and Kaya, M. 2001. Antagonistic Effect of *Listeria monocytogenes* and *L. innocua* of a Bacteriocin-Like Metabolite Produced by Lactic Acid Bacteria Isolated from Sucuk. Meat Science. (59), 437-441.
- Davidson, P.M. and Hoover, D.G. 1993. Antimicrobial Components from Lactic Acid Bacteria. In: Salminen, A. Von Wright, A. (Eds.). Lactic acid bacteria. New York. 127-150.
- De Vuyst, L. and Vandamme, E.J. 1994. Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria. Microbiology Genetics and Applications. Blackie Academic and Professional, London. p. 536.
- Drider, D., Fimland, G., Hechard, Y., McMullen, L.M. and Prevost, H. 2006. The Continuing Story of Class Ila Bacteriocins. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 70 (2), 564-582.
- Durlu-Özkaya, F. 2001. Salamura Beyaz Peynirden İzole Edilen Bazı Laktokok, Enterokok ve Laktobasil Suşlarının Proteolitik Aktivite, Bakteriyosin Etkenliği ve Biyojen Amin Oluşumu Açısından Karşılaştırılması. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi. Ankara. s.134.
- Foulque Moreno, M.R., Rea, M.C., Cogan, T.M. and De Vuyst, L. 2003. Applicability of a Bacteriocin-Producing *Enterococcus faecium* as a Co-Culture in Cheddar Cheese Manufacture. Int. J. of Food Microbiol. (81), 73-84.
- Galvez, A., Lucas Lopez, R. and Abriouel, H. 2008. Application of Bacteriocins in the Control of Foodborne Pathogenic and Spoilage Bacteria. Critical Reviews in Biotechnology. (28), 125-152.
- Garneau, S., Martin, N.I. and Vederas, J.C. 2002. Two Peptide Bacteriocins Produced by Lactic Acid. Biochimie. (84), 577-592.
- Guzel-Seydim, Z. and Ekinci, Y.F. 2007. Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria. In: "Metabolism and Applications of Lactic Acid Bacteria". Research Sighnpost. 33-63. ISBN 978-81-308-0203-9.
- Gürsel, A. 1999. Laktik ve Propiyonik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Bakteriyosinler ve Süt Teknolojisi Alanındaki Uygulamaları. Gıda. 24 (6), 399-410.
- Güven, M. 1998. Antimikrobiyel Maddeler ve Süt Teknolojisinde Kullanım Olanakları. Gıda. 23 (5), 365-369.
- Kaleli, D. ve Durlu-Özkaya, F. 2000. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, 17. Bölüm, Genişletilmiş 2. Baskı, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını, Sim Matbaası, Ankara. s. 522.
- Kaynar, Z., Kaynar, P. ve Koçak, C. 2005. Ankara Piyasasında Tüketime Sunulan Beyaz Peynirlerin

- Hijyenik Kalitesinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. Türk Hij. Den. Biyol. Derg. 62 (1, 2, 3), 1-10.
- Kuleaşan, H. 2002. Laktobasiller Tarafından Üretilen Bakteriyosinlerin Tanımlanması, Sınıflandırılması ve Bunların Bazı Gıda Kaynaklı Patojenler Üzerindeki Etkilerinin Belirlenmesi. Ank. Üniv. Fen Bil. Enst. Doktora tezi. s. 82.
- Leroy, F., Foulquie Moreno, M.R. and De Vuyst, L. 2003. *Enterococcus faecium* RZS C5, an Interesting Bacteriocin Producer to Be Used as a Co-Culture in Food Fermentation. Int. J. of Food Microb. (88), 235-240.
- Li, T., Tao, J. and Hong, F. 2005. Study on The Inhibition Effect of Nisin. The J. of American Science. 1 (2), 33-37.
- Martinez-Cuesta, M., Requena, T. and Pelaez, C. 2001. Use of a Bacteriocin-Producing Transconjugant as Starter in Acceleration of Cheese Ripening. Int. J. of Food Microb. (70), 79-88.
- Menteş, Ö., Ercan, R. ve Akçelik, M. 2005. Türkiye'de Üretilen Ekşi Hamurlardan İzole Edilen *Lactobacillus* Suşlarının Antibakteriyel Aktivitelerinin Belirlenmesi. Gıda; (30), 155-164.
- Morgan, S., Ross, R.P. and Hill, C. 1995. Bacteriolytic Activity Caused by The Presence of a Novel Lactococcal Plasmid Encoding Lactococcins A, B, and M. Appl. Environ. Microbiol. (61), 2995-3001.
- Morgan, S.M., O'Sullivan, L., Ross, R.P. and Hill, C. 2002. The Design of a Three Strain Starter System for Cheddar Cheese Manufacture Exploiting Bacteriocin-Induced Starter Lysis. Int. Dairy J. (12), 985-993.
- O'Keeffe, T. and Hill, C. 1999. Bacteriocins: Potential in Food Preservation. doi: 10.1006/rwfm.1999.0150.
- Powell, J.E. 2006. Bacteriocins and Bacteriocin Producers Present in Kefir and Kefir Grains. Stellenbosch University Institutional Repository. Masters Degree Theses.
- Ray, B. and Miller, W. 2003. Bacteriocins Other Than Nisin: Pediosin-Like Cystibiotics of lactic Acid Bacteria. Chapter 4 in Natural Antimicrobials for The Minimal Processing of Foods Edited by Sibel Roller. pp. 306.
- Rodriguez, E., Tomillo, J., Nunez, M. and Medina, M. 1997. Combined Effect of Bacteriocin-Producing Lactic Acid Bacteria and Lactoperoxidase System Activation on *Listeria monocytogenes* in Refrigerated Raw Milk. J. of Appl. Microbiol. (83), 389-395.
- Somkuti, G.A. and Steinberg, D.H. 2003. Pediosin Production by Recombinant Lactic Acid Bacteria. Biotechnol. Letter. (25), 473-477.
- Soomro, A.H., Masud, T. and Anwaar, K. 2002. Role of Lactic Acid Bacteria (LAB) In Food Preservation and Human Health: A review. Pakistan J. of Nutrition. 1 (1), 20-24.
- Saad, A.H. 2008. Activation of Milk Lactoperoxidase System for Controlling *Pseudomonas* in Cow's Milk. Int. J. of Dairy Science. 3 (3), 131-136.
- Tan, S. ve Ertürk, E. 2002. Peynir. Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü T.E.A.E-Bakış. 1 (11), 1-4.
- Tunail, N. 2009. Mikrobiyoloji. Pelin Ofset, Ankara, s. 448. Ankara.
- Tunail, N., Akçelik, M., Ayhan, K., Durlu, F., Aydar, Y. ve Demircan, S. 1995. Laktik Streptokoklarda Nisin Üretim Özelliğinin Genetik Determinantlarını Bu Özelliğin Aktarım Olanakları ve Mikrobiyel Yolla Nisin Üretimi Üzerinde Araştırmalar. Proje No: TBGAG 36-DPT 84. s. 32.
- Uraz, G. ve Gündoğan, N. 1998. Beyaz Peynirlerin Mezofil Florasında Koliform, Streptokok, LLP (Laktobasil, Lökonostok, Pediokok) Stafilokok ve Basillusların Bulunma Sıklıkları. Gıda. 23 (6), 391-401.