

The Effect of Nisin and Thyme Oil on *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* Inoculated into Cream During Storage

Hatice ÇAYIR ÜSTÜNDAĞ¹, Halil YALÇIN^{2*}

¹Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Institute of Health Sciences, 15030, Burdur, Turkey

^{2*}Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, 15030, Burdur, Turkey

ABSTRACT

The main objective of this study was to investigate the effect of nisin and thyme oil on *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* inoculated in cream. Milk skim was used in the study, a total of 12 groups including *L. monocytogenes* and *S. aureus* were inoculated and the study was divided into two work packages. In the first work package, *L. monocytogenes* were inoculated into each group. Subsequently, 5 mg/kg and 10 mg/kg of nisin and 0.25% and 0.5% thyme oil were added to groups other than bacterial control group. The same procedure was applied in the second work package, which is *S. aureus*. Microbiological follow-up of the prepared samples on the 0, 3, 5 and 7th storage days was performed. In addition, pH, ORP (Oxidation Reduction Potential) and a_w analyzes were performed. Three replications of the experimental groups formed in both work packages were carried out and two parallel samples were analyzed from each sample. In the study, it was determined that using 0.5% thyme oil showed a high antimicrobial effect in samples containing *L. monocytogenes* and *S. aureus* ($p < 0.05$). Although thyme oil inhibits bacterial growth, it is observed that the sharp aroma of thyme oil suppresses the unique taste and smell of cream.

Keywords: Cream, *L. monocytogenes*, Nisin, *S. aureus*, Thyme oil

Nisin ve Kekik Yağının Kaymağa İnoküle Edilen *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus* Üzerine Depolama Süresince Etkisi

ÖZ

Bu araştırmanın temel amacı, nisin ve kekik yağının kaymağa inoküle edilen *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus* üzerine etkisini incelemektir. Araştırmada süt kaymağı kullanılmış, kontrol örneği de dâhil olmak üzere *L. monocytogenes* ve *S. aureus* inoküle edilen toplam 12 grup oluşturulmuş ve çalışma iki iş paketine ayrılmıştır. Birinci iş paketinde her bir gruba *L. monocytogenes* inoküle edilmiştir. Daha sonra bakteri kontrol grubu haricindeki gruplara 5 mg/kg ve 10 mg/kg nisin ile %0,25 ve %0,5 kekik yağı eklenmiştir. *S. aureus* olan ikinci iş paketinde de aynı işlemler uygulanmıştır. Hazırlanan örneklerin 0., 3., 5. ve 7. depolama günlerindeki mikrobiyolojik takibi yapılmıştır. Ayrıca pH, ORP (Oksidasyon Redüksiyon Potansiyeli) ve a_w analizleri yapılmıştır. Her iki iş paketinde de oluşturulan deneme gruplarının 3 tekerrürlü üretimi gerçekleştirilmiş ve her bir örnekten 2 paralelli olacak şekilde analiz gerçekleştirilmiştir. Araştırmada %0,5 kekik yağı kullanımının *L. monocytogenes* ve *S. aureus* içeren örneklerde daha fazla antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir ($p < 0,05$). Kekik yağının bakteri gelişimini inhibe ettiği belirlenmekle birlikte, kekik yağının keskin aromasının kaymağın kendine has tat ve kokusunu baskıladığı gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kaymak, Kekik yağı, *L. monocytogenes*, Nisin, *S. aureus*

To cite this article: Çayır Üstündağ H, Yalçın H. The Effect of Nisin and Thyme Oil on *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* Inoculated into Cream During Storage. Kocatepe Vet J. (2022) 15(2):200-208

Submission: 14.04.2022 Accepted: 19.05.2022 Published Online: 30.05.2022

ORCID ID: HÇÜ: 0000-0003-1567-3729, HY: 0000-0003-2162-2418

*Corresponding author e-mail: hyalcin@mehmetakif.edu.tr

GİRİŞ

Süt ve ürünleri, insanların sağlıklı, dengeli ve yeterli beslenebilmeleri için gerekli olan yağ, protein, mineral ve vitaminleri barındırmaktadır (Baysal 2004). Kaymak, süt yağından elde edilen yaklaşık %60 oranında yağ içeren bir süt ürünüdür. Afyonkarahisar başta olmak üzere Erzurum, Kilis, Edirne, Kocaeli, İstanbul, Ankara ve Bursa illerinde de geleneksel yöntemler ile kaymak üretimi yapılmaktadır (Hasdoğan 2004). Türkiye’de özellikle manda ve inek sütlerinden kaymak üretimi yaygındır. Ancak yağ ve kuru madde içeriği ile kaymak bağlama özelliği yüksek olduğu için en iyi kaymak manda sütünden elde edilir (İpekçiöglü ve Gürler 2017). Avrupa’nın güneydoğu bölgeleri (Sırbistan, Bosna-Hersek, Karadağ) ile İran, Afganistan ve Hindistan’da da kaymak benzeri ürünler üretilmektedir (Pudja ve ark. 2008).

Gıda kaynaklı hastalıklar gün geçtikçe artmakta ve önemli sağlık sorunları haline gelmektedir. Patojen mikroorganizmaların neden olduğu hastalıklar ise en tehlikeli grupta yer almaktadır (Anyoğu ve ark. 2021). Kaymak içerdiği besin öğeleri, yüksek su oranı ve fermente ürün olmamasından dolayı patojen mikroorganizmaların üremeleri için elverişli bir ortamdır (İpekçiöglü ve Gürler 2017).

L. monocytogenes doğada yaygın olarak bulunan, birçok çevresel etmene karşı direnç gösteren, buzdolabı sıcaklığında üreyebilen gıda kaynaklı patojen bir bakteridir (Zamuz ve ark. 2021). Bu özellikleri ile *L. monocytogenes* et, süt ve süt ürünleri, deniz ürünleri ve sebzeler gibi çeşitli gıdalarda doğal olarak bulunabilmekte ve gelişme gösterebilmektedir (EFSA 2019). Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği’ne göre; *L. monocytogenes* için tolerans yoktur, limit değeri “Bulunmamalı/25g” şeklindedir (Anonim 2011).

Stafilokoklar insanlarda ve hayvanlarda çeşitli enfeksiyonlara ve intoksikasyonlara neden olan bakterilerdir. Koagulaz negatif ve koagulaz pozitif stafilokoklar enfeksiyon oluşturabilmektedirler ancak gıda intoksikasyonlarının en önemli etmeni *S. aureus*’tur (Cheung ve ark. 2021). *S. aureus* geniş pH ve sıcaklık aralığında gelişme gösterebilmekte ve birçok gıda maddesinde canlılığını koruyabilmektedir (Abdeen ve ark. 2020). Süt ve süt ürünlerindeki en önemli kontaminasyon kaynağı mastitisli ineklerin sütleri ile sağlıklı ineklerden elde edilen temiz sütlerin birbirine karışması ve işletme hijyenine dikkat edilmemesidir (Küplülü ve ark. 2002). Gıda işletmelerindeki personelden hapşırma, öksürme gibi refleksler ile kontaminasyon meydana gelebilmektedir. Bununla birlikte enfekte olmuş deriden de gıdalara geçebilmektedir (Bergdoll ve Wong 2006).

Bakteriyosinlerin gıdaları korumak amacıyla kullanılmalarının en önemli nedenlerden biri GRAS (Generally Recognized As Safe) maddeler listesinde yer almasıdır. Diğer sebepler ise sıcaklık ve pH’ya karşı dirençli olmaları, patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etki göstermeleridir (İbrahim ve

ark. 2021). Nisin, lantibiyotikler grubunda bulunan, laktik asit bakterilerinden biri olan *Lactococcus lactis*’in ürettiği 1. sınıf bakteriyosinler arasında yer alan bir bileşiktir (Cheigh ve Pyun 2005). Ülkemizde peynir, kaymak, irmik, puding, pastörize sıvı yumurta gibi ürünlerde 3-12,5 mg/kg aralığında değişen dozlarda kullanımına izin verilmektedir (Anonim 2013). Diğer bakteriyosinlere oranla nisin antibakteriyel etki alanı daha fazladır. Gram pozitif bakterilerin neredeyse tamamı üzerinde etkilidir (Arauz ve ark. 2009). Şelat oluşturucu ajanlarla birlikte kullanıldığında gram negatif bakteriler üzerinde de etkin olduğu belirtilmiştir (Bozaris ve Adams 1999). Nisin gıda endüstrisinde bakteriyel kontrol için değişik dozlarda (100-2000 IU g⁻¹) yaygın olarak kullanılmakta olup (Khelissa ve ark. 2021) *L. monocytogenes*’e karşı yüksek etkili olduğu belirtilmiştir (Zhang ve ark. 2021). Nisin hedef hücre zarında porlar oluşturarak hücre için gerekli mikro moleküllerin sızmasına sebep olur. Hedef membran ile ilk temastan nisin C-terminal bölgesi sorumludur. Nisin C-terminal bölgesi ile hedefteki fosfatidilgliserole bağlanır, müteakiben gözenek oluşumu ve ani hücre ölümü gerçekleşir (Liu ve ark. 2022).

Kekik, Labiateae ailesine ait odunsu ve aromatik bir bitkidir. Kekik yağı ise 60’dan fazla maddeyi yapısında bulundurmaktadır. Kekik yağının en önemli bileşikleri timol (%44-60), karvakrol (%2,2-4,2), p-simen (%18,5-23,5), monoterpen hidrokarbonlar ve c-terpinen (%16,1-18,9)’dir (Baranauskiene ve ark. 2003). Bunlardan karvakrol ve timolün antimikrobiyal etkinliğinin yüksek olduğu bildirilmiştir (Benli ve Yiğit 2005). Kekik yağında bulunan fenolik bileşiklerin mikroorganizmaların hücre zarındaki fosfolipit tabakasını uyarıp, hücre içinde bulunan yaşamsal öneme sahip yapıların geçirgenliğini artırarak veya mikroorganizmaların enzim sistemlerini bozarak etki ettiği belirtilmektedir (Helander ve ark. 1998; Lambert ve ark. 2001).

Bu çalışmada, kaymağa inoküle edilen *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus* üzerine nisin ve kekik yağının depolama süresince etkisi araştırılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Araştırma kapsamında yerel bir süt işletmesinin, inek sütünden ürettiği kaymaklar kullanılmıştır. Süt kaymağı orijinal ambalajında ve soğuk zincir kırılmadan laboratuvara getirilmiş, zaman geçmeden işleme alınmıştır. Çalışmada kullanılan kaymakların araştırmaya konu olan patojenleri içerip içermediği kaymak kontrol grubu oluşturularak incelenmiştir. Araştırmada *Listeria monocytogenes* RSKK 02028 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşları kullanılmıştır.

Çalışma Gruplarının Hazırlanması

Her bakteri için 2 adet kaymak kontrol, 2 adet bakteri kontrol, 5 mg/kg ve 10 mg/kg nisin (Merck, Almanya) ile %0,25 ve %0,5 kekik yağı (Origanum onites, Manolya Doğal Aromatik Ürünler Gıda San. ve Tic. Ltd. Şti. İzmir) eklenerek toplam 12 grup oluşturulmuştur. Bakteri kontrol gruplarında sadece ilgili bakteri kullanılmıştır. Üç tekerrürlü ve iki paralelli olarak yürütülen çalışmanın 0., 3., 5. ve 7. depolama günlerinde mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Ayrıca pH değeri (WTW pH 3110 Set 2), Oksidasyon Redüksiyon Potansiyeli-ORP (WTW Sentix ORP Elektrodu) ve su aktivitesi değeri-aw (Testo F 650) ölçülmüştür.

Kontaminasyon Sıvısının Hazırlanması

Ayrı çalışma günlerinde olmak üzere -80 °C'de bulunan suşlardan 40 µl alınarak CASO Broth (Merck, Almanya) besiyerine aktarılmıştır. Daha sonra *L. monocytogenes* 30 °C'de, *S. aureus* 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası suşlar 5000 rpm'de 5 dakika santrifüj (Eppendorf Centrifuge 5810 R) edilmiştir. Süpernatant uzaklaştırılarak peletlerin üzerine %0,9'luk steril fizyolojik tuzlu sudan 10 ml eklenerek vorteks aracılığı ile pelet dağıtılmıştır ve santrifüj işlemi tekrarlanmıştır. Bu işlem 3 defa yapıldıktan sonra suşların bulunduğu peletler %0,1'lik peptonlu su içinde süspanse edilerek birleştirilmiştir (Yalçın ve Arslan 2011).

Örneklere Bakteri ve Antimikrobiyal Madde Eklenmesi

Araştırma kapsamındaki kaymak kontrol grubu haricindeki her bir çalışma grubu tek bir bakteri ile kontamine edilmiştir. Kontaminasyon düzeyi 0,5 McFarland ile ayarlama ve sonrasında seri dilüsyonlar yapılarak 5 log KOB/ml olacak şekilde ayarlanmış ve bakteri adaptasyonu için 30 dakika beklenmiştir. Nisin gruplarını oluşturmak için 500 ppm nisin çözeltisinden C ve M gruplarına 1 gram, D ve N gruplarına 2 gram eklenmiştir. Kekik yağı gruplarını oluşturmak için ise E ve P gruplarına 250 µl, F ve R gruplarına ise 500 µl kekik yağı eklenmiştir. Tüm ekleme aşamalarından sonra örnekler steril cam baget ile manuel olarak 2 dakika sürecince aseptik şartlarda aynı kişi tarafından karıştırılarak homojenizasyon sağlanmıştır. Bu aşamayı takiben 30 dakika daha beklenip 0. gün analizleri yapılmıştır. Hazırlanan gruplar depolama süresince buzdolabında (+4 °C) muhafaza edilmiştir.

Mikrobiyolojik Analizler

L. monocytogenes inoküle edilen örneklerin mikrobiyolojik analizleri Yalçın ve Arslan'ın (2011), belirttiği yöntemle yapılmıştır. Seri dilüsyonlar hazırlanarak PALCAM Agara (Merck, Almanya) ekimler yapılmış ve petripler 30±2 °C'de 24-48 saat inkübe edilip siyah haleli ve gri olan koloniler sayılmıştır. *S. aureus* inoküle edilen örneklerin mikrobiyolojik analizleri Burnham ve ark. (2008),

belirttiği yöntem ile yapılmıştır. Baird Parker Agara (BPA-Merck, Almanya) ekimler yapılmış ve petripler 37±2 °C'de 24-48 saat inkübe edilip şeffaf zonlu, 1-2 mm çaplı parlak siyah renkli koloniler sayılmıştır. Her iki bakterinin sayım sonuçları log₁₀ kob/g olarak hesaplanmıştır.

İstatistiksel Analiz

Araştırmada elde edilen veriler SPSS (Statistical Package for Social Sciences) Windows 22.0 programı kullanılarak analiz edilmiştir. Gruplar arasındaki fark Kruskal Wallis, grup içerisindeki tekrarlı ölçümler arasındaki fark Friedman ve Wilcoxon testi ile incelenmiştir.

BULGULAR

Kontrol grubu kaymakta *L. monocytogenes* ve *S. aureus* araştırılmış ancak herhangi bir bulguya rastlanmamıştır.

L. monocytogenes ile kontamine edilen kaymaklarda saptanan bakteri sayıları Tablo 1'de verilmiştir. Herhangi bir inhibisyon uygulaması yapılmayan B grubunda depolama sonunda 2.41 log artış belirlenmiştir. Bunun yanında 5 mg/kg nisin uygulanan C grubunda 2.71, 10 mg/kg nisin uygulanan D grubunda ise 2.75 log çoğalma belirlenmiştir. Diğer yandan %0,25 kekik yağı kullanılan grupta 2.39 ve %0,5 kekik yağı ilave edilen grupta 2.30 log çoğalma tespit edilmiştir. Her iki maddenin de çalışmamızda kullanılan dozlarının kaymakta *L. monocytogenes* üzerine inhibisyon etkisi belirlenmemiştir. Gruplar içerisinde *L. monocytogenes*'e karşı en etkili olan %0,5 kekik yağıdır.

L. monocytogenes kullanılan gruplarda aw değeri depolama süresince dalgalı seyir göstermiştir. Tüm gruplar içerisinde en düşük değerin 79,05±0,49 ile A grubunun 3. depolama gününde, en yüksek değerin ise 96,35±0,89 ile B grubunun 0. gününde olduğu belirlenmiştir (Tablo 2). ORP değerlerine baktığımızda en düşük değerin 2,43±0,24 (D grubu, 0. gün), en yüksek değerin ise 104,03±2,4 (A grubu, 3. gün) olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3). Tüm gruplarda pH değerlerinin 0. güne kıyasla depolama sonunda düştüğü ve bu düşüşün istatistiki olarak önemli olduğu (p<0,05) ortaya konulmuştur (Tablo 4).

S. aureus ile kontamine edilen kaymaklarda saptanan bakteri sayıları Tablo 5'te verilmiştir. Nisin ve kekik yağı kaymağa inoküle edilen *S. aureus*'u depolama süresince inhibe etmiştir. Kekik yağı kullanılan gruplarda bakteri sayısındaki azalmanın istatistiki olarak önemli olduğu (p<0,05) belirlenmiştir (Tablo 5).

S. aureus kullanılan gruplarda aw değerinin depolamanın 0. günü ile son günü arasındaki farkların istatistiki olarak önemli olduğu (p<0,05) belirlenmiştir (Tablo 6). ORP sonuçlarını incelediğimizde en düşük değer 3,73±0,21 (N grubu-10mg/kg nisin, 0. gün), en yüksek değer ise aynı grubun 5. gününde 215,67±0,57 olarak tespit edilmiştir (Tablo 7). N grubu hariç diğer

araştırma gruplarında pH değerlerinin 0. güne kıyasla depolama sonunda düştüğü ve bu düşüşün istatistiki

olarak önemli olduğu ($p < 0,05$) bulunmuştur (Tablo 8).

Tablo 1. Nisin ve kekik yağı ilave edilmiş kaymaklardaki *L. monocytogenes* sayıları (\log_{10} kob/g)

Grup	Depolama Süresi (Gün)			
	0	3	5	7
B	5,42±0,09 ^{Aa}	7,58±0,09 ^{Ba}	7,67±0,06 ^{Ba}	7,83±0,06 ^{Ca}
C	5,36±0,21 ^{Aa}	7,68±0,01 ^{Ba}	7,73±0,02 ^{Bab}	8,07±0,03 ^{Ca}
D	5,28±0,00 ^{Aa}	7,61±0,16 ^{Ba}	7,83±0,04 ^{Bb}	8,03±0,21 ^{Ca}
E	5,47±0,07 ^{Aa}	7,39±0,03 ^{Bb}	7,59±0,05 ^{Bc}	7,86±0,33 ^{Ba}
F	5,46±0,08 ^{Aa}	7,34±0,09 ^{Bb}	7,46±0,10 ^{Bc}	7,76±0,09 ^{Ba}

abc : Aynı sütunda (↓) farklı harflerle gösterilen veriler arasında $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel fark bulunmaktadır.

ABC : Aynı satırda (→) farklı harflerle gösterilen veriler arasında $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel fark bulunmaktadır.

Veriler Aritmetik ortalama \pm Standart sapma olarak verilmiştir.

(B: Bakteri kontrol grubu, C: 5 mg/kg nisin eklenmiş grup, D: 10 mg/kg nisin eklenmiş grup, E: %0,25 kekik yağı eklenmiş grup, F: %0,5 kekik yağı eklenmiş grup)

Tablo 2. *L. monocytogenes* ile kontamine kaymak gruplarında a_w değerleri

Grup	Depolama Süresi (Gün)			
	0	3	5	7
A	82,42±0,32 ^{Cd}	79,05±0,49 ^{Dd}	92,52±0,21 ^{Ab}	86,47±0,26 ^{Bd}
B	96,35±0,89 ^{Aa}	88,05±0,36 ^{Cb}	89,72±0,45 ^{Bd}	84,67±0,43 ^{De}
C	95,63±0,96 ^{Aa}	86,22±0,59 ^{Cc}	88,48±0,32 ^{Be}	86,67±0,27 ^{Cd}
D	88,82±0,87 ^{Bb}	86,60±0,37 ^{Cc}	91,43±0,41 ^{Ac}	89,47±0,34 ^{Bc}
E	87,72±0,47 ^{Cc}	86,63±0,20 ^{Dc}	93,52±0,30 ^{Aa}	91,73±0,28 ^{Bb}
F	87,80±0,50 ^{Dc}	89,43±0,19 ^{Ca}	91,48±0,39 ^{Bc}	93,47±0,16 ^{Aa}

abc : Aynı sütunda (↓) farklı harflerle gösterilen veriler arasında $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel fark bulunmaktadır.

ABC : Aynı satırda (→) farklı harflerle gösterilen veriler arasında $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel fark bulunmaktadır.

Veriler Aritmetik ortalama \pm Standart sapma olarak verilmiştir.

(A: Herhangi bir uygulama yapılmayan grup, B: Bakteri kontrol grubu, C: 5 mg/kg nisin eklenmiş grup, D: 10 mg/kg nisin eklenmiş grup, E: %0,25 kekik yağı eklenmiş grup, F: %0,5 kekik yağı eklenmiş grup)

Tablo 3. *L. monocytogenes* ile kontamine kaymak gruplarında ORP değerleri

Grup	Depolama Süresi (Gün)			
	0	3	5	7
A	12,82±0,40 ^{Cd}	104,03±2,4 ^{Aa}	8,73±0,29 ^{Df}	76,77±0,36 ^{Bb}
B	33,37±0,40 ^{Aa}	20,42±0,33 ^{Cf}	15,82±0,32 ^{Dd}	22,47±0,39 ^{Be}
C	17,15±0,59 ^{Cc}	81,17±0,83 ^{Ab}	69,60±0,31 ^{Ba}	12,55±0,32 ^{Df}
D	2,43±0,24 ^{Df}	47,57±0,48 ^{Be}	44,83±0,65 ^{Cb}	127,27±0,51 ^{Aa}
E	18,63±0,56 ^{Cb}	58,60±0,64 ^{Dd}	9,60±0,42 ^{Ae}	57,33±0,20 ^{Bc}
F	10,12±0,38 ^{De}	72,03±0,74 ^{Ac}	18,33±0,26 ^{Cc}	36,68±0,27 ^{Bd}

abc : Aynı sütunda (↓) farklı harflerle gösterilen veriler arasında $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel fark bulunmaktadır.

ABC : Aynı satırda (→) farklı harflerle gösterilen veriler arasında $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel fark bulunmaktadır.

Veriler Aritmetik ortalama \pm Standart sapma olarak verilmiştir.

(A: Herhangi bir uygulama yapılmayan grup, B: Bakteri kontrol grubu, C: 5 mg/kg nisin eklenmiş grup, D: 10 mg/kg nisin eklenmiş grup, E: %0,25 kekik yağı eklenmiş grup, F: %0,5 kekik yağı eklenmiş grup)

Tablo 4. *L. monocytogenes* ile kontamine kaymak gruplarında pH değerleri

Grup	Depolama Süresi (Gün)			
	0	3	5	7
A	6,26±0,03 ^{Bb}	6,28±0,02 ^{Ba}	6,77±0,03 ^{Aa}	5,54±0,03 ^{Ca}
B	6,33±0,03 ^{Ba}	5,90±0,02 ^{Cb}	6,57±0,02 ^{Ab}	5,56±0,02 ^{Da}
C	5,75±0,03 ^{Ac}	5,54±0,03 ^{Be}	5,25±0,03 ^{Ce}	4,46±0,02 ^{De}
D	5,66±0,02 ^{Bd}	5,78±0,03 ^{Ac}	5,55±0,04 ^{Cc}	5,43±0,03 ^{Db}
E	5,75±0,04 ^{Ac}	5,73±0,03 ^{Ad}	5,29±0,03 ^{Be}	4,76±0,03 ^{Cd}
F	5,44±0,03 ^{Ce}	5,75±0,04 ^{Ad}	5,47±0,03 ^{Bd}	5,25±0,03 ^{Dc}

abc : Aynı sütunda (↓) farklı harflerle gösterilen veriler arasında p<0,05 düzeyinde istatistiksel fark bulunmaktadır.

ABC : Aynı satırda (→) farklı harflerle gösterilen veriler arasında p<0,05 düzeyinde istatistiksel fark bulunmaktadır.

Veriler Aritmetik ortalama ± Standart sapma olarak verilmiştir.

(A: Herhangi bir uygulama yapılmayan grup, B: Bakteri kontrol grubu, C: 5 mg/kg nisin eklenmiş grup, D: 10 mg/kg nisin eklenmiş grup, E: %0,25 kekik yağı eklenmiş grup, F: %0,5 kekik yağı eklenmiş grup)

Tablo 5. Nisin ve kekik yağı ilave edilmiş kaymaklardaki *S. aureus* sayıları (log₁₀ kob/g)

Grup	Depolama Süresi (Gün)			
	0	3	5	7
L	5,59±0,11 ^{Aa}	5,68±0,02 ^{Aa}	5,72±0,00 ^{Aa}	5,70±0,01 ^{Aa}
M	5,36±0,27 ^{Ab}	5,30±0,16 ^{Ab}	5,38±0,20 ^{Ab}	5,35±0,20 ^{Ab}
N	5,56±0,09 ^{Aa}	5,47±0,01 ^{Ac}	5,48±0,00 ^{Ab}	5,52±0,04 ^{Ab}
P	5,81±0,08 ^{Ac}	5,67±0,03 ^{Aa}	5,68±0,06 ^{Aa}	5,47±0,30 ^{Bb}
R	5,75±0,15 ^{Ac}	5,62±0,21 ^{Aa}	5,40±0,23 ^{Bc}	5,30±0,18 ^{Bb}

abc : Aynı sütunda (↓) farklı harflerle gösterilen veriler arasında p<0,05 düzeyinde istatistiksel fark bulunmaktadır.

ABC : Aynı satırda (→) farklı harflerle gösterilen veriler arasında p<0,05 düzeyinde istatistiksel fark bulunmaktadır.

Veriler Aritmetik ortalama ± Standart sapma olarak verilmiştir.

(L: Bakteri kontrol grubu, M: 5 mg/kg nisin eklenmiş grup, N: 10 mg/kg nisin eklenmiş grup, P: %0,25 kekik yağı eklenmiş grup, R: %0,5 kekik yağı eklenmiş grup)

Tablo 6. *S. aureus* ile kontamine kaymak gruplarında a_w değerleri

Grup	Depolama Süresi (Gün)			
	0	3	5	7
A	82,42±0,32 ^{Ce}	79,05±0,49 ^{De}	92,52±0,21 ^{Ab}	86,47±0,26 ^{Bc}
L	94,52±0,35 ^{Aa}	83,37±0,25 ^{Cd}	91,47±0,28 ^{Bd}	83,42±0,38 ^{Cd}
M	90,75±0,49 ^{Cc}	89,22±0,30 ^{De}	94,55±0,40 ^{Aa}	92,58±0,27 ^{Ba}
N	91,80±0,47 ^{Cb}	92,62±0,20 ^{Ba}	94,78±0,38 ^{Aa}	90,67±0,29 ^{Db}
P	89,42±0,36 ^{Dd}	90,88±0,34 ^{Cb}	94,50±0,28 ^{Aa}	92,50±0,33 ^{Ba}
R	89,52±0,33 ^{Bde}	89,55±0,46 ^{Bc}	92,47±0,24 ^{Ac}	92,72±0,46 ^{Aa}

abc : Aynı sütunda (↓) farklı harflerle gösterilen veriler arasında p<0,05 düzeyinde istatistiksel fark bulunmaktadır.

ABC : Aynı satırda (→) farklı harflerle gösterilen veriler arasında p<0,05 düzeyinde istatistiksel fark bulunmaktadır.

Veriler Aritmetik ortalama ± Standart sapma olarak verilmiştir.

(A: Herhangi bir uygulama yapılmayan grup, L: Bakteri kontrol grubu, M: 5 mg/kg nisin eklenmiş grup, N: 10 mg/kg nisin eklenmiş grup, P: %0,25 kekik yağı eklenmiş grup, R: %0,5 kekik yağı eklenmiş grup)

Tablo 7. *S. aureus* ile kontamine kaymak gruplarında ORP değerleri

Grup	Depolama Süresi (Gün)			
	0	3	5	7
A	12,82±0,40 ^{Ce}	104,03±2,40 ^{Ab}	8,73±0,29 ^{De}	76,77±0,36 ^{Be}
L	26,12±0,59 ^{Ba}	26,03±0,44 ^{Be}	92,78±2,27 ^{Ac}	18,30±0,34 ^{Cf}
M	19,13±0,52 ^{Dd}	86,33±1,27 ^{Cc}	134,95±2,64 ^{Ab}	112,62±0,38 ^{Bd}
N	3,73±0,21 ^{Df}	52,15±1,84 ^{Cd}	215,67±0,57 ^{Aa}	209,33±0,75 ^{Ba}
P	23,32±0,64 ^{Cc}	10,50±0,37 ^{Df}	76,65±0,43 ^{Bd}	116,57±0,28 ^{Ac}
R	24,78±0,68 ^{Cb}	114,67±0,77 ^{Ba}	5,32±0,23 ^{Df}	171,62±0,23 ^{Ab}

abc: Aynı sütunda (↓) farklı harflerle gösterilen veriler arasında p<0,05 düzeyinde istatistiksel fark bulunmaktadır.

ABC: Aynı satırda (→) farklı harflerle gösterilen veriler arasında p<0,05 düzeyinde istatistiksel fark bulunmaktadır.

Veriler Aritmetik ortalama ± Standart sapma olarak verilmiştir.

(A: Herhangi bir uygulama yapılmayan grup, L: Bakteri kontrol grubu, M: 5 mg/kg nisin eklenmiş grup, N: 10 mg/kg nisin eklenmiş grup, P: %0,25 kekik yağı eklenmiş grup, R: %0,5 kekik yağı eklenmiş grup)

Tablo 8. *S. aureus* ile kontamine kaymak gruplarında pH değerleri

Grup	Depolama Süresi (Gün)			
	0	3	5	7
A	6,26±0,03 ^{Ba}	6,28±0,02 ^{Ba}	6,77±0,03 ^{Aa}	5,54±0,03 ^{Ca}
L	6,17±0,02 ^{Ab}	5,79±0,04 ^{Bc}	5,45±0,03 ^{Cb}	4,49±0,07 ^{De}
M	5,62±0,05 ^{Ad}	5,52±0,04 ^{Be}	5,33±0,03 ^{Cc}	4,75±0,04 ^{Dd}
N	5,44±0,04 ^{Be}	5,95±0,02 ^{Ab}	5,24±0,03 ^{Cd}	5,42±0,03 ^{Bb}
P	5,65±0,03 ^{Ad}	5,65±0,04 ^{Ad}	5,46±0,03 ^{Bb}	4,47±0,03 ^{Ce}
R	5,76±0,03 ^{Ac}	5,54±0,03 ^{Be}	5,47±0,05 ^{Bb}	4,90±0,05 ^{Cc}

abc: Aynı sütunda (↓) farklı harflerle gösterilen veriler arasında p<0,05 düzeyinde istatistiksel fark bulunmaktadır.

ABC: Aynı satırda (→) farklı harflerle gösterilen veriler arasında p<0,05 düzeyinde istatistiksel fark bulunmaktadır.

Veriler Aritmetik ortalama ± Standart sapma olarak verilmiştir.

(A: Herhangi bir uygulama yapılmayan grup, L: Bakteri kontrol grubu, M: 5 mg/kg nisin eklenmiş grup, N: 10 mg/kg nisin eklenmiş grup, P: %0,25 kekik yağı eklenmiş grup, R: %0,5 kekik yağı eklenmiş grup)

TARTIŞMA

Kaymakların mikrobiyal yükü elde edildikleri hayvan, işletmelerin hijyenik koşulları, hatalı yapılan ısıl işlemler, üretim sonrasında meydana gelen kontaminasyonlar ve muhafaza aşamasında yapılan hatalara bağlı olarak artmaktadır (Karapınar ve Gönül 1999).

Nisinin düşük pH değerlerinde daha aktif olduğu, düşük protein ve yağ oranlarına sahip gıdalarda ve pH<6,0'da en etkili olduğu (Okereke ve Montville 1991) ve aktivitesinin yüksek yağ oranlarında büyük ölçüde azaldığı (Jung ve ark. 1992) belirtilmiştir. Buna rağmen yağ oranının ve pH'nın nisin üzerine, dolayısıyla da bakterilerin inhibisyonu üzerine etkisi, özellikle kullanılan nisin konsantrasyonuna bağlı olarak değişmektedir (Carminati ve ark. 1989; Jung ve ark.1992). Ayrıca nisinin yaygın kullanımının *L. monocytogenes*'te rastgele ve suşa göre değişebilen direnç gelişimine neden olabileceği belirtilmiştir (Gravesen ve ark. 2002).

Bruno ve ark. (1992), 2,5 µg/ml nisinin (pH 6,5) *L. monocytogenes* suşlarının membran potansiyelini bozarak 5 log'luk bir azalmaya neden olduğunu saptamışlardır. *L. monocytogenes*'in nisine karşı duyarlılığının saptandığı

bir çalışmada, 10 µg/ml düzeyindeki nisinin *L. monocytogenes* ATCC 19115, UAL500 ve Scott A suşlarının 10⁹ kob/ml olan başlangıç popülasyonunda 6-7 log'luk bir düşüş meydana getirdiği ve ortama tuz ilavesinin nisinin bakterisit etkisini arttırdığı bildirilmiştir (Harris ve ark. 1991). Tarafımızdan yapılan çalışmada 5 mg/kg ve 10 mg/kg dozlarında kullanılan nisin 7 günlük depolama süresince kaymaktaki bakteri sayısında herhangi bir azalma meydana getirmemiştir. Bunun nedeni ise kaymaktaki yüksek yağ oranının (%60) nisinin etkisini azaltması olabilir.

Boussouel ve ark. (2000), tarafından yağsız sütlerle yapılan bir çalışmada, 100 ve 200 IU'lık nisinin *L. monocytogenes*'i inhibe ettiği belirtilmiştir. Bhatti ve ark. (2004), homojenize, pastörize ve çiğ sültere ilk olarak 10⁴ kob/ml oranında *L. monocytogenes* ve 0-500 IU/ml aralığındaki farklı dozlarda nisin ilave etmişlerdir. Yapılan çalışma sonucunda *L. monocytogenes* sayısının azaldığını tespit etmişlerdir. Kim ve ark. (2008), sütte sarımsak suyu ve nisinin *L. monocytogenes* üzerindeki etkinliğini araştırmak için 62,5, 125, 250 ve 500 IU/ml nisin kullanmışlar ve bu oranların güçlü antilisterial

etkisinin olduğu sonucuna varmışlardır. Abdala ve ark. (1993), pastörize süte 10^4 - 10^5 kob/ml düzeyinde *L. monocytogenes* Scott A ve 25 µg/ml nisin ekleyerek ürettikleri peynirlerde, 60 günlük depolama süresince *L. monocytogenes*'in inhibe olmadığını saptamışlar ve buna neden olarak da peynirlerin pH değerlerinin yüksek olmasından dolayı nisinin etkili olmadığını belirtmişlerdir. *L. monocytogenes*'e karşı nisinin etkisinin araştırıldığı çalışma gruplarımızda pH değerlerinin 5-6 aralığında olmasının nisinin bu bakteriye karşı etkinliğini sınırlandırdığı düşünülmektedir.

Aktürkoğlu ve Erol (1999), beyaz peynirde 30 µg/ml nisin kullanımının depolamanın 60. gününde *L. monocytogenes*'i tamamen yok ettiğini ifade etmişlerdir. Yapmış olduğumuz çalışmada ise 5 mg/kg ve 10 mg/kg dozlarında kullanılan nisinin 7 günlük depolama süresince *L. monocytogenes* üzerine herhangi bir bakterisidal etkisi gözlenmemiştir. Ürün tipi, pH'ı ve içeriği, depolama ya da kullanılan antimikrobiyal maddenin doz arttırımı ile gıdalarda *L. monocytogenes* varlığının değişkenlik gösterebileceği düşünülmektedir. Araştırmamızda hem nisinin hem de kekik yağının kullanıldığı gruplarda su aktivitesi değerinin düşük olması bunun yanında ORP değerinin dalgalı seyir göstermesi bu maddelerinin kaymak ortamında *L. monocytogenes*'e karşı etkinlik göstermesini engellemiş olabilir.

Bitkisel antimikrobiyal maddeler Gr (+) bakterilere Gr (-) bakterilerden daha etkilidir (Yalçın ve Uyanık 2019). Çalışmada kullanılan dozların Gram (+) bakteri olan *L. monocytogenes* karşı etki etmediği ancak diğer bir Gram (+) bakteri olan *S. aureus*'a karşı istatistiki öneme sahip ($p<0,05$) azalma sağladığı belirlenmiştir.

Rasooli ve ark. (2006), 250 ppm dozundaki kekik esansiyel yağının, kültür ortamında *L. monocytogenes*'i 20 dk. içerisinde 7 log düzeyinden tespit limitinin altına düşürdüğünü ifade etmişlerdir. El-Zehery ve ark. (2021), kekiğin *Listeria monocytogenes* (ATCC 19116) suşunda kültür ortamında 24.5 mm'lik inhibisyon zonu oluşturduğunu belirtmiştir. Fenolik bileşiklerin *L. monocytogenes*'e karşı etkinliğinin doza, bakteri suşuna ve ürünün yapısına göre değişebileceği belirtilmiştir (Zamuz ve ark. 2021). Karvakrol, timol, nisin ve ögenolün farklı doz ve kombinasyonlarının sütte kontrol grubuna göre *L. monocytogenes* sayısında değişik düzeylerde azalma sağladığı ifade edilmiştir (Alves ve ark. 2016). Gıdalardaki bakteri gelişimini kontrol altına almak için çoklu bariyer teknolojisi kullanılmaktadır (Zamuz ve ark. 2021). Bütül gallat ile kombine edilen nisinin 5 ayrı *L. monocytogenes* suşunu inhibe ettiği belirtilmiştir (Li 2017). Araştırmamızdaki maddelerin doz kombinasyonlarının farklı etkinlik göstereceği varsayılmaktadır.

Jamuna ve ark. (2005), nisinin faklı Gram (-) ve Gram (+) mikroorganizmalar üzerine etkisini incelemişlerdir. Nisinin 40 IU/ml ve üzeri konsantrasyonlarda sıvı besi yerinde kullanımı *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *C. sporogenes* üzerine etkili olmuş; Gram (-) bakterilerden *E. coli* dirençli bulunmuş, *Pseudomonas* ise daha yüksek (320 IU/ml)

konsantrasyonlarda inhibe edilmiştir. Araştırmamızda kullanılan nisin miktarları kaymağa inoküle edilen *S. aureus* üzerine bakterisidal etki yapmamış ($p>0,05$) ancak bakteri üzerinde baskılayıcı etki göstermiştir.

Pires ve ark. (2008), natamisin, nisin ve nisin+natamisin içeren selüloz esaslı filmler üreterek dilimlenmiş mozzarella peynirindeki *S. aureus* ATCC 6538 üzerine antimikrobiyel etkinliğini 12 ± 2 °C'de 15 gün süreyle araştırmışlardır. Nisin içeren selüloz filmlerin *S. aureus* ATCC 6538 üzerine antimikrobiyel etki göstermediğini ifade etmişlerdir. Pinto ve ark. (2011), nisinin serro peynirinde 100 IU/ml ve 500 IU/ml dozlarında kullanımının *S. aureus* sayısını olgunlaşmanın 7. gününde sırasıyla 1,2 ve 2,0 log azalttığını tespit etmişlerdir. Ultra filtrasyondan geçirilen süttten üretilen ve 8 °C'de depolanan peynirlerde, 2 µg/g nisinin *S. aureus* sayısını 4 log azalttığı belirtilmiştir (Mohammadi ve Jodeiri 2014). Çalışmamızda kullanılan nisin dozlarının +4 °C'de 7 günlük depolama süresince kaymakta *S. aureus* sayısında herhangi bir azalma oluşturmadığı ancak bakteri gelişimini baskıladığı belirlenmiştir. Nisinin *S. aureus*'a karşı etkinliğinin az olması, dozuna ve kaymaktaki yağ oranına bağlanabilir.

Gıda intoksikasyonlarında en çok görülen toksin tipinin, toksisitesi en yüksek olan SEA olduğu, bunu SEB ve SED tiplerinin takip ettiği bildirilmektedir (Yıldırım ve ark. 2016). Araştırmada kullandığımız *S. aureus* ATCC 25923 A tipi enterotoksin oluşturmaktadır. Soejima ve ark. (2007), yağsız süte 1-2 log kob/ml *S. aureus* inoküle edip çalkalayarak 35 °C'de inkübe etmişlerdir. Bu koşulların *S. aureus* gelişimini ve SEA üretimini hızlandırdığını bildirmişlerdir. Kaymakta enterotoksin üreten *S. aureus* gelişimini önlemek amacıyla yaptığımız deneysel çalışmada kullanılan 5 mg/kg ve 10 mg/kg nisinin bakteri sayısını azaltıcı yönde bir etkisi olmamış ancak bakteri gelişimini baskılamıştır. Kekik yağının %0,25 oranında kullanılması 7. depolama gününde, %0,5 oranında kullanılması ise 5. depolama gününden itibaren *S. aureus* sayısını azaltıcı yönde etki göstermiştir. Gram (+) bakterilere karşı etkinliği bilinen (Üstündağ ve Yalçın, 2017) nisinin her ikisi de Gram (+) olan *L. monocytogenes* ve *S. aureus*'a karşı kaymak ortamında etkisiz kaldığı belirlenmiştir.

SONUÇ

L. monocytogenes eklenen gruplarda kullanılan antimikrobiyal maddeler ile miktarlarının depolama süresince bakteri üzerinde herhangi bir baskılayıcı etkisi gözlenmemiştir. Bunun tersine depolama sonunda bakteri sayısının arttığı ($p<0,05$) belirlenmiştir. *S. aureus* eklenen gruplarda ise kullanılan nisin miktarlarının olumlu etkisi olmamış ancak %0,25 kekik yağı 7., % 0,5 kekik yağı ise 5. depolama gününde 0. güne oranla inhibisyon sağlamıştır. Oluşan bu etkilerin ise istatistiki açıdan önemli ($p<0,05$) olduğu sonucuna varılmıştır. Tüm deneme gruplarında yapılan a_w , ORP ve pH analiz

sonuçlarına bakıldığında bakterilerin ürün ve depolama şartlarına göre yaşamsal farklılıklar gösterdikleri tespit edilmiştir.

Kaymağın raf ömrünün kısa olmasından dolayı 7 gün olarak belirlenen depolama süresi, sonraki çalışmalarda daha uzun tutularak kullanılan maddelerin ve miktarlarının etkinliği araştırılabilir. Ayrıca daha yüksek dozların kullanımının nasıl etki edeceğine yönelik çalışmalar da yapılabilir. Ancak nisin'in gıdalarda kullanımı için belirlenen limit değerlerin aşılmaması gerekmektedir. Kekik yağı için ise belirlenen limit değer yoktur. Kaymak gibi kendine özgü tat ve aromaya sahip bir üründe, baskın tat ve kokuya sahip bir maddenin kullanımı, kaymağın tüketilebilirliğini olumsuz yönde etkileyebilir.

Çıkar Çatışması: Yazarlar bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Yazarların Katkı Oranı: Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan etmişlerdir.

Etik izin: Bu çalışma "Hayvan Deneyleti Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik" Madde 8 (k) gereği HADYEK iznine tabi değildir.

Finansal Destek: Bu çalışmada herhangi bir kurumdan maddi destek alınmamıştır. Yazarlar öz kaynakları ile çalışmayı finanse etmişlerdir. Beyan ederiz.

Teşekkür: Bu çalışmada desteklerini veren Dr. Ali SOYUÇOK'a teşekkürlerimizi sunarız.

Açıklama: Bu çalışma ilk isim yazarın tezinden üretilmiştir. Bu çalışma daha önce herhangi bir kongre/sempozyumda sunulmamıştır. Yayımlanması için herhangi bir dergiye gönderilmemiştir. Beyan ederiz.

KAYNAKLAR

- Abdala OM, Davidson PM, Christen GL.** Survival of selected pathogenic bacteria in white pickled cheese made with lactic acid bacteria or antimicrobials. *J Food Protect.* 1993; 56:972-976.
- Abdeen EE, Mousa WS, Salam SYA, Al-Maary KS, Mubarak AS, Moussa IM, Hemeg HA, Almuzaini AM, Alajaji AI, Alsubki RA, Elbehiry A.** Antibioqram and phylogenetic diversity of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* strains from milk products and public health implications. *Saudi J Bio Sci.* 2020; 27(8):1968-1974.
- Aktürkoğlu E, Erol İ.** Beyaz peynir üretiminde nisin kullanımı ile *L. monocytogenes*'in inhibisyonu. *Turk J Vet Anim Sci.* 1999; 23:785-792.
- Alves FCB, Barbosa LN, Andrade BFMT, Albano M, Furtado FB, Marques Pereira AF, et al.** Inhibitory activities of the lantibiotic nisin combined with phenolic compounds against *Staphylococcus aureus* and *Listeria*

monocytogenes in cow milk. *J Dairy Sci.* 2016; 99(3):1831-1836. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10025>

- Anonim.** Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği. Kanun 5996. Resmi Gazete 29.12.2011-28157, 2011.
- Anonim.** Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği Resmi Gazete 30.16.2013-28693, 2013.
- Anyogu A, Olukored A, Anumudu C, Onyeaka H, Areo E, Adewale O, Odimba JN, Nwaiwu O.** Microorganisms and food safety risks associated with indigenous fermented foods from Africa. *Food Cont.* 2021; 129: 108227.
- Arauz LJ, Jozala AF, Mazzola PG, Penna TCV.** Nisin biotechnological production and application: A review. *Trends Food Sci Tech.* 2009; 20:146-154.
- Baranauskiene R, Venskutoni SPR, Viskelis P, Dambrauskiene E.** Influence of nitrogen fertilizers on the yield and composition of thyme (*Thymus vulgaris*). *J Agr Food Chem.* 2003; 51:7751-7758.
- Baysal A.** Beslenme. 10. Baskı, Hatiboğlu Yayınları, Ankara, Türkiye. 2004; s, 287-288.
- Benli M, Yiğit N.** Ülkemizde yaygın kullanımı olan kekik (*Thymus vulgaris*) bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi. *Orlab On-line Mik Derg.* 2005; 3:1-8.
- Bergdoll MS, Lee-Wong AC.** Staphylococcal intoxications, In: *Foodborne Infections and Intoxications*, Eds; Rieman HP, Cliver DO. Academic Press, Elsevier Inc., San Diego, California, USA. 2006; p, 523-562.
- Bhatti M, Veeramachaneni A, Shelef LA.** Factors affecting the antilisterial effects of nisin in milk. *Int J Food Microbiol.* 2004; 97:215-219.
- Boussouel N, Mathieu F, Junelles RAM, Milliere JB.** Effects of combinations of lactoperoxidase system and nisin on the behaviour of *L.monocytogenes* ATCC 15313 in skim milk. *Int J Food Microbiol.* 2000; 61:169-175.
- Bozariş IS, Adams MR.** Effect of chelators and nisin produced in situ on inhibition and inactivation of Gram negatives. *Int J Food Microbiol.* 1999; 53:105-113.
- Bruno MEC, Kaiser A, Montville TJ.** Depletion of proton motive force by nisin in *Listeria monocytogenes* cells. *Appl Environ Microbiol.* 1992; 58:2255-2259.
- Burnham G, Hanson DJ, Koshick CM, Ingham SC.** Death of *Salmonella* serovars, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* during the drying of meat: A case study using biltong and droewors. *J Food Safety.* 2008; 28:198-209.
- Carminati D, Giraffa G, Bossi MG.** Bacteriocin-like inhibitors of *Streptococcus lactis* against *Listeria monocytogenes*. *J Food Protect.* 1989; 52:614-617.
- Cheigh C, Pyun Y.** Nisin biosynthesis and its properties. *Biotechnol Lett.* 2005; 27:1641-1648.
- Cheung GY, Bae JS, Otto M.** Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. *Virulence.* 2021; 12(1):547-569.
- EFSA.** The European Union one health 2018 zoonoses report. *EFSA J.* 2019; 17(12): e05926.
- El-Zehery HR, Zaghoul RA, Abdel-Rahman HM, Ahmed SA, El-Dougoudg KH.** Novel strategies of essential oils, chitosan, and nano-chitosan for inhibition of multi-drug resistant: *E. coli* O157: H7 and *Listeria monocytogenes*. *Saudi J Bio Sci.* 2021. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.12.036>.
- Gravesen A, Jydegaard Axelsen AM, Mendes da Silva J, Hansen TB, Knøchel S.** Frequency of bacteriocin resistance development and associated fitness costs in *Listeria monocytogenes*. *App Environ Microbiol.* 2002; 68:756-764.

- Harris LJ, Fleming HP, Klaenhammer TR. Sensitivity and resistance of *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, Scott A and UAL500 to nisin. J Food Protect. 1991; 54:836-840.
- Hasdoğan H. Van ili kahvaltı salonlarında tüketime sunulan kaymakların bazı kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van, 2004.
- Helander IM, Alakomi HL, Latva-Kala K, Mattila-Sandhom T, Pol I, Smid EJ, Gorris LGM, von Wright A. Characterization of the action of selected essential oil components on gram negative bacteria. J Agric Food Chem. 1998; 46:3590-3595.
- İbrahim SA, Ayivi RD, Zimmerman T, Siddiqui SA, Altemimi AB, Fidan H, Esatbeyoğlu T, Bakhshayesh RV. Lactic acid bacteria as antimicrobial agents: Food safety and microbial food spoilage prevention. Foods. 2021; 10(12):1-13.
- İpekçioğlu V, Gürler Z. Afyonkarahisar'da tüketime sunulan Afyon kaymaklarında bazı patojen bakterilerin aranması. Kocatepe Vet J. 2017; 10(4):354-357.
- Jamuna M, Babusha ST, Jeevaratnam K. Inhibitory efficacy of nisin and bacteriocins from *Lactobacillus* isolates against food spoilage and pathogenic organisms in model and food systems. Food Microbiol. 2005; 22:449-454.
- Jung D, Bodyfelt FW, Daeschel MA. Influence of fat and emulsifiers on the efficacy of nisin in inhibiting *Listeria monocytogenes* in fluid milk. J Dairy Sci. 1992; 75:387-393.
- Karapınar M, Gönül Ş. Hububat ve hububat ürünlerinde mikrobiyolojik bozulmalar, patojen mikroorganizmalar ve muhafaza yöntemleri. Kitap: Gıda Mikrobiyolojisi, Ed; Ünlütürk A, Turantaş F, 2. Basım, Mengi Tan Basımevi, İzmir, Türkiye. 1999; s. 369-384.
- Kim EL, Choi NH, Bajpai VK, Kang SC. Synergistic effect of nisin and garlic shoot juice against *Listeria monocytogenes* in milk. Food Chem. 2008; 110:375-382.
- Khelissa S, Chihib NE, Gharsallaoui A. Conditions of nisin production by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* and its main uses as a food preservative. Archives of Microbiol. 2021; 203(2), 465-480.
- Küplülü Ö, Sarımehtetoğlu B, Kaymaz G. Pastörize sütlerde ELISA tekniği ile stafilokokal enterotoksin varlığının belirlenmesi. Turk J Vet Anim Sci. 2002; 26:631-637.
- Lambert R, Skandamis PN, Coote P, Nychas GJ. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. J Appl Microbiol. 2001; 91:453-62.
- Li KL. Inhibition of *Listeria monocytogenes* growth and biofilm production by nisin and phenolic compounds. Master thesis, University of Alberta Environmental Health Sciences, Alberta, Canada, 2017.
- Liu G, Nie R, Liu Y, Mehmood A. Combined antimicrobial effect of bacteriocins with other hurdles of physicochemic and microbiome to prolong shelf life of food: A review. Sci. Total Environ. 2022; 825:1-16, 154058.
- Mohammadi K, Jodeiri H. Effects of nisin and temperature on behavior of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in model cheeses. Kafkas Univ Vet Fak Derg. 2014; 20:461-464.
- Okereke A, Montville TJ. Bacteriocin-mediated inhibition of *Clostridium botulinum* spores by lactic acid bacteria at refrigeration and abuse temperatures. Appl Environ Microb. 1991; 57:3423-3428.
- Pinto MS, Fernandes de Carvalho A, Pires ACS, Campos-Souza AA, Fonseca da Silva PH, Sobral D. The effects of nisin on *Staphylococcus aureus* count and the physicochemical properties of Traditional Minas Serro cheese. Int Dairy J. 2011; 21:90-96.
- Pires ACS, Soares NFF, Andrade NJ, Silva LHM, Camilloto GP, Bernardes PC. Development And Evaluation Of Active Packaging For Sliced Mozzarella Preservation. Packag Technol Sci. 2008; 21:375-383.
- Pudja P, Djerovski J, Radovanovic M. An autochthonous Serbian product-Kajmak characteristics and production procedures. Dairy Sci Tech. 2008; 88:163-172.
- Rasooli I, Rezaei MB, Allameh A. Ultrastructural studies on antimicrobial efficacy of thyme essential oils on *Listeria monocytogenes*. Int J Infectious Dis. 2006; 10(3):236-241.
- Soejima T, Nagao E, Yano Y, Yamagata H, Kag H, Shinagawa K. Risk evaluation for staphylococcal food poisoning in processed milk produced with skim milk powder. Int J Food Microbiol. 2007; 115:29-34.
- Üstündağ HÇ, Yalçın H. Bakteriyosinler ve Gıdalarda Kullanımı. MAKÜ Sag Bil Enst Derg. 2017; 5(1):53-65.
- Yalçın H, Arslan A. *Escherichia coli* O157:H7 ve *Listeria monocytogenes* ile kontamine edilmiş broyler karkaslarında laktik asit, cetylpyridinium chloride ve trisodyum fosfatın tekil ve kombine etkilerinin incelenmesi. Kafkas Univ Vet Fak Derg. 2011; 17:625-630.
- Yalçın H, Uyanık İ. Bölüm: Kekik Esansiyel Yağlarının *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella spp.* Üzerine Antimikrobiyal Etkisi. Kitap: Beslenme ve Diyetetikte Güncel Yaklaşımlar. Ed; Yahya Özdoğan. IKSAD Uluslararası Yayınevi, Ankara, Türkiye. 2019; s. 151-178.
- Yıldırım T, Sırken B, Yavuz C. Çiğ süt ve peynirlerde koagülaz pozitif Stafilokoklar. Vet Hekim Der Derg. 2016; 87:3-12.
- Zamuz S, Munekata PE, Dzuovor CK, Zhang W, Sant'Ana AS, Lorenzo, JM. The role of phenolic compounds against *Listeria monocytogenes* in food. A review. Trends in Food Sci Technol. 2021; 110:385-392.
- Zhang X, Wang S, Chen X, Qu C. Review controlling *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat meat and poultry products: An overview of outbreaks, current legislations, challenges, and future prospects. Trends Food Sci Technol. 2021; 116:24-35.