



Hemin İlavesinin Laktik Asit Bakterilerinde Oksidatif Stres Üzerine Etkisi

Burcu ÖZEL⁽¹⁾

Ömer ŞİMŞEK⁽²⁾

Hüseyin ERTEN⁽³⁾

Özet

Laktik asit bakterileri diğer bakteriler gibi gerek in vitro gerekse in vivo koşullarda üreme ve gelişme süreçlerinde birçok stres faktörü ile karşılaşılır. Bunlardan biri de oksidatif streştir. Oksidatif stres laktik asit bakterilerinin mikrobiyal gelişimi ve metabolit üretme yeteneklerini olumsuz etkiler. Katalaz negatif özellikli laktik asit bakterilerinin oksijene karşı hassasiyetlerinin azaltılmasında bugüne kadar çeşitli moleküler çalışmalar yapılmıştır. Öte yandan, üretici suşun genetik doğasında herhangi bir değişiklik yapmadan kültür ortamına hemin ilavesi ile de oksidatif stres ortadan kaldırılabilmektedir. Bu derlemede; laktik asit bakterilerinde görülen oksidatif stresin hücre tarafından elemin edilmesinde etkili olan hemin ve hemin ilavesinin hücredeki etki mekanizması üzerinde durulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Laktik asit bakterileri, oksidatif stres, hemin, solunum

Influence Of Hemin Addition On Oxidative Stress In Lactic Acid Bacteria

Abstract

Lactic acid bacteria as much as other bacteria are faced to many stress factors during their growth and development process in vitro and in vivo conditions. Oxidative stress represents one of these stress factors. Oxidative stress negatively affects microbial growth and metabolite production of lactic acid bacteria. Many molecular studies have been done on the reduction of oxygen sensitivity of lactic acid bacteria which have catalase negative property. However, addition of hemin into the fermentation medium can prevent the oxidative stress of lactic acid bacteria without doing any genetic modification. In this review, hemin structure and addition of hemin for the elimination of oxidative stress by the cell occurring in lactic acid bacteria were discussed.

Keywords: Lactic acid bacteria, oxidative stress, hemin, respiration

Yayın Kuruluna Geliş Tarihi: 02.09.2016

⁽¹⁾Osmaniye Korkut Ata Üniv. Bahçe Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Böl., Bahçe, Osmaniye

⁽²⁾Pamukkale Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kınıklı, Denizli.

⁽³⁾Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Balcalı, Adana.

Giriş

Mikroorganizmaların gelişme ve üremesini olumsuz yönde etkileyen herhangi zararlı bir faktöre/ortama stres adı verilir (Dikici, 2009). Herhangi mikroorganizma her türlü strese karşı farklı direnç gösterebilir. Laktik asit bakterilerinin (LAB) de gösterdiği direnç farklıdır ve hücre üzerine etkisi gelişim üzerinde meydana gelen değişimler incelenerek belirlenmektedir. Isı şoku, düşük sıcaklık, düşük pH, besin yetersizliği, ultraviyole radyasyon, ortamdaki çözünmüş oksijen miktarı, mikrobiyal metabolit miktarı, yarışmacı flora gibi çevresel stres faktörleri LAB'nin fermentasyon verimine etki eder. Fermentasyon verimini azaltıcı bu stres faktörlerini ortadan kaldırmak için genetik yolla rekombinant mikroorganizmalar üretimi, üretici hücrenin metabolik yolunda modifikasyonlar yapılması ve fermentasyon koşullarının optimize edilmesi gibi yollarla verim artırımı üzerine çalışılmıştır (Abriouel ve ark. 2004; Wardani ve ark. 2006; Şimşek ve ark. 2009; Papagianni ve Avramidis 2012; Kördikanlıoğlu ve ark. 2015).

Oksijen her ne kadar birçok canlının yaşamsal faaliyeti için enerji üretiminde önemli olsa da anaerobik mikroorganizmalar için toksik etki gösterir. Serbest oksijenin toksisitesi oluşturduğu çeşitli hidroksil radikal gruplarından kaynaklanır. Söz konusu bu mikroorganizmaların metabolik döngülerine serbest oksijenin dahil olması ile hücre sitoplazması ve membranında farklı türlerde reaktif oksijen bileşenleri oluşur. Bu bileşenlerin oluşumunu ise elektron transfer zincirinden kurtularak serbest kalan elektronlar katalizler. Süperoksit (O_2^-), hidroksil radikali (OH \cdot) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi reaktif oksijen türleri lipid, protein, nükleik asit, karbonhidrat ve enzim gibi hücrelerin önemli bileşiklerine etki ederek ortamda toksik etki yaratırlar. H_2O_2 doğrudan protein yapılı bileşiklerin sistein bağlarını okside ederek önemli enzimlerin inaktif olmasına neden olur. Öte yandan reaktif oksijen bileşenleri ortamdaki Fe^{+2} ve Cu^{+2} gibi katyonlar ile de fenton tepkimeleri gerçekleştirerek hidroksil radikallerini oluşturur. Hidroksil radikali

hücrenin tüm organik bileşikleri etkileyebilen oksidatif bir ajandır. Süperoksit radikali (O_2^-) ve hidroksil radikali (OH \cdot) ise sitoplazma, mitokondri, çekirdek ve endoplazmik retikulum membranlarında lipid peroksidasyonunu başlatır. Membranlarda lipid peroksidasyonu meydana gelmesi ile de membran geçirgenliği artar. Serbest radikallerin etkisi ile proteinlerdeki sistein sülfidril grupları ve diğer aminoasit kalıntıları okside olarak yıkılır (Miyoshi ve ark. 2003).

Birçok mikroorganizmada olduğu gibi fakültatif anaerobik olan LAB'nin gelişme ortamında da yüksek miktarda çözünmüş oksijenin olması hücreleri oksidatif strese sokar. Bu stres bakteri hücrelerinin metabolik iz yolunda değişim ve gen bölgelerinde mutasyon gibi hem moleküler hem metabolik düzeyde birçok hasara yol açar (Guchte ve ark. 2002; Pedersen ve ark. 2012). LAB'nde oksijenin metabolik döngüye girmesi ile gerçekleşen enzimatik reaksiyonlar ve bu reaksiyonları katalizleyen enzimler Çizelge 1'de detaylı şekilde verilmiştir. Oksidatif stres oluştuğunda LAB'nde laktat dehidrogenaz (LDH) enzim aktivitesi baskılanır ve NADH oksidaz ve NADH peroksidadz enzim aktivitesi artar.

Çizelge 1. LAB' nde serbest oksijenin metabolik döngüye girmesi ile gerçekleşen enzimatik reaksiyonlar ve kullanılan katalitik enzimler (Pedersen ve ark. 2012).

Enzimatik Reaksiyonlar	Katalitik Enzimler
$NADH + H^+ + O_2$	NADH: H_2O_2 oksidaz
$2NADH + 2H^+ + O_2$	NADH: H_2O oksidaz
Pirüvat + fosfat + O_2	Pirüvat oksidaz
α - gliserolfosfat + O_2	α -gliserol fosfat oksidaz
$2H^+ + 2 O_2^-$	Süperoksit dismutaz
$NADH + H^+ + H_2O_2$	NADH peroksidadz

Glikolitik döngüde meydana gelen bu değişim LAB'nin gelişimi ve büyümesini baskılayan hatta hücre ölümlerine sebep olabilen H_2O_2 'nin oluşmasına neden olur. H_2O_2 'nin atimikrobiyal etkisinin araştırıldığı bir çalışmada ortamda 0.2mM miktarında H_2O_2 bulunması durumunda bakteri gelişiminin %50 oranında azaldığı, 1.15 mM 'ı aşan miktarlarda

Hemin İlavesinin Laktik Asit Bakterilerinde Oksidatif Stres Üzerine Etkisi

ise hücre ölümüne neden olduğunu bildirmişlerdir (Duwat ve ark. 2001).

Oksidatif Stres Direnç Mekanizmaları

LAB genetik doğalarında oksidatif stres ile mücadelede çeşitli savunma sistemlerine sahiptir. Bunlardan en önemlileri; NADH oksidaz, NADH peroksidaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, *recA* geni ve sitokrom oksidaz sistemleridir (Pedersen ve ark. 2012).

Anaerobik koşullarda LAB homofermantatif yolu kullanır ve laktat dehidrogenaz (LDH) enzimi aracılığı ile glukozu laktik aside indirger. Ortamda oksijen varlığında ise oksidatif strese karşı korunma amacı ile NADH oksidaz aktivitesini artırır. Bu enzim aktivitesindeki artış ile birlikte hücre içerisinde glikolitik döngüde düzenlemeye gidilir ve metabolik iz yol olarak bu sefer heterofermantatif döngü takip edilir. Hücre içindeki serbest O₂ direnç mekanizması bileşeni olan NADH oksidaz enzimi aracılığıyla NADH'ı NAD'a indirgemek için kullanılır ve ara ürün olarak H₂O₂ oluşturulur. Bir diğer savunma elemanı olan NADH peroksidaz enzimi de H₂O₂'yi suya indirgeyerek H₂O₂'nin neden olabileceği toksik etkinin oluşumunu engeller. Bu anlamda ortamdaki NADH/NAD oranı hücre tarafından izlenecek olan glikolitik döngünün yeniden düzenlenmesinde önemlidir (Pedersen ve ark. 2012).

Oksidatif stres anında aktifleşen diğer önemli savunma bileşenleri; süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz enzim aktivitesidir. Süperoksit dismutaz enzimi; süperoksit serbest radikalının (O₂⁻) hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen antioksidan yapılı bir enzimdir. LAB'nde süperoksit dismutaz aktivitesi oksijen varlığında artış gösterir. Glutatyon peroksidaz enzimi de ortamdaki hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu olan tetramerik yapıdaki bir enzim olup proteinlerdeki (-SH) gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları okside olmaktan korur (Miyoshi ve ark. 2003).

LAB yanında, *Escherichia coli* de dahil olmak üzere birçok bakteri hücresinde kodlanmış olan *recA* geni, oksijen varlığında aktifleşir. Normal şartlar altında *lexA* geni ile

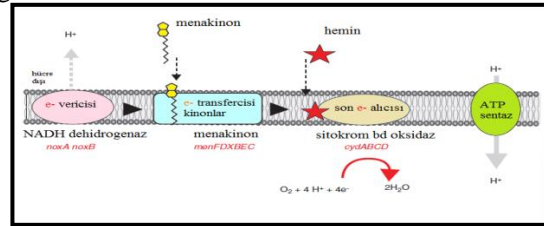
baskılanan *recA* geni, hem oksidatif streste kullanılan savunma sisteminin hem de hücrenin SOS düzenleme sisteminin önemli bir elemanıdır. Herhangi bir DNA hasarı oluştuğunda aktifleşerek daha fazla mutagenез görölmesini engeller.

Oksidatif stresin tolere edilmesinde LAB'nin sahip olduğu direnç mekanizmaları arasında en etkili olanı sitokrom d oksidaz tarafından kodlanmış *cydA* genidir. Söz konusu bu gen, LAB'nin aerobik solunum yapabilmesinde etkili olan en önemli bileşendir. Birçok LAB sahip olduğu bu gen varlığı sayesinde serbest oksijeni metabolik döngüsünde aktif olarak kullanabilir ve oksidatif stresin neden olabileceği hasarları azaltabilir. *cydA* geni, elektron transfer sisteminde aktif rol alarak son elektron alıcısının oksijen olmasını sağlayarak oksijenin toksik bir bileşen olmasını önler.

LAB *cydA* geninin kodlanması için hemine ihtiyaç duyarlar. Bakteri hücresinde sitokrom d oksidazın aktifleşmesini sağlamak için hemin zorunlu bir kofaktördür. LAB hemin biyosentezini gerçekleştirecek enzimlerden yoksun olduklarından, solunum yapabilmeleri için ortama dışarıdan hemin ilavesi gerekir (Yamamoto ve ark. 2005; Rezaiki ve ark. 2008; Lechardeur ve ark. 2011).

LAB'nin Solunum Yapabilme Yeteneği

Aerobik solunum yapabilen hücrelerde solunum enzimleri diğer bir deyişle elektron transfer sistemi (ETS) elemanlarının bulunması gerekir.



Şekil 1. Solunuma Teşvik Edilmiş LAB'nde Elektron Taşıma Sisteminin Şematik Gösterimi (Pedersen ve ark. 2012).

Prokaryotlarda ETS Şekil 1'de görüldüğü gibi hücre zarında, mezozomda veya sitoplazmada bulunan bir dizi molekülden

Hemin İlavesinin Laktik Asit Bakterilerinde Oksidatif Stres Üzerine Etkisi

oluşur. Bunlardan ilki elektron vericisi olarak görev yapan NADH dehidrojenazlar, ikincisi aktarılan bu elektronu dehidrojenazlardan son elektron alıcısı olan oksijene taşımakla görevli olan kinonlardır. Üçüncü ETS elemanı ise prostetik grubunda 'hem' proteini içeren son elektron alıcısı olarak görev yapan sitokrom oksidazdır. Sitokrom oksidaz, substrat moleküllerinin dehidrojenazlarca oksidasyonu sonucu ortaya çıkan elektronların son alıcı olan serbest oksijene taşınmasından sorumludur. Mikrozomlar da dahil oksijen kullanabilen canlıların hepsi biyolojik oksidasyon katalizörleri olarak sitokromlara sahiptir (Rezaiki ve ark. 2004). Fermentatif karakteri ile bilinen *Lactococcus lactis*, hemin içeren

aerobik ortamlarda sahip olduğu bu genin varlığı sayesinde solunum yapabilir. Solunum boyunca *cydA* geni, elektron transfer sisteminde aktif rol alır ve son elektron alıcısının oksijen olmasını sağlayarak ATP üretimi gerçekleştirir. *Lactococcus lactis*, *Enterococcus faecalis* ve *Leuconostoc mesenteroides* gibi LAB hemin dışında tüm solunum zinciri elemanlarına sahiptir (Duwat ve ark. 2001; Rezaiki ve ark. 2004). Çizelge 2'de de belirtildiği gibi bazı LAB ise menakinonları sentezleyemediklerinden hemine ek olarak menakinona ilavesine de ihtiyaç duyarlar (Huycke ve ark. 2001; Brooijmans ve ark. 2009).

Çizelge 2. Laktik asit bakterilerinin solunum yapabilme yeteneklerine göre sınıflandırılması (Pedersen ve ark. 2012).

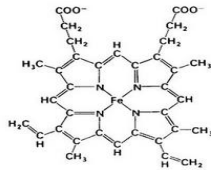
Solunum yapabilmek için sadece hemine ihtiyaç duyanlar	Solunum yapabilmek için hemin ve menakinona birlikte ihtiyaç duyanlar	Solunum yapabilme yeteneği olmayanlar
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	<i>Oenococcus oeni</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
<i>Enterococcus gallinarum</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	<i>Streptococcus gordonii</i>
<i>Enterococcus italicus</i>	<i>Streptococcus parauberis</i>	<i>Streptococcus infantis</i>
<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Streptococcus uberis</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Lactococcus garvieae</i>		<i>Streptococcus parasanguinis</i>
<i>Leuconostoc argentinum</i>	<i>Lactobacillus antri</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Leuconostoc citreum</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Leuconostoc fallax</i>	<i>Lactobacillus buchneri</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
<i>Leuconostoc gasicomitatum</i>	<i>Lactobacillus casei</i>	
<i>Leuconostoc kimchii</i>	<i>Lactobacillus coryniformis</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Lactobacillus crispatus</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>
<i>Weissella cibaria</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Lactobacillus iners</i>
<i>Weissella paramesenteroides</i>	<i>Lactobacillus gasseri</i>	<i>Lactobacillus sakei</i>
	<i>Lactobacillus hilgardii</i>	
	<i>Lactobacillus johnsonii</i>	
	<i>Lactobacillus oris</i>	
	<i>Lactobacillus paracasei</i>	
	<i>Lactobacillus plantarum</i>	
	<i>Lactobacillus reuteri</i>	
	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	
	<i>Lactobacillus salivarius</i>	
	<i>Lactobacillus ultunensis</i>	
	<i>Lactobacillus vaginalis</i>	

Hemin İlavesinin Laktik Asit Bakterilerinde Oksidatif Stres Üzerine Etkisi

Bunlar *menFDXBEC* genlerinden de yoksundur. Gelişme ortamına eklenen menakinonlar lipofilik yapıda olduklarından hücre duvarlarındaki membranlardan kolayca hücre içine geçer ve solunum zincirine dahil edilirler. Hemin bulunan kültür ortamında hücre sitokromlarının aktifleştiği ve elektron transfer sisteminin yapılandırıldığı 1970'lerde bazı laktokok ve enterokoklarda belirlenmiştir (Bryan-Jones ve Whittenbury, 1969; Sijpestejn, 1970; Lan ve ark. 2006; Zhao ve ark. 2013). Bugüne dek yapılan çalışmalar sonunda çoğu LAB'nin (*Lactococcus lactis*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus species*, *Leuconostoc mesenteriodes*) sadece hemin veya hemin-menakinonun gelişme ortamında bulunduğu, ETS'lerini oluşturduğu ve glikolitik döngü olarak heterofermantatif yolu tercih ederek aerobik solunum yaptıkları belirlenmiştir (Lan ve ark. 2006; Zhao ve ark. 2013).

Heminin Kimyasal Yapısı ve İşlevi

Hemin; 1853 yılında Teichmann tarafından hemoglobinin asit hidrolizi sonucunda kristal formda bulunmuştur (Warburg, 2010). Sitokromlar sahip olduğu demir atomunu ferik oksidasyon durumundan (Fe^{+3}) ferrous oksidasyon durumuna (Fe^{+2}) geçiren bir hem grubu içerir. Söz konusu hem grubu, Şekil 2'de görüldüğü gibi bir karenin köşelerinden tutturulmuş dört azot atomu ve merkezinde bir demir atomundan oluşmuş bir porfirin halkasıdır.



Şekil 2. Hem Grubunun Kimyasal Yapısı

Hemin solunum mekanizmasında redoks tepkimelerinin düzenlenmesinde önemlidir (Mayfield, 2011). Heminin olmadığı oksijenli ortamlarda menakinonlar tarafından ortama salınan elektronların kullanılması ile Cu^{+2} 'nin Cu^{+1} 'e yükseltgenmesi kolaylaşmakta ve bu

elementlerin hücre içerisine girişi hızlanmaktadır. Benzer şekilde serbest oksijenin (O_2), süperoksit (O_2^-)e yükseltgenmesi ile de istenmeyen reaktif oksijen bileşenleri oluşabilir. Bu noktada solunum zincirinde menakinonların redoks aktivitesindeki önemi fark edilmekte ve heminin riskli radikal grupların oluşumundaki engelleyici etkisi dikkat çekmektedir. Hemin; oksijenli ortamlarda ve sayısız enzimatik reaksiyonda elzem bir bileşen olmasına rağmen serbest formda iken hücreler için toksik özellik gösterebilir. Hücreler bu toksik etkilerden korunabilmek için kendi metabolizmalarında hemin homeostasisini oluşturan sistemler oluşturur (Pedersen ve ark. 2012).

Heminin Hücre İçerisinde Kullanımı

LAB'nde solunum; heminin sitokrom *bd* oksidazlara bağlanması ve hücre içerisinde heminin kullanılmasının koordinasyonu ile gerçekleşir. Hemini sentezleyebilme kabiliyetinden yoksun olan LAB hemini hücre içerisine alabilme ve kullanabilme mekanizmasına sahiptirler. Hücre içi bu düzenleme *Lactococcus lactis*'de *fbuDBAR* operon bölgesinin varlığı ile gerçekleştirilir (Warburg, 2010).

Heminin sitokrom oksidazların membranlarından geçebilmesi ise stres koşullarında sentezlenen şaperon proteinler yardımıyla gerçekleşir (Saarikangas ve Barral, 2016). Normal fizyolojik koşullarda bu proteinlerin görevi; proteinlerin çökmesini önlemek, yeni sentezlenen proteinlerin üçüncül yapılarını kazanmasını sağlamak, yanlış katlanmış ve çökmüş proteinleri birbirinden ayırmak veya doğru katlanmasını sağlamak, ya da ribozomdan gerekli yerlere taşımaktır. Oksijen varlığında ortamda oluşan oksidatif strese tepki olarak hücre hemini yıkıma uğratma yoluna gidebilir. Bunu önlemek amacı ile bir şaperon protein olan *AhpC*, hemine bağlanarak hemini yıkımlanmaktan korur. Bir başka şaperon protein ise *CycCD* kompleksidir. Bu protein kompleksi de sitokrom oksidazdan (*CydAB*) geçerek, *CydAB*-hemin interaksiyonlarını kolaylaştırır (Pedersen ve ark. 2012). Sitoplazma içerisinde heminin parçalanmaması için başka bir şaperon

proteine bağlanmış şekilde bulunması gerekir. *Lactococcus lactis*'de hemin akışını düzenleyen *HrtRBA* olarak kodlanmış gen bölgesi mevcuttur (Sawai ve ark. 2012). Bu gen bölgesi, hücre içerisindeki hemin trafğini düzene sokarak fazla heminin hücre içerisinde birikmesini engeller.

Heminin Hücre Metabolizmasına Etkisi

LAB'nin fermentasyon koşullarında homofermentatif döngü sonucu oluşturduğu laktat, ortamın asitliğini yükseltmesinden ötürü hücre üzerinde güçlü inhibitör etki gösterir. Homofermentatif döngü ile üretilen enerjinin büyük kısmı ortamın alkalizasyonunda kullanıldığından mikrobiyal üremede yüksek biyokütle ağırlığı elde edilemez. Diğer yandan hemin varlığında aerobik ortamda yapılan fermentasyon ile *L. lactis* ortamda laktik asitle beraber asetat, asetoin gibi yan ürünler de oluşturur. Buna paralel olarak da hücre üzerindeki geri inhibisyon etkisi minimize edilmiş olunur ve biyokütle gelişiminde avantaj elde edilir. Bu durum hemin ve oksijenin varlığı ile metabolik döngünün heterofermentatif olarak tekrardan yapılandırılması ile ilgilidir (Nagayasu ve ark. 2007).

Çoğu laktik asit bakterisi hemin içeren kültür ortamlarında geleneksel kültür ortamlarına kıyasla daha fazla ATP üreterek daha fazla biyokütle miktarına ulaşır. Artan biyokütle ağırlığı ile *Lactococcus lactis* tarafından üretilen önemli bir bakteriyosin olan nisinin de üretim veriminin artırılabilmesi mümkün olmuştur (Kördikanlıoğlu ve ark. 2015). Ayrıca heminin varlığı ile hücrelerin fenotip özelliklerinde de gelişmeler gözlenmiştir (Arioli ve ark. 2013; Watanabe ve ark. 2012). Hemin takviyesi yapılmış aerobik koşullarda geliştirilen *Lactobacillus plantarum* suşlarının starter ve probiyotik kültür üretim safhalarında karşılaşılabilen termal şok, ani basınç değişikliği gibi stres faktörlerine karşı daha dayanıklı oldukları bildirilmiştir. Hemin ile geliştirilen hücrelerde adaptasyon fazında gözlemlenen kısalma dikkati çeken bir başka noktadır (Mayfield ve ark. 2011).

Sonuç

Endüstriyel gıda üretiminde yaygın kullanılan LAB'nin üretim esnasında karşılaştıkları streslere karşı dirençli hale getirilmeleri önemli bir çalışma konusudur. Söz konusu organizmaların solunum yapabilme kabiliyetlerinin doğal yollarla geliştirilmesi ile sıklıkla karşılaşılan oksidatif stres tolere edilebilmektedir. Herhangi bir moleküler modifikasyon gerçekleştirilmeden suşlarda gözlemlenen yüksek enerji üretimine paralel olarak biyokütlede elde edilen artışlar söz konusu bu bakterilerin daha efektif olarak kullanımını sağlayacaktır. Bununla birlikte hücreler tarafından üretilen tat, aroma bileşikleri, depolama ve işlemler esnasında gösterilen stabilite ve bakteriyosin gibi önemli metabolitlerin üretim kinetiğinde gelişmeler sağlanmış olacaktır.

Kaynaklar

- Abriouel H., Herrmann A., Stärke J., Yousif N.M., Wijaya A., Tauscher B., Holzapfel W., Franz C.M. (2004) Cloning and heterologous expression of heme-dependent catalase produced by *Lactobacillus plantarum* CNRZ 1228. *Appl Environ Microb.* 70(1):603-6.
- Arioli S., Zambelli D., Guglielmetti S., De Noni I., Pedersen M.B., Dedenroth P.D., Pedersen, Dal Bello F., Mora D. (2013) Increasing the heme-dependent respiratory efficiency of *Lactococcus lactis* by inhibition of lactate dehydrogenase. *Appl. Environ. Microbiol.* 79:376–380.
- Brooijmans R., Smit B., Santos F., Riel J.V., Vos W., Hugenholtz J. (2009) Heme and menaquinone induced electron transport in lactic acid bacteria. *Microb Cell Factor.* 8:28-30.
- Brooijmans R.J., de Vos W.M., Hugenholtz J. (2009) *Lactobacillus plantarum* WCFS1 electron transport chains. *Appl. Environ. Microbiol.* 75:3580–85.
- Bryan-Jones D.G., Whittenbury R. (1969) Haematin-dependent oxidative phosphorylation in *Streptococcus faecalis*. *J. Gen Microb.* 58:247-60.

- Dikici A. (2009) Çevresel Stres Faktörlerine Karşı Bakteriyel Adaptasyonlar ve Mekanizmaları. *Gıda*.4 (3): 59-68.
- Duwat P., Sourice S., Cesselin B., Lamberet G., Vido K. (2001) Respiration capacity of the fermenting bacterium *Lactococcus lactis* and positive its effects on growth and survival. *J. Bacteriol.* 183:4509-16.
- Guchte M., Serror P., Chervaux C., Smokvina T., Ehrlich S., Maguin E. (2002) Stress responses in lactic acid bacteria. *A van LeeuwJ Microb.* 82, 187–216.
- Huycke M.M., Moore D., Joyce W., Wise P., Shepard L. (2001) Extracellular superoxide production by *Enterococcus faecalis* requires demethyl menaquinone and is attenuated by functional terminal quinol oxidases. *Mol Microb.* 42:729–40.
- Kördikanlıoğlu B., Şimşek Ö., Saris P.E. (2015) Nisin production of *Lactococcus lactis* N8 with hemin-stimulated cell respiration in fed-batch fermentation system. *Biotechnol Progr.* 31(3):678-85.
- Lan Q.C., Oddone G., Mills A.D., Block E.D., (2006) Kinetics of *Lactococcus lactis* growth and metabolite formation under aerobic and anaerobic conditions in the presence or absence of hemin. *Wiley Inter Science.* 96 (6) :1127-38.
- Lechardeur D., Cesselin B., Fernandez A., Lamberet G., Garrigues C., Pedersen M., Gaudu P., Gruss A. (2011) Using heme as an energy boost for lactic acid bacteria. *Curr Opin Biotech.* 22:143–149.
- Mayfield J.A., Dehner A., DuBois J.L. (2011) Recent advances in bacterial heme protein biochemistry. *Curr Opin Chem Biol.* 15(2):260-6.
- Miyoshi A., Rochat T., Gratadoux J.J., Loir Y., Oliveira S.C., Langella P., Azevedo V. (2003) Oxidative stres in *Lactococcus lactis*. *Genet Mol Res.* 2 (4): 348-359.
- Nagayasu M., Wardani A.K., Nagahisa K., Shimizu H., Shioya S. (2007) Analysis of hemin effect on lactate reduction in *Lactococcus lactis*. *J Biosci Bioeng.* (6):529-53.
- Papagianni M., Avramidis N. (2012) Engineering the central pathways in *Lactococcus lactis*: functional expression of the phosphofructokinase (*pfk*) and alternative oxidase (*aox1*) genes from *Aspergillus niger* in *Lactococcus lactis* facilitates improved carbon conversion rates under oxidizing conditions. *Enzyme Microb Techn.* 51(3): 125–130.
- Pedersen M., Gaudu P., Lechardeur D., Petit M., Gruss A. (2012) Aerobic respiration metabolism in lactic acid bacteria and uses in biotechnology. *Annu Rev Food Sci Tech.* 3:37-58.
- Rezaiki L., Cesselin B., Yamamoto Y., Vido K. (2004) Respiration metabolism reduces oxidative and acid stres to improve long-term survival of *Lactococcus lactis*. *Mol. Microbiol.* 53: 1331-42.
- Rezaiki L., Lamberet G., Derre A., Gruss A., Gaudu P. (2008) *Lactococcus lactis* produces short-chain quinones that cross-feed Group B *Streptococcus* to activate respiration growth. *Mol. Microb.* 67:947-57.
- Saarikangas J., Barral Y.(2016) Protein aggregation as a mechanism of adaptive cellular responses. *Curr Genet.* (Basım aşamasında).
- Sawai H., Yamanaka M., Sugimoto H., Shiro Y., Aono S. (2012) Structural basis for the transcriptional regulation of heme homeostasis in *Lactococcus lactis*. *J Biol Chem.* 287(36): 30755–30768.
- Sijpestejn A.K. (1970) Induction of cytochrome formation and stimulation of oxidative dissimilation by hemin in *Streptococcus lactis* and *Leuconostoc mesenteroides*. *A van Leeuw.* 36:335-48.
- Şimşek Ö., Akkoç N., Çon A.H., Özçelik F., Saris P.E.J., Akçelik M. (2009) Continuous nisin production with bioengineered *Lactococcus lactis* strains. *J Ind Microbiol Biot.* 36 (6): 863-871.
- Warburg O.H. (2010) The classic: The chemical constitution of respiration ferment. *Clin Orthop Relat Res.* 468(11):2833-9.
- Wardani A.H., Egawa S., Nagahisa K., Shimizu H., Shioya S. (2006) Computational prediction of impact of rerouting the carbon flux in metabolic pathway on cell

- growth and nisin production by *Lactococcus lactis*. *Biochem Eng J.* 28, 220-230.
- Watanabe M., van der Veen S., Nakajima H., Abee T. (2012) Effect of respiration and manganese on oxidative stress resistance of *Lactobacillus plantarum* WCFS1. *Microbiol.*158:293–300.
- Yamamoto Y., Poyart C., Trieu-Cuot P., Lamberet G., Gruss A., Gaudu P. (2005) Respiration metabolism of Group B *Streptococcus* is activated by enviromental haem and quinone and contributes to virulence. *Mol. Microb.* 56:525-34.
- Zhao R., Zheng S., Duan C., Liu F., Yang L., Huo G. (2013) NAD-dependent lactate dehydrogenase catalyses the first step in respiratory utilization of lactate by *Lactococcus lactis*. *FEBS Open Bio.*19;3:379-86.