

ÇİĞ SÜT VE PEYNİR ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN ANTİMİKROBİYEL AKTİVİTELERİ

Evrım Güneş Altuntaş, Kamuran Ayhan*, Gözde Okcu,
Kübra Erkanlı, M. Havva Balcı, Ş. Selin Sonakın

Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara

Geliş tarihi / Received: 23.07.2009

Düzeltilerek geliş tarihi / Received in revised form: 07.10.2009

Kabul tarihi / Accepted: 02.11.2009

Özet

Laktik asit bakterileri (LAB) uzun yıllardır gıda üretimlerinde starter ya da koruyucu kültür olarak kullanılan güvenilir bakterilerdir. Bu bakteriler, bakteriyosinleri de içeren çeşitli antimikrobiyel bileşikler üretirler. Bakteriyosinler, özellikle de LAB tarafından üretilenler gıda proseslerinde koruyucu olarak kullanılma potansiyeli olan doğal bileşikler olmaları nedeniyle dikkat çeken antimikrobiyel bileşiklerdir. Bu çalışmada çeşitli çiğ süt ve peynirden izole edilen 63 adet LAB'nin antimikrobiyel aktiviteleri belirlenmiştir. Antimikrobiyel aktivite denemeleri sonucuna göre agar spot testinde inhibitör etkiye sahip olan izolatların 6 adedinin *L. monocytogenes*'e karşı, 7 adedinin *S. aureus*'a karşı, 25 adedinin ise her ikisine karşı inhibitör etkiye sahip olduğu, kuyucuk difüzyon denemesi sonucunda ise 7 adet suşun *Listeria monocytogenes* üzerinde antimikrobiyel etkiye sahip olduğu anlaşılmıştır. Çalışmada diğerlerine oranla daha yüksek aktiviteli antimikrobiyel madde (1600 AU/mL) ürettiği saptanan 26 numaralı izolat, API 50CHL (Biomerieux, Fransa) ile biyokimyasal tanımlama sonucunda *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* 1 olarak tanımlanmıştır.

Anahtar kelimeler: Laktik asit bakterisi, çiğ süt, peynir, antimikrobiyel aktivite

ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM RAW MILK AND CHEESE SAMPLES

Abstract

Lactic acid bacteria (LAB) are safe bacteria which are being used in food production as starter or protective cultures for many years. They produce various antimicrobial compounds including bacteriocins. Bacteriocins, especially the ones produced by LAB, are considered very important because of being natural compounds having the potential to be used in food processing as biopreservatives. In this study, antimicrobial activities of 63 LAB isolated from raw milk and cheese samples were determined. Results of antimicrobial activity assay showed that 6 of the isolates had inhibitory effect on *L. monocytogenes*, 7 of the isolates had inhibitory effect on *S. aureus*, and 25 of the isolates had inhibitory effect on both microorganisms in agar spot test, while 7 of the isolates had antimicrobial activity against *L. monocytogenes* in well diffusion assay. In this research, the 26 numbered isolate, which was determined as the strain producing antimicrobial substance with the highest antimicrobial activity (1600 AU/mL) compared to the others, was identified biochemically as *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* 1 using API 50CHL (Biomerieux, France).

Keywords: Lactic acid bacteria, raw milk, cheese, antimicrobial activity

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author ;

✉ kayhan@eng.ankara.edu.tr, ☎ (+90) 312 596 1455, 📠 (+90) 312 317 8711

GİRİŞ

Dünya nüfusunun artışıyla beraber gıda kaynaklarının azalması ve dolayısıyla insanların gıdaya ulaşma ve yeterli beslenmeleri konusunda problemlerin de artışı söz konusu olabilecektir (1). Türkiye’de, nüfus yılda ortalama %2.5 oranında artış gösterirken gıda üretimindeki artış %1 dolayında kalmaktadır. Üretimden tüketime kadar çeşitli evrelerde meydana gelen gıda kayıpları yüksek olup, bunlar genellikle mikrobiyolojik bozulma nedeniyle olmaktadır (2).

Mikrobiyel bozulmalara karşı ekonomik kayıpların önlenmesi, gıda kaynaklı hastalıkların azaltılması ve hızla artan dünya nüfusunun gıda gereksinimlerinin karşılanmasında, endüstride kullanılan muhafaza yöntemlerine duyulan ilgi artmaktadır (3). Örnek olarak, biyomuhafaza olarak ifade edilebilecek bu yöntem, uzun raf ömrü ve güvenli gıdayı kontrollü mikroflora ve/veya antibakteriyel maddelerle sağlama olanağı sunmaktadır (4, 5).

LAB, uzun yıllardır fermente ürünlerin üretiminde kullanılan ve güvenli kabul edilen bakterilerdir. Laktik asit, diasetil, hidrojenperoksit ve bakteriyosin gibi antimikrobiyel maddeler üretmeleri nedeniyle, ürünün korunması ve güvenliğinin sağlanmasında önemli potansiyele sahiptirler. Bakteriyosinler ise antimikrobiyel etkiye sahip peptit yapısında bileşikler olup, üretici hücreye zarar vermezler (6, 7).

Laktik asit bakterilerinin insan sağlığı üzerine pek çok yararları olduğu uzun zamandır bilinmektedir. LAB ve fermente süt ürünlerinin antikanserojen etkisinin olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmekte olup bu konudaki araştırmalar hızla artmaktadır (8-11). Bunun yanında, laktik asit bakterilerinin probiyotik olma özellikleri ve ürettikleri bakteriyosinler üzerinde yapılan araştırmalar güncelliğini korumaya devam etmektedir (12-16).

Bu bağlamda, gıdaların korunmasında bakteriyosinlerin veya bakteriyosin üreten türlerin kullanımında dikkate değer oranda gelişmeler mevcuttur. Hammaddeye, proses koşullarına, dağıtıma ve tüketime bağlı olarak gıda zehirlenmelerinin, patojenlerin veya bozulma yapan bakterilerin bulunma ve sorun oluşturma durumuna göre çok geniş bir çalışma ve uygulama alanı bulunmaktadır. Bugüne kadar özellikle süt ürünleri, et ürünleri, deniz ürünleri ve sebzelerin muhafazasında bakteriyosinlerin kullanımının etkileri araştırılmıştır. Gıda güvenliğinin sağlanmasının gerektiği ve doğal korumaya yöntemlerinin tercih edilmek istendiği pek çok alanda da bakteriyosinlere başvurmak mümkündür (3).

Bakteriyosinlerin gıdalarda antimikrobiyel aktivitelerinin yanı sıra doğal olmaları, renksiz, tatsız ve kokusuz olmaları da ürün özellikleri açısından oldukça önemlidir. Ayrıca bazı bakteriyosinlerin ısı stabilitealarının olması, yüksek sıcaklıkta işlem gören birçok gıda maddesinde kullanılabilirliğini sağlamaktadır. Dolayısıyla bakteriyosinlerin et ve süt ürünleri başta olmak üzere birçok gıdada kullanımı mümkün olmaktadır (3, 5, 18).

Gıdalarda koruyucu olarak kullanılacak maddelerde; toksik olmaması veya toksisitesinin kabul edilebilir düzeyin altında olması, proses ve depolama sırasında stabilite gösterebilmesi, düşük konsantrasyonlarda etkili olabilmesi, ekonomik olması, gıdanın doğal bileşimini bozmaması gibi özellikler aranmaktadır. Çoğu bakteriyosin bu özelliklerin tamamına sahip olduğu halde gıdalarda sadece nisinin kullanımına izin verilmektedir. Nisin günümüzde kullanımına izin verilen tek bakteriyosin olmasının yanında bazı dezavantajlara da sahiptir. Nisin, otoklavlama sonrasında pH 5’te aktivitesinin %40’ını, pH 6.8’de %90’ını kaybetmektedir (19, 20). Bu anlamda bakteriyosin üreten LAB ve ürettikleri bakteriyosinler üzerinde daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu çalışmada çiğ süt ve peynir örneklerinden LAB izolasyonu yapılarak agar spot ve kuyucuk difüzyon testleri ile patojenlere karşı antimikrobiyel özellik taşıyan yerel suşlar seçilmeye çalışılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Araştırmada, Ankara, Zonguldak, İzmir ve Tokat’ın değişik bölgelerinden temin edilen 3 adet çiğ süt ve 9 adet peynir örnekleri kullanılmıştır. Antimikrobiyel aktivite testlerinde kullanılan patojen suşlar *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644), *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* Enteritidis (ATCC 13076) ve *Escherichia coli* O157:H7 Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.

Yöntem

Çiğ süt ve peynir örneklerinden laktik asit bakteri izolasyonu yapılmıştır ve yeni izolatların antimikrobiyel aktiviteleri araştırılmıştır. Antimikrobiyel aktivite denemelerinde öncelikle tüm izolatlara agar spot testi uygulanarak *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı antimikrobiyel aktiviteleri incelenmiştir. Daha sonra agar spot testinde pozitif sonuç veren suşlar, kuyucuk difüzyon testi ile *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644), *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* Enteritidis (ATCC 13076) ve *Escherichia coli* O157:H7'ye karşı test edilmiştir. Denemede kullanılan test mikroorganizmalarından en az birine karşı kuyucuk difüzyon testinde pozitif sonuç veren izolatlar seçilmiş ve AU/mL olarak antimikrobiyel aktiviteleri belirlenmiştir. Son olarak da kuyucuk difüzyon testinde pozitif sonuç veren izolatların tanımlanması yoluna gidilmiştir.

İzolasyon ve Morfolojik Tanımlama

Toplanan örneklerden laktik asit bakterisi izolasyonu amacıyla yayma plak yöntemi kullanılmış olup, besiyeri olarak MRS (De Man Rogosa Sharpe, Merck) broth/agar kullanılmıştır. İzolasyon aşamasında inkübasyon sıcaklığı 30 °C ve süresi 24-48 saat olarak uygulanmıştır (21). İzolatların morfolojik tanımlaması ve Gram reaksiyonları, Gram boyama yöntemi ile belirlenmiştir (22).

Agar Spot Testi

İzolatların antimikrobiyel etkisi *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644), ve *Staphylococcus aureus* test mikroorganizması olarak kullanılmak suretiyle öncelikle agar spot testi (23) ile belirlenmiştir. Bu amaçla izolatlar MRS Broth besiyerinde iki kez aktifleştirildikten sonra (30 °C, 24 saat) MRS Agar besiyerine her bir aktif kültürden nokta ekimi yapılmıştır. Petri kutuları 30 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılarak koloni oluşumu sağlanmıştır. Test mikroorganizması olarak kullanılan patojen mikroorganizmaların Tryptic Soy Broth (TSB, Merck) besiyerindeki 18-24 saatlik kültürlerinden 10 mL alınarak içinde 45 °C sıcaklıkta 8 mL yumuşak-TSA (%0.7 agar) bulunan tüplere aktarılmış ve tüp karıştırıcıda (Heidolph, Almanya) karıştırılmıştır. Daha sonra karışım laktik asit bakterisi izolatlarının kolonileri üzerine dökülmüş ve katılması için oda

sıcaklığında 30 dakika bekletilmiştir. Petri kutuları test mikroorganizması olarak *S. aureus* kullanıldığında 37 °C'de, *L. monocytogenes* kullanıldığında ise 30 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin bitiminde koloni etrafında zon oluşumuna bakılarak sonuç pozitif veya negatif olarak değerlendirilmiştir.

Kuyucuk Difüzyon Testi

Agar spot testinde pozitif sonuç veren izolatlar kuyucuk difüzyon yöntemi ile test edilmiştir (23). İzolatlar MRS Broth besiyerinde 37 °C'de 24 saat süreyle iki kez aktifleştirilmiş ve aktif kültürler 5000 devirde 10 dakika süreyle santrifüjlendikten (Hettich, Almanya) sonra elde edilen süpernatant, 0.45 µm por çaplı filtreden (Sartorius, Almanya) geçirilerek hücreler ayrılmıştır. MRS Agar üzerinde 8 mm çapında kuyucuklar açılmış ve kuyucuklara elde edilen süpernatantlardan 50 µL aktarılmıştır. Petri kutuları bir gece 4 °C'de bekletilerek süpernatantların besiyerine difüze olması sağlanmıştır. Daha sonra kuyucuklar üzerine 10 µL test mikroorganizması kültürü içeren 8 µL yumuşak-TSA (%0.7 agar) aktarılmıştır. Agarın katılması için oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra Petri kutuları 30 °C (*L. monocytogenes* için), ve 37 °C'de (*S. aureus*, *Salmonella* Enteritidis ve *E. coli* O157:H7 için) 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda kuyucuk etrafında zon oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Antimikrobiyel aktivitenin saptanması

Antimikrobiyel aktivite Biswas *et al.* (24)'a göre belirlenmiştir. Bu amaçla hücre içermeyen steril kültür süpernatantları elde edilmiştir. Süpernatantlar steril damıtık su kullanılarak ikinin katları (1/2; 1/4; 1/8; 1/16; 1/32;...; 1/512) şeklinde seyreltilmiştir. Her bir dilüsyondan TSA üzerine 5 µL aktarılmış ve Petri kutuları oda sıcaklığında 2 saat bekletilerek difüze olması sağlanmıştır. Bu işlemin ardından 8 mL yumuşak-TSA (45 °C) agara 10 µL test mikroorganizması ilave edilmiş ve karıştırıldıktan sonra TSA üzerine aktarılmıştır. Agar katıldıktan sonra Petri kutuları 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda belirgin zon veren en yüksek dilüsyonun faktörü 200 ile çarpılmış ve böylece antimikrobiyel aktivite AU/mL (Arbitrary Unit/mL) olarak hesaplanmıştır (AU/mL = Dilüsyon Faktörü x 1 mL/5 mL = Dilüsyon Faktörü x 200).

İdentifikasyon

Son aşamada antimikrobiyel aktivite gösteren 7 adet laktik asit bakterisi izolatı API 50CHL (Bio-merieux, France) test kiti kullanılarak tanımlanmıştır.

Gram pozitif olan laktik asit bakterisi izolatlarının çoğunlukla çubuk şeklinde oldukları (%43), bunun yanı sıra kok (%35) ve kokobasil (%22) izolatların da mevcut olduğu görülmüştür. Çizelge 1'de ve 2'de izolatların alındıkları kaynaklar, morfolojik yapıları ve Gram reaksiyonları görülmektedir.

SONUÇ VE TARTIŞMA

İzolasyon ve Morfolojik Tanımlama

Araştırmada 3 adet çiğ süt ve 9 adet peynir örneğinden 63 adet laktik asit bakterisi izole edilmiştir. İzolatların Gram reaksiyonları incelendiğinde

Antimikrobiyel Aktivite Denemeleri

Çalışmada elde edilen 63 LAB izolatı antimikrobiyel aktivite düzeylerini saptamak amacıyla agar spot ve kuyucuk difüzyon testleri ile *L. monocytogenes* ve *S. aureus*'a karşı test edilmiştir. Agar spot

Çizelge 1. Çiğ süt izolatlarının alındıkları yerler, morfolojileri ve Gram reaksiyonları*

İzolat No	Alındığı Yer	Morfoloji	İzolat No	Alındığı Yer	Morfoloji
5	Haymana	Kok	40	A.Ü.S.T.Ü.	Çubuk
7	A.Ü.S.T.Ü**	Kok	41	Çubuk	Kok
9	Haymana	Çubuk	45	A.Ü.S.T.Ü.	Kok
12	Çubuk	Kok	48	A.Ü.S.T.Ü.	Çubuk
13	Çubuk	Kok	51	Haymana	Kokobasil
19	Haymana	Kokobasil	54	Haymana	Çubuk
25	Çubuk	Kokobasil	56	Çubuk	Çubuk
34	A.Ü.S.T.Ü.	Kok	60	Haymana	Çubuk

* Tüm izolatlar Gram (+) sonuç vermiştir

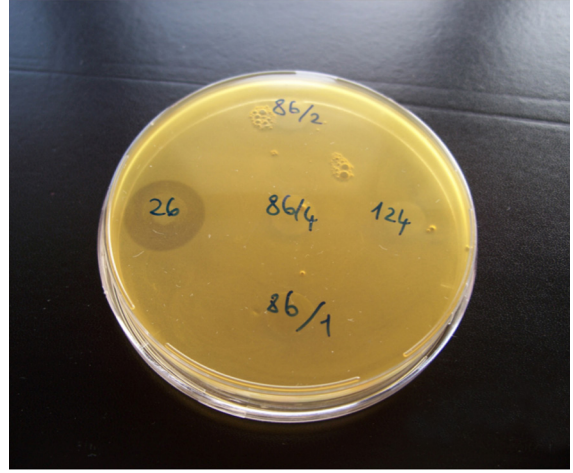
** A.Ü.S.T.Ü.: Ankara Üniversitesi Süt Toplama Ünitesi

Çizelge 2. Peynir izolatlarının alındıkları yerler, morfolojileri ve Gram reaksiyonları*

İzolat No	Alındığı Yer	Morfoloji	İzolat No	Alındığı Yer	Morfoloji
1	Çankırı	Çubuk	32	Çankırı	Kok
2	Kırşehir	Çubuk	33	Tokat	Çubuk
3	Zonguldak (çökelek)	Kok	35	Zonguldak (çökelek)	Kok
4	Tokat	Kok	36	Zonguldak (çökelek)	Kok
6	Kırşehir	Kokobasil	37	Gülveren pazarı	Çubuk
8	Çankırı	Kokobasil	38	Gülveren pazarı	Kok
10	Çankırı	Kok	39	Kayseri	Kok
11	Tokat	Kok	42	Gülveren pazarı	Çubuk
14	Kırşehir	Kok	43	Tokat	Çubuk
15	Tokat	Kokobasil	44	Zonguldak (çökelek)	Çubuk
16	Tokat	Kokobasil	46	İzmir Bergama	Çubuk
17	Kayseri	Çubuk	47	İzmir Bergama	Çubuk
18	Zonguldak (peynir)	Kokobasil	49	Zonguldak (peynir)	Kokobasil
20	Zonguldak (peynir)	Kokobasil	50	Gülveren pazarı	Çubuk
21	Zonguldak (peynir)	Kokobasil	52	Zonguldak (peynir)	Çubuk
22	Zonguldak (peynir)	Kokobasil	53	Gülveren pazarı	Kok
23	Kırşehir	Çubuk	55	İzmir Bergama	Kok
24	Kırşehir	Kokobasil	57	Gülveren pazarı	Çubuk
26	Kayseri	Çubuk	58	Çankırı	Çubuk
27	Zonguldak (çökelek)	Kok	59	İzmir Bergama	Çubuk
28	Çankırı	Kokobasil	61	Gülveren pazarı	Çubuk
29	Zonguldak (çökelek)	Kok	62	Çankırı	Çubuk
30	Kırşehir	Kok	63	Çankırı	Çubuk
31	Gülveren pazarı	Çubuk			

* Tüm izolatlar Gram (+) sonuç vermiştir

testinde sadece *L. monocytogenes*'e karşı 6 izolat, sadece *S. aureus*'a karşı 7 izolat, her ikisine karşı da 25 izolat pozitif sonuç vermiştir. Agar spot testinde pozitif sonuç veren izolatlardan 7 adedi (5, 15, 26, 35, 41, 46 ve 53 numaralı izolatlar) kuyucuk difüzyon testinde *L. monocytogenes*'e karşı antimikrobiyel aktivite göstermiştir. Çalışmada izole edilen laktik asit bakterilerinden hiçbirisi *Salmonella* Enteritidis (ATCC 13076) ve *Escherichia coli* O157:H7'ye karşı inhibitör etki göstermemiştir. Bakteriyosinler genellikle Gram pozitif mikroorganizmalar, özellikle de *Listeria* türleri üzerinde etkili olabilmektedir ve çalışmada elde edilen sonuçlar da bu yargıyı destekler niteliktedir (3). Çizelge 3'te antimikrobiyel aktivite denemelerinden elde edilen sonuçlar, Şekil 1'de ise 26 numaralı izolatin kuyucuk difüzyon testinde gözlenen inhibisyon zonu görülmektedir.



Şekil 1. Kuyucuk difüzyon testi pozitif olan izolatlardan 26 numaralı izolatin *L. monocytogenes* üzerindeki inhibisyon zonu

Çizelge 3. İzolatların antimikrobiyel aktivite deneme sonuçları

Suş No	Agar Spot Testi		Kuyucuk Difüzyon Testi		Suş No	Agar Spot Testi		Kuyucuk Difüzyon Testi	
	<i>L. mono.</i>	<i>S. aureus</i>	<i>L. mono.</i>	<i>S. aureus</i>		<i>L. mono.</i>	<i>S. aureus</i>	<i>L. mono.</i>	<i>S. aureus</i>
1	+	+	-	-	33	+	+	-	-
2	-	+	-	-	34	+	+	-	-
3	-	+	-	-	35	-	+	+	-
4	+	+	-	-	36	-	-	-	-
5	+	+	+	-	37	-	-	-	-
6	-	-	-	-	38	+	+	-	-
7	+	+	-	-	39	-	-	-	-
8	+	+	-	-	40	+	-	-	-
9	+	+	-	-	41	-	+	+	-
10	+	+	-	-	42	-	-	-	-
11	+	+	-	-	43	+	-	-	-
12	-	-	-	-	44	+	+	-	-
13	-	+	-	-	45	+	-	-	-
14	-	-	-	-	46	+	-	+	-
15	+	+	+	-	47	-	-	-	-
16	-	+	-	-	48	-	-	-	-
17	+	+	-	-	49	-	-	-	-
18	+	+	-	-	50	+	+	-	-
19	-	-	-	-	51	-	-	-	-
20	+	+	-	-	52	+	-	-	-
21	+	+	-	-	53	+	+	+	-
22	+	+	-	-	54	-	-	-	-
23	+	+	-	-	55	-	-	-	-
24	+	-	-	-	56	-	-	-	-
25	-	+	-	-	57	+	+	-	-
26	+	+	+	-	58	+	+	-	-
27	+	+	-	-	59	+	+	-	-
28	+	+	-	-	60	-	-	-	-
29	-	+	-	-	61	-	-	-	-
30	-	-	-	-	62	-	-	-	-
31	-	-	-	-	63	-	-	-	-
32	+	+	-	-					

Kuyucuk difüzyon testinde en büyük zon çapı 26 numaralı izolatta ölçülmüş (19 mm, Şekil 1), bunu 41, 53, 15, 35, 46 ve 5 numaralı izolatlar takip etmiştir (sırasıyla; 15, 14, 13, 13, 12, 11 mm). En yüksek antimikrobiyel aktivite 26 numaralı izolata ait olup 1600 AU/mL olarak belirlenmiştir. Onu sırasıyla 15 (800 AU/mL), 35 (400 AU/mL), 53 (400 AU/mL), 46 (200 AU/mL) ve 5 (200 AU/mL) numaralı izolatlar takip etmiştir. 41 numaralı izolatin antimikrobiyel aktivitesi ise 200 AU/mL'den düşük bulunmuştur. Antimikrobiyel aktiviteye sahip olduğu belirlenmiş olan 7 izolat API 50CHL testi ile tanımlanmıştır ve sonuçlar Çizelge 4'te görülmektedir.

Çizelge 4. Kuyucuk difüzyon testi pozitif olan izolatların API 50CHL biyokimyasal testi tanımlama sonuçları

Izolat No	API 50CHL Tanımlama Sonucu	%
15	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> 1	99.9
26	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> 1	99.2
35	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> 1	95.1
41	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> 1	95.1
46	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99.9
53	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99.9
5	<i>Lactobacillus paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> 3	99.1

Sonuç olarak yapılan çalışmada toplam 63 adet laktik asit bakterisi izolatından 7 adedinin *Listeria monocytogenes*'e karşı antimikrobiyel aktivite gösterdiği, bu suşlardan 26 numaralı izolatin, diğerlerine oranla daha yüksek aktiviteli antimikrobiyel madde ürettiği belirlenmiştir. Bahsedilen suş API 50CHL biyokimyasal testine göre *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* 1 olarak tanımlanmıştır. Daha önce yapılan çalışmalarda *Lactococcus lactis* suşlarının daha çok nisin bakteriyosini ürettiği ve *Lactococcus* ssp., *Lactobacillus* ssp., *Streptococcus* ssp., *Micrococcus* ssp., *Mycobacterium* ssp., *Staphylococcus* ssp., *Corynebacterium* ssp., *Clostridium* ssp., *Bacillus* ssp., *Listeria* ssp. bakterileri üzerinde inhibitör etkiye sahip olduğu bildirilmektedir (18, 19, 25). Süt ve ürünlerinden izole edilen bakteriyosin üreten suşlar arasında laktokoklar önemli bir yere sahiptir ve yine süt ürünlerinin ve özellikle de peynir muhafazasında başvuru bakteriyosin üreten suş kullanımında da laktokoklara sıklıkla rastlanmaktadır (26, 27).

Son yıllarda en önemli antimikrobiyel maddelerden olan bakteriyosinler üzerinde yapılan çalışmalar, optimizasyon denemeleri ile bakteriyosin aktivitesinin artırılabilirliğini gösterirken, bakteriyosinlerin saflaştırma teknikleri de hızla geliş-

mektedir. Buna göre, 26 numaralı izolatin gelişme parametrelerinin ve starter kültür özelliklerinin belirlenmesi, ürettiği antimikrobiyel maddenin bakteriyosin olma ihtimali yüksek olduğundan; saflaştırma, preparasyon ve gıdalarda bu saflaştırılmış preparatın kullanımı gibi çalışmalar için potansiyel olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Anon. 2005. Dünya Nüfusu 46 Yılda 2.5 Milyar Artacak, <http://www.gidasanayii.com/modules.php?name=News&file=article&sid=3224> (Erişim Tarihi: 20.05.2009).
2. Topal Ş. 1996. *Gıda Güvenliği ve Kalite Yönetim Sistemleri*, TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi Matbaası Basımı, Kocaeli, Türkiye, 225 s.
3. Galvez A, Lucas Lopez R, Abriouel H. 2008. Application of Bacteriocins in the Control of Foodborne Pathogenic and Spoilage Bacteria, *Crit Rev Biotechnol*, 28: 125-152.
4. O'Keeffe T, Hill C. 1999. Bacteriocins: Potential in Food Preservation. In: *Encyclopedia of Food Microbiol*, Robinson RK (chief ed.), Volume 1, Academic Press, New York, pp 183-191.
5. Kuleaşan H. 2002. Laktobasiller Tarafından Üretilen Bakteriyosinlerin Tanımlanması, Sınıflandırılması ve Bunların Bazı Gıda Kaynaklı Patojenler Üzerindeki Etkilerinin Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Ankara, Türkiye, 82 s.
6. De Martinis ECP, Freitas FZ. 2003. Screening of Lactic Acid Bacteria from Brazilian Meats for Bacteriocin Formation, *Food Control*, 14:197-200.
7. Ayhan K, Coşansu S, Mol S, Güneş 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.
8. Akçelik M, Ayhan K. 1992. Laktik Asit Bakterilerinin Tedavi Edici Rolü. *Biyoteknoloji Haber Bülteni*, 5:2-3.
9. You HJ, Oh DK, Ji GE. 2004. Anticancerogenic Effect of a Novel Chiroinositol-Containing Polysaccharide from *Bifidobacterium bifidum* BGN4. *FEMS Microbiol Lett*, 240: 131-136.
10. Nikoloeva TN, Zorina VV, Bondarenko VM. 2004. The Role of Cytokines in the Immunoreactivity Modulation with Bacteria of the *Lactobacillus* Genus. *J Microbiol Epidemiol Immunol*, 6:101-106.
11. Wollowski I, Rechkemmer G, Pool-Zobel BL. 2001. Protective Role of Probiotics and Prebiotics in Colon Cancer. *Am J Clinical Nutr*, 73(2): 451-455.

12. Rodriguez JM, Martinez MI, Kok J. 2002. Pediocin PA-1, a Wide Spectrum Bacteriocin from Lactic Acid Bacteria. *Crit Rev Food Sci Nutr* 42: 91-121.
13. Ayhan K, Durlu-Özkaya F, Tunail N. 2005. Commercially Important Characteristics of Turkish Origin Domestic Strains of *S. thermophilus* and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. *Int J Dairy Technol*, 58(3): 150-157.
14. Cosansu S, Kuleaşan H, Ayhan K, Materon L. 2007. Antimicrobial Activity and Protein Profiles of *Pediococcus* spp. Isolated from Turkish "Sucuk", *J Food Process Preserv*, 31:190-200.
15. Simsek O, Akkoc N, Con AH, Ozcelik F, Saris PEJ, Akcelik M. 2009. Continuous Nisin Production with Bioengineered *Lactococcus lactis* strains. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 36(6): 863-871.
16. Halkman AK, Yetişmeyen A, Halkman Z, Yıldırım M, Yıldırım Z, Çavuş A. 1994. Kaşar Peynir Üretiminde Starter Kültür Kullanımı Üzerinde Araştırmalar, *TÜBİ-TAK Türk Tarım ve Ormanlık Derg*, 18(5):365-377.
17. Cintas LM, Casaus P, Fernandez MF, Hernandez PE. 1998. Comparative Antimicrobial Activity of Enterocin L50, Pediocin PA-1, Nisin A and Lactocin S Against Spoilage and Foodborne Pathogenic Bacteria, *Food Microbiol*, 15: 289-298.
18. Kurt Ş, Zorba Ö. 2005. Bakteriyosinler ve Gıdalarda Kullanım Olanakları. *YYÜ Vet Fak Derg*, 16(1): 77-83.
19. Yıldırım Z, Yıldırım M. 2000. Laktik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Bakteriyosinlerin Genel Karakteristikleri. Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri, VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Tebliğler Kitabı, 22-23 Mayıs, Tekirdağ, 247-253.
20. Akçelik M, Ayhan K, Durlu F, Demircan S, Tunail N. 1996. Türkiye'den İzole Edilen *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* LL37 Suşlarında Nisin Üretim Özelliğinin Genetik Determinantlarının Belirlenmesi, *Doğa Türk Biyoloji Derg*, 20:9-18.
21. Harrigan WF, McCane ME. 1976. *Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology*, Academic Press, London, New York, San Francisco, 452 p.
22. Doetsch RN. 1981. Determinative methods of light microscopy. In: *Manual of Methods for General Bacteriology*, Gerhardt P (chief ed.), Washington, DC: American Society for Microbiology, pp. 21-31.
23. Schillinger U, Lücke FK. 1987. Identification of *Lactobacilli* from Meat and Meat Products. *Food Microbiol*, 4: 199-208.
24. Biswas SR, Ray P, Johnson MC, Ray B. 1991. Influence of Growth Conditions on the Production of a Bacteriocin, Pediocin AcH, by *Pediococcus acidilactici*. *Appl Environ Microbiol*, 57: 1265-1267.
25. Gürsel A. 1999. Laktik ve Propiyonik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Bakteriyosinler ve Süt Teknolojisi Alanındaki Uygulamaları, *GIDA*, 24(6): 399-410.
26. Ayad EHE, Verheul A, Wouters JTM, 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: 52-61.
27. Güneş-Altuntaş E, Ayhan K. 2010. Süt ve Süt Ürünlerinde Bakteriyosinlerin Kullanımı, *PAJES*, 16(1), (Baskıda).