

LAKTİK VE PROPİYONİK ASİT BAKTERİLERİ TARAFINDAN ÜRETİLEN BAKTERİYOSİNLER VE SÜT TEKNOLOJİSİ ALANINDAKİ UYGULAMALARI

BACTERIOCINS PRODUCED BY LACTIC ACID BACTERIA AND PROPIONIBACTERIA AND THEIR APPLICATIONS IN DAIRY TECHNOLOGY

Asuman GÜRSEL

Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü Dışkapı, ANKARA

ÖZET: Laktik ve propiyonik asit bakterileri, protein yapısında, bakteriyosin olarak tanımlanan çeşitli antibakteriyel maddeler üretebilmektedir. Bu maddeler, taksonomik olarak kendilerine yakın bakteriler üzerinde etkili olabildikleri gibi, gıdalarda bozulmalara yol açan ve patojen olan bazı bakteriler üzerinde de bakterisit ya da bakteriyostatik bir etki göstermektedir. Genellikle yüksek ısı stabilitesine sahip olan, asidik ve nötral pH değerlerinde aktivitelerini koruyan ve sindirim sistemi orijinli proteolitik enzimlerle parçalanabilen bakteriyosinlere potansiyel gıda biyokoruyucularla gözle bakılmaktadır. Bu derlemede, laktik ve propiyonik asit bakterilerinden tanımlanan bakteriyosinlerin özellikleri ve süt teknolojisi alanındaki uygulamaları gözden geçirilmiştir.

ABSTRACT: Lactic acid bacteria and propionibacteria can produce a variety of antibacterial substances termed bacteriocins which are proteinaceous in nature. They may exert a bacteriocidal or bacteriostatic mode of action on bacteria that are usually closely related to the producer microorganism as well as food spoilage and food-borne pathogenic strains. They generally show high heat stability, maintain their activity between acidic and neutral range of pH, and are sensitive to proteolytic enzymes of pancreatic and sometimes of gastric origin. They are considered as potential food biopreservatives for the future. The following review covers some aspects of bacteriocins that have been identified and characterized from lactic acid bacteria and propionibacteria, and their applications in the dairy technology.

GİRİŞ

Sütte bulunan (*Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*) ve (*Pediococcus*) cinsi laktik asit bakterileriyle propiyonik asit bakterileri fermente ürünlerin üretiminde yararlanılan bakterilerdir. Bunların fermentasyondaki esas rolü, daha dayanıklı bir ürün elde edilmesine yardımcı olmak, diğer bir deyişle koruma sağlamaktır. Ancak, modern işleme ve koruma tekniklerinin gelişimiyle bu rolün önemi azalmış ve koruyucu role sahip olan bu bakteriler aynı zamanda üründe çeşitlilik sağlayıcı bir rol de üstlenmişlerdir. Hammaddenin tadını, görünüşünü ve tekstürünü istenilen şekilde değiştirmek suretiyle bu işlevi yerine getirirler.

Sütte kontaminant olarak bulunan psikrotrof bakterilerin metabolik aktiviteleri ve gelişmeleri, süt ve ürünlerinin buzdolabı sıcaklığında uzun süre saklanmasını sınırlayan faktörlerden birisidir (COUSIN, 1982). Optimum gelişme sıcaklıkları dikkate alınmazsa, belirli maya ve küfler, gram-negatif bakterilerin çoğu ve bazı gram-pozitif bakteriler, buzdolabı sıcaklığında gelişebilen psikrotrof bakteriler arasında sayılmaktadır. Psikrotrof bakteriler süt bileşenlerini parçalayabilen enzimler sentezlemekte ve belirli bir sayıya ulaştıklarında bu enzimleri açığa çıkarmaktadır. Lipolitik ve proteolitik aktiviteye sahip olan bu enzimlerin çoğu ısıya dayanıklı olduklarından pastörizasyon normlarında aktivitelerini korumakta, son üründe tat ve yapı kusurlarına neden olabilmektedir.

Buzdolabı sıcaklığında muhafaza edilen ürünlerde *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila* ve *Clostridium botulinum* gibi gıda kökenli patojen bakterilerle *Salmonella* ve *Escherichia coli* gibi mezofilik patojen bakteriler de gelişme gösterebilmektedir (MOTLAGH ve ark., 1991).

Gıda kökenli psikrotrof patojenlerin varlığı, yeni gıda işleme yöntemlerinin keşfi ve aynı zamanda tüketicilerin "doğal" gıda ürünlerini tüketme isteği, doğal yolla oluşan biyokoruyucuların araştırılması konusunu gündeme getirmiştir. Gıda fermentasyonlarında yararlanılan starter bakteri kültürlerinin ürettiği antimikrobiyel metabolitlerin kullanımı bu hususta en fazla ilgi çeken alan olmuştur.

Fermente ürünlerin geçmişi antik çağlara kadar uzanmakla birlikte, koruyucu etkinin belirli mikroorganizmalardan ileri geldiği görüşü ancak 19. yüzyılın sonlarında kabul görmüştür. Bu konuda yapılan ilk çalışma, belirli bakterilerin şekerleri organik asitlere dönüştürmek suretiyle, gıdada oluşturduğu ekşitici etkinin iyi bir koruma sağladığını göstermiştir (DAESCHEL, 1989). Fermentasyonla karbonhidratların önemli bir bölümünün giderilmesi ve pH'nın düşmesi, bu bakteriler tarafından gerçekleştirilen başlıca koruma faaliyetleridir. Bunun yanısıra, laktik ve propiyonik asit bakterileri, organik asitler dışında, diğer mikroorganizmalar üzerinde antagonistik etkiye sahip başka inhibitör maddeler de üretebilmektedir (DAESCHEL, 1989). Oldukça az miktarlarda üretilen bu metabolitler hidrojen peroksit, diasetil, hipotiyosiyanat gibi sekonder reaksiyon ürünlerini ve bakteriyosinleri içine almaktadır.

Bu derlemede, laktik ve propiyonik asit bakterileri tarafından üretilen antibakteriyel metabolitlerden bakteriyosinlerin yapısal ve biyokimyasal özellikleri, etki spektrumu, etki şekli ve süt teknolojisi alanındaki uygulamaları konusunda bilgi verilecektir.

Bakteriyosinler

Bir bakteriyel ürünün bakteriyosin olarak tanımlanabilmesi için aşağıdaki kriterler dikkate alınmaktadır (TAGG ve ark., 1976: PIARD ve DESMAZEAUD'dan 1992):

- biyolojik yönden aktif bir proteine sahip olması.
- bakterisit etki göstermesi.
- dar bir inhibisyon spektrumuna sahip olması.
- spesifik hücre reseptörlerine tutunması.
- üretimini ve konakçı-hücre bağıışıklığının plazmid-kökenli genetik determinantlara bağlı olması.
- üretimini lethal biyosentez yoluyla gerçekleştirmesi.

Buna göre, ilk iki gereksinimini karşılayanlar bakteriyosin, henüz yeterince tanımlanmamış olanlar da geçici olarak bakteriyosin-benzeri metabolik bileşikler sayılmaktadır (TAGG ve ark., 1976: PIARD ve DESMAZEAUD'dan 1992).

TAGG ve ark. (1976: PIARD ve DESMAZEAUD'dan 1992) bakteriyosinleri "duyarlı bakteriler üzerinde bakterisit etki yaratan, protein bulunduran makromoleküller" olarak tanımlamışlardır. KLAENHAMMER (1988) tarafından yapılan tanıma göre de, bakteriyosinler "genellikle üretici mikroorganizma ile yakın akrabalığı olan proteinler veya protein kompleksleri" dir ve biyokimyasal özellikleri, molekül ağırlıkları, etki spektrumları, etki şekilleri ve genetik dayanakları bakımından heterojen, büyük bir sınıf oluşturlar.

İlk kez 1930'lu yıllarda, ticari peynir starter kültürlerinin N grubu streptokoklar tarafından inhibe edildiğini bildiren araştırmalarla, laktokokların inhibitör bir güce sahip olduğu farkedilmiştir (WHITEHEAD, 1933: DAVIDSON ve HOOVER'den 1993; MATTICH ve HIRSCH, 1947: DAVIDSON ve HOOVER'den 1993). O günden bu yana nisin, diplokokin ve laktostrepisinler olmak üzere en az üç tip bakteriyosinin özellikleri ortaya konmuştur. Son yıllarda *Pediococcus* ve *Lactobacillus* türlerini de kapsayan yoğun çalışmaların sonucunda önemli sayıda bakteriyosininin varlığı ortaya konmuştur. *Lactobacillus* bakteriyosinleri, genellikle, üretimlerinde plazmid-kökenli genetik determinantların rol oynamaması nedeniyle diğer laktik asit bakteriyosinlerden farklılık göstermektedir (HOOVER, 1933: DAVIDSON ve HOOVER'den 1993). Laktobasillerin diğer bir özelliği de çok güçlü hidrojen peroksit üretici olmalarıdır. *Leuconostoc* cinsi bakteriler pek fazla araştırılmamıştır. Bunların inhibisyon etkisinin, esas olarak laktik asit, asetik asit ve diasetilden ileri geldiği belirtilmektedir (BRANEN ve ark., 1975; DEVOYOD ve POUILLAIN, 1988). Ancak, yakın geçmişte yürütülen çalışmalar antilisteriyal etkiye sahip iki bakteriyosininin varlığını ortaya koymuştur (HARRIS ve ark.; 1989, PIARD ve DESMAZEAUD, 1992). Diğer taraftan, nisin üreten bir bakteriden gen transferi yapılarak *Leuconostoc Dextranicum*'un önemli bir nisin üreticisi haline getirilebileceği gösterilmiştir (TSAI ve SANDINE, 1987).

Propionibacterium türlerine gelince, bunlar ilk kez Orla-Jensen tarafından 1909 yılında teşhis edilmiş ve klasik ya da sütte bulunan propiyonibakteriler ve deri kökenli propiyonibakteriler olmak üzere iki gruba ayrılmıştır (LYON ve GLATZ, 1991). Birinci gruptaki bakterilerden, İsviçre tipi peynirlerde, karakteristik delikleri ve aromayı oluşturmak amacıyla starter kültür olarak yararlanılmaktadır. Her iki grubun da bakteriosin ürettiği bilinmektedir (LYON ve GLATZ, 1991). 1990'lı yılların başından bu yana sürdürülen çalışmalarla klasik propiyonibakterilerin ürettiği iki bakteriyosinin özellikleri ortaya konmuştur (LYON ve GLATZ, 1991; AL-ZOREKY ve ark. 1993).

Bakteriyosinlerden biyokoruyucu olarak yararlanma konusunda artan bir ilgi bulunmakla birlikte, bunların etkinliği üç nedenden dolayı sınırlı düzeydedir. Birinci olarak, bunlar gıdaları bozan ve patojen olan gram-negatif bakterilerle, maya ve küflere karşı etkili değildir (KLAENHAMMER, 1988; MOTLAGH ve ark., 1991; RAY, 1992; HANLIN ve ark.'dan 1993). İkincisi, bozulmaya yol açan ve patojen olan gram-pozitif bakterilerin (vegetatif hücre ve sporlara) hepsini etkilememekte ve konakçı bakteri aralığı geniş ya da dar sınırlar arasında değişim göstermektedir (TAGG ve ark., 1976; PIARD ve DESMAZEAUD'dan 1992; GONZALES ve KUNKA 1987; KLAENHAMMER 1988; RAY 1992; HANLIN ve ark.'dan 1993). Son olarak, duyarlı gram-pozitif suşlarda bile, bakteriyosin varlığında çoğalabilen dayanıklı varyant hücrelere rastlanabilmektedir (SCHILLINGER ve LÜCKE 1989; MOTLAGH ve ark., 1991; MOTLAGH ve ark., 1992; RAY 1992 a,b; HANLIN ve ark.'dan 1993). Bu nedenle, bakteriyosinlerin birkaçı kombine halde kullanılmak suretiyle etkinlikleri ve antibakteriyel spektrumları artırılabilir (HANLIN ve ark., 1993).

Aşağıda Çizelge 1'de çeşitli bakteriyosinler, bakteriyosin-benzeri maddeler ve bunları üreten mikroorganizmalar gösterilmiştir. Çizelgede ayrıca, bakteriyosinlerin etki spektrumuna da yer verilmiştir.

Etki spektrumu

Çizelge 1'den görüldüğü gibi, bakteriyosinler çoğunlukla kendilerini üreten bakteri ile taksonomik yakınlığı bulunan mikroorganizmalar üzerinde etkili olmaktadır.

Laktokoklar tarafından üretilen bakteriyosinler içinde nisin, gram-pozitif bakterilerin birçoğunu inhibe edebilmesi bakımından bir ayrıcalık sergilemektedir. Nisin, başlangıçta spor oluşturan *Clostridium* ve *Bacillus* mikroorganizmalarına karşı etki göstermesi nedeniyle ilgi çekici bulunmuştur (HURST, 1978; PIARD ve DESMAZEAUD'dan 1992; SOMERS ve TAYLOR, 1987). *Clostridium sporogenes*, *C. butyricum*, *C. bifementas* üzerine nisinin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, sporların vegetatif hücrelerden daha fazla etkilendiği ve inhibisyonun spor yüküne bağlı olduğu saptanmıştır (HIRSCH VE GRINSTED, 1954). Ayrıca, nisinin, yalnızca *C. butyricum*'a karşı sporisidal bir etki gösterdiği belirlenmiştir. *Clostridium botulinum* sporları 20-200 · g/ml arasında değişen miktarlarda nisinle inhibe edilebilmektedir (DENNY ve ark., 1961; DAVIDSON ve HOOVER'den 1993; SCOTT ve TAYLOR, 1981 a,b; DAVIDSON ve HOOVER'den 1993). *Bacillus* sporlarının inhibisyonu için gerekli miktarlar ise 0.04-2.0 µg/ml arasında değişmektedir.

Laktokokların ürettiği diğer bakteriyosinler de *Clostridium* türleri üzerinde antibakteriyel etki göstermektedir.

Laktobasiller tarafından üretilen bakteriyosinlerin etki spektrumu, genellikle *Lactobacillaceae* familyası ile sınırlıdır. Buna karşın, bulgarikan, reuterin, laktokokin gibi bakteriyosin-benzeri maddelerin geniş bir inhibisyon spektrumuna sahip bulunduğu gözlenmektedir. KLAENHAMMER (1988)'e göre, bu durum büyük bir olasılıkla, bakteriyosin-benzeri maddelerin, organik asitler ve hidrojen peroksitle birlikte etki göstermelerinden kaynaklanmaktadır.

Pediococcus cinsi bakterilerin oluşturduğu bakteriyosinlerden Pediyosin A gram-pozitif bakterileri etkilemekte, fakat gram-negatif bakteriler üzerinde etkili olmamaktadır.

Propiyonibakterilerin ürettiği bakteriyosinlerin diğerlerinden en dikkate değer farklılığı, bazı maya ve küfler üzerinde de etkili olmalarıdır.

Çizelge 1. Laktik ve Propiyonik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Bazı Bakteriyosinler, Bakteriyosin-Benzeri Maddeler ve Etki Spektrumları.

Bakteriyosin	Üretici mikroorganizma	Etki spektrumu	Kaynak
Nisin	<i>L.lactis, ssp.lactis</i>	<i>Lactococcus sp.</i> , <i>Lactobacillus sp.</i> , <i>Streptococcus sp.</i> , <i>Micrococcus sp.</i> , <i>Mycobacterium</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Corynebacterium sp.</i> , <i>Clostridium sp.</i> , <i>Bacillus sp.</i> , <i>Listeria sp.</i>	Hurst 1981
Laktostrepsinler	<i>L.lactis ssp.lactis</i>	<i>Lactococcus sp.</i> , β -hemolitik streptokok, <i>Lactobacillus helveticus</i> , <i>Leuconostoc sp.</i> , <i>Clostridium sp.</i>	Kozak ve ark. 1978
Diasetin B	<i>L.lactis ssp lactis</i> bv. <i>Diacetyllactis UL720</i>	<i>L.monocytogenes</i> , <i>S.aureus</i> , <i>Clostridium sp.</i>	Ali ve ark. 1995
İsimsiz*	<i>L. lactis ssp.lactis</i>	<i>Lactococcus sp.</i> , <i>Lactobacillus sp.</i> , <i>Leucostoc sp.</i> , <i>Pediococcus sp</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Clostridium sp.</i>	Geis ve ark. 1983
İsimsiz**	<i>L. lactis ssp.lactis</i>	<i>Lb.helveticus</i> , <i>L.monocytogenes</i>	Carminati ve ark.1989
Laktisin 481	<i>L. lactis CNRZ 481</i>	<i>Lactococcus sp.</i> , <i>Lb.helveticus</i> , <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	Piard ve ark. 1990
Diplokokin	<i>Streptococcus cremoris 346</i>	<i>Lactococcus sp.</i>	Davey ve Richardson 1981
Laktokokin A	<i>L.lactis ssp cremoris</i>	<i>Lactococcus sp.</i>	Holo ve ark.1991
İsimsiz*	<i>Lb.bulgaricus RS902</i>	Laktik asit bakterileri, <i>L.monocytogenes</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Bacillus subtilis</i>	Sinha 1991
Bulgarikan**	<i>Lactobacillus bulgaricus DDS14</i>	<i>B.subtilis</i> , <i>E.coli</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Sarcina lutea</i> , <i>S.aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>P.fluorescens</i> , <i>Serratia marcescens</i>	Reddy ve ark. 1983
Laktosin 27	<i>Lb.helveticus LP27</i>	<i>Lb.helveticus</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i>	Upreti ve Hinsdill 1973; Piard ve Desmazeaud'dan 1992
Helvetisin J	<i>Lb.helveticus 481</i>	<i>Lb.helveticus 1846</i> ve <i>1244</i> , <i>Lb.bulgaricus 1373</i> ve <i>1489</i> , <i>Lactobacillus lactis 970</i> , <i>Lactobacillus casei</i>	Joerger ve Klaenhammer 1986
İsimsiz*	<i>Lb.fermentii</i>	<i>Lactobacillus sp.</i>	De Klerk ve Smit 1967; Piard ve Desmazeaud'dan 1992
Reuterin**	<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Salmonella sp.</i> , <i>Shigella sp.</i> , <i>Clostridium sp.</i> , <i>Staphylococcus sp.</i> , <i>Candida</i> , <i>Trypanosoma</i>	Axelsson ve ark. 1987; Vandevoorde ve ark.'dan 1992
Laktasin B	<i>Lb.acidophilus N2</i>	<i>Lb.bulgaricus</i> , <i>Lb.leichmanni</i> , <i>Lb.helveticus</i> , <i>Lb.casei</i>	Barefoot ve Klaenhammer 1983
Laktasin F	<i>Lb.acidophilus 11088</i>	<i>Lb.bulgaricus</i> , <i>Lb.leichmanni</i> , <i>Lb.helveticus</i> , <i>Lb.lactis</i> , <i>Lb.fermentum 1750</i> , <i>E. Faecalis</i>	Muriana ve Klaenhammer 1987, 1991
Laktosidin**	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Gram-pozitif ve gram-negatif bakteriler	Vincent ve ark. 1959
Kazeisin 80	<i>Lb.casei</i>	<i>Lb.casei</i>	Rammelsberg ve ark. 1990; Piard ve Desmazeaud'dan 1992
İsimsiz**	<i>Lactobacillus casei GG</i>	<i>Clostridium sp.</i> , <i>Pseudomonas sp.</i> , <i>Streptococcus sp.</i> , <i>Bacillus sp.</i> , <i>Salmonella sp.</i> , <i>E.coli</i> , <i>Bifidobacterium</i>	Silva ve ark. 1987; Davidson ve Hoover'den 1993
Plantarisin A	<i>Lb.plantarum C-11</i>	<i>Lb.plantarum</i> , <i>Lc paramesenteroides</i> , <i>E.faecalis</i> , <i>Pediococcus pentosaceus</i>	Daeschel ve ark. 1990

Plantarisin B	Lb.plantarum NCDO1193	Lb.plantarum,Leuconostoc mesenteroides, Pediococcus damnosus	West and Warner 1988: Piard ve Desmazeaud'dan 1992
Plantarisin S	Lb.plantarum	Lactobacillus sp., Leuconostoc sp., Lactococcus sp., Pediococcus sp.	Jimenez-Diaz ve ark. 1990: Piard ve Des- mazeaud'dan 1992
Sakasin A	Lactobacillus sake 706	Lactobacillus sp., L.monocytogenes	Schillinger ve Lücke 1989
Laktosin S	Lactobacillus sake L 45	Lactobacillus sp., Lc.mesenteroides, P.acidilactici, P.pentosaceus	Mortvedt ve Nes 1990: Piard ve Des- mazeaud'dan 1992
Brevisin 37	Lb.brevis	Lactobacillus sp., Leuconostoc sp., Pediococcus sp.	Rammelsberg ve Radler 1990
Pediyosin A	P.pentosaceus L-7230	Lb.plantarum, L.lactis ssp.lactis ATCC 11454, Lc.mesenteroides, Micrococcus luteus, Streptococcus faecalis, S.aureus, B.cereus, Clostridium botulinum, Clostridium sporogenes	Daeschel ve Klaen- hammer 1985
	P.pentosaceus FBB-61	Yukarıdakilere ilaveten C.perfringens, Listeria innocua, L.ivanovii, L.monocytogenes, L.seeligeri, L.welshimeri	Spelhaug ve Harlan- der 1989
Pediyosin AcH	P.acidilactici H	L.monocytogenes, L.ivanovii, L.innocua	Motlagh ve ark. 1991, 1992
Pediyosin PA-1	P.acidilactici PAC 1.0	Lc.mesenteroides ssp.dextranicum, Lactobacillus sp., Pediococcus sp., L.monocytogenes	Gonzales ve Kunka 1987, Pucci ve ark.1988, Harris ve ark. 1989
Karnosin CP5	Carnobacterium piscicola CP5	L.monocytogenes	Mathieu ve ark.1994
Mezenterisin Y105	Lc mesenteroides Y105	L.monocytogenes	Hechard ve Cenati- empo 1992: Piard ve Desmazeaud'dan 1992
İsimsiz*	Lc sp UAL14	L.monocytogenes	Harris ve ark.1989
Mikrogard	Propionibacterium shermanii	Gram-negatif bakteriler, bazı maya ve küfler	Al-Zoreky 1988: Daeschel'den 1989
Propiyonisin PLG-1	Propionibacterium thoenii 127	Propionibacteria sp., Pseudomonas sp., Laktik asit bakterileri, Aspergillus wentii, Corynebacterium sp., V.paraahaemolyticus, Y.enterocolitica	Lyon ve Glatz 1991 Lyon ve ark. 1993

* Hentiz adlandırılmamış olan metabolik maddelerdir.

** Bakteriyosin-benzeri metabolik maddelerdir.

Listeria monocytogenes, kontamine olduğu peynirlerin tüketilmesi sonucu listeriyosiz olarak bilinen vakalara yol açabilen patojen bir bakteridir (DOYLE, 1985: PIARD ve DESMAZEAUD'dan, 1992). Bakteriyosinlerin büyük bir kısmının bu bakteri üzerinde antibakteriyel bir etkiye sahip olduğu gözlenmektedir.

Yapısal özellikleri

Bakteriyosinlerin yapısal ve amino asit bileşimine ilişkin analiz sonuçları, bu maddelerin molekül ağırlıklarına göre üç grupta toplanabileceğini göstermiştir (PIARD ve DESMAZEAUD, 1992):

1. Lantibiyotikler, yani, yapılarında lantiyonin amino asiti bulunduran düşük molekül ağırlığındaki (< 10 000 dalton) peptitler, örneğin; nisin, laktisin 481.
2. Lantiyonin bulundurmeyen düşük molekül ağırlığındaki peptitler, örneğin; diplokokin, laktokokin A, laktasin F.
3. Molekül ağırlığı 10 000 daltondan fazla olan proteinler; örneğin, laktosin 27, kazeisin 80.

Nisin ilk araştırılan lantibiyotiktir, 1947 yılında tanımlanmıştır (MATTICK ve HIRSCH, 1947; DAVIDSON ve HOOVER'den 1993) ve elde edilen bulgular *Lactococcus lactis*'in aynı suşu tarafından üretilebilen 5 tip nisin olduğunu ortaya koymuştur. A, B, C, D, E olarak bilinen bu tipler amino asit bileşimleri ve spesifik biyolojik aktivitelerindeki farklılığa göre birbirlerinden ayırt edilmektedir (BERRIDGE, 1952; PIARD ve DESMAZEAUD'dan 1992). Son yıllarda nisin Z olarak adlandırılan yeni bir varyantı ortaya çıkarılmıştır (MULDEERS ve ark., 1991; PIARD ve DESMAZEAUD'dan 1992).

Bir başka lantibiyotik, nisinden daha küçük olan laktisin 481'dir. Peptit zincirinde yer alan amino asitlerin çoğunluğu hidrofobik ve yüksüz amino asitlerdir (PIARD ve DESMAZEAUD, 1992). *Lb. sake* tarafından üretilen laktosin S, hidrofob karakterdeki diğer bir lantibiyotiktir.

Diplokokin, laktokokin A ve laktasin F ikinci grupta yer alan bakteriyosinlerdir. Diplokokinin yapısında, doğal proteinlerde genellikle bulunmayan bir amino asit olan ornitin bulunmaktadır (GROSS, 1977; PIARD ve DESMAZEAUD'dan 1992). Laktasin F, yüksek oranda glisin amino asiti bulunduran bir peptittir. Laktasin F'nin ısıya dayanım göstermesi α -heliks, β -sheet ve β -turn ikincil yapılarını oluşturma eğiliminden ileri gelmektedir (PIARD ve DESMAZEAUD, 1992).

Son gruptaki bakteriyosinler, molekül ağırlıkları 10 000 daltondan fazla olan, laktosin 27, helvetisin J, kazeisin 80 ve *Lactobacillus fermenti* tarafından üretilen bir bakteriyosindir. Laktosin 27 ile *Lb. fermenti*'nin ürettiği bakteriyosinin bileşiminde glikoproteinler yer almaktadır. Galaktoz, glikoz, mannoz ve ramnozdan ibaret olan karbonhidratlar, biyolojik aktivitelerinin korunmasında rol oynamaktadır (DE KLERK ve SMIT, 1967; PIARD ve DESMAZEAUD'dan 1992). Amino asit zincirlerinde fazla miktarda glisin, alanin ve aspartat bulunmaktadır.

Bu bilgilerden de anlaşılacağı gibi, bakteriyosinler kimyasal açıdan geniş bir heterojenlik sergileyen peptitler ya da proteinlerdir. Yüksek glisin oranı ya da lantibiyotiklerdeki tiyoeter köprüleri gibi yapısal elementlerine bağlı olarak, hidrofob bir özellik gösterirler, bu hidrofobluk, membranlarla interaksyona giren proteinlere has bir özelliktir (PIARD ve DESMAZEAUD, 1992).

Biyokimyasal özellikleri

Bakteriyosinlerin biyokimyasal özellikleri Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge'den görüldüğü gibi, bakteriyosinler protein ya da protein kompleksleri olmaları nedeniyle genellikle pankreas orijinli proteolitik enzimlerle inaktif hale getirilmektedir. Bazen, mide salgıları da inaktivasyona yol açmaktadır. Bazı araştırmacılara göre, nisin proteolitik enzimlerden yalnızca α -kimotripsine duyarlılık göstermektedir (JARVIS ve MAHONEY, 1969). Belirli *Bacillus cereus* suşları tarafından salgılanan nisinaz enzimi de nisini etkilemektedir. *Bacillus cereus*, nisinin hedef bakterisi olduğundan, bu durum kutuda sterilize edilen ürünlerde nisin kullanımını kısıtlayıcı bir faktör olabilir.

Bakteriyosinlerin proteolitik enzimlere karşı gösterdikleri yüksek duyarlılık, onların sindirim sistemindeki ekolojisi değiştirmeyeceklerini ve ayrıca bilinen antibiyotiklerin kullanımının yarattığı sakıncalara yol açmayacaklarını ifade etmektedir. Bu da gıdalarda güvenli bir şekilde kullanılacakları anlamına gelmektedir.

Bakteriyosinlerden laktisin 481 üzerine peynir mayasının etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, peynir yapımında gerek duyulan maya miktarının laktisin 481'i etkilemediği saptanmıştır (PIARD ve ark., 1990). Bu bulgu teknolojik açıdan önemli görülmektedir.

Çizelge 2. Laktik Ve Propiyonik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Bazı Bakteriyosinlerin Biyokimyasal Özellikleri.

Bakteriyosin	Etkili enzimler	Isı ve asit toleransı**	Kaynak
Nisin	α -kimotripsin, nisinaz	+ (115°C/ pH 2.0) - (nötral pH)	Hurst 1981
Laktostrepsinler	α -kimotripsin, tripsin, pronaz, fosfolipaz D	+ (100°C/10 dakika) - (nötral pH)	Kozak ve ark. 1978
Diastetin B	Proteazlar	+ (100°C/60 dakika; 121°C/20 dakika) + (pH 2-11)	Ali ve ark. 1995
isimsiz*	α -kimotripsin, pronaz, proteinaz K	+ (100°C/30 dakika, pH 4.5 ve 7.0) +/- (100°C/30 dakika, pH 9.4)	Geis ve ark. 1983
Laktisin 481	α -kimotripsin, pronaz, fisin, proteinaz K	+ (100°C/1 saat, pH 4.5 ve 7.0) + (pH 2- 8)	Piard ve ark. 1990
Diplokokin	α -kimotripsin, tripsin, pronaz	Saflaştırılmamış: +(100°C/1 saat, pH 5.0) - (100°C/ 1 saat, alkali pH) Saflaştırılmış: - (100°C/1 dakika)	Davey ve Richardson 1981
Laktosin 27	Tripsin, pronaz	+ (100°C/1 saat)	Upreti ve Hinsdill 1973; Piard ve Desmazeaud'dan 1992
Helvetisin J	Tripsin, pronaz, fisin, pepsin, proteinaz K, subtilisin	- (100°C/30 dakika)	Joerger ve Klaenhammer 1986
isimsiz*	Tripsin, pepsin	- (96°C/30 dakika)	De Klerk ve Smit 1967; Piard ve Desmazeaud'dan 1992
Laktasin B	Proteinaz K	Saflaştırılmamış: + (100°C/1 saat) Saflaştırılmış: +(100°C/3 dakika)	Barefoot ve Klaenhammer 1983,1984
Laktasin F	Tripsin, fisin, proteinaz K	+ (121°C/15 dakika)	Muriana ve Klaenhammer 1991
Kazeisin 80	Tripsin, α -kimotripsin,pronaz, pepsin, proteinaz K	- (60°C/10 dakika, pH 2)	Rammelsberg ve ark. 1990: Piard ve Desmazeaud'dan 1992
Plantarisin A	Proteolitik preparat	+ (100°C/30 dakika)	Daeschel ve ark. 1990
Plantarisin B	Tripsin, α -kimotripsin,pronaz, pepsin, lipaz, α -amilaz		West and Warner 1988: Piard ve Desmazeaud'dan 1992
Plantarisin S	Tripsin, α -kimotripsin, fisin, pronaz, proteinaz K, termolisin, dekstranaz, lipaz, α -amilaz, fosfolipaz	+ (100°C/1 saat)	Jimenez-Diaz ve ark. 1990: Piard ve Desmazeaud'dan 1992
Sakasin A	Tripsin, pepsin	+ (100°C/20 dakika)	Schillinger ve Lücke 1989
Laktosin S	Tripsin, proteaz tip XIV	100°C'de 1 saat ısıtmadan sonra %50 inaktivasyon	Mortvedt ve Nes 1990: Piard ve Desmazeaud'dan 1992
Brevisin 37	Tripsin, pronaz	+ (121°C/1 saat, pH 2-4) + (pH 1-11 arasında 24 saat)	Rammelsberg ve Radler 1990
Pediyosin A	Pronaz	+ (100°C/1 saat)	Daeschel ve Klaenhammer 1985
Pediyosin ACh	Tripsin	+ (100°C/1 saat, pH 7) - (pH 11)	Ray ve ark.1989: Piard ve Desmazeaud'dan 1992
Pediyosin PA-1	α -kimotripsin, pepsin, papain	+ (100°C/10 dakika) - (121°C/15 dakika)	Pucci ve ark.1988, Harris ve ark. 1989
Mikrogard	Proteolitik enzimler	+ (alkali pH)	Al-Zoreky ve ark.1993
Propiyonisin PLG-1	α -kimotripsin, tripsin, pepsin, proteaz, pronaz E	+ (85°C/15 dakika) - (85°C/30 dakika) + (pH 3-9)	Lyon ve Glatz 1991

* Henüz adlandırılmamış olan metabolik maddelerdir.

** (+): Stabil; (-): stabil değil.

Lactobacillus cinsi bakterilerin ürettiği bazı bakteriyosinler, proteolitik enzimler dışında glikolitik, lipolitik ve fosfolipolitik enzimlerle de inaktif hale geçmektedir. Bu durum, laktobasil bakteriyosinlerinin aktif kısmının kimyasal yönden heterojen olabileceğini belirtmektedir.

Çizelge 2 incelendiğinde, bakteriyosinlerin, çoğunlukla, ısıya karşı yüksek düzeyde bir dayanım gösterdikleri anlaşılmaktadır. Bu ısı stabilitesi, sütün pastörizasyon normundaki (63°C/30 dakika veya 72°C/15 saniye) ısı işlemlerde aktif durumda kalmalarını sağlamaktadır. Kazeisin 80 ve propiyonisin PLG-1 ise nisbeten düşük sıcaklık derecelerinde inaktif hale geçmektedir.

Bakteriyosinlerin, asit ve nötral pH değerlerinde stabil durumda kalmaları, üretici mikroorganizmanın çevre koşullarına iyi bir uyum sağladıklarını göstermektedir. Nisin ve laktostrepsinler genele göre biraz farklı bir durum sergilemektedir. Nisin, en yüksek çözünürlük ve stabiliteyi pH 2.0'de göstermektedir. pH değerindeki artış, bu parametreleri olumsuz yönde etkilemektedir. Örneğin, pH 2.5'de % 12 olan çözünürlük oranı, pH 5.0'de % 4'e düşmektedir. Diğer taraftan, nisinin gıdalardaki stabilitesi pH ile sıcaklığın ortak etkisine bağlı olarak değişmektedir (HEINEMANN ve ark., 1965). Düşük veya yüksek asitlikteki ürünlerde 121°C'de 3 dakika ısıtma sonucu nisinin % 25-50'sinin yok olduğu saptanmıştır. Bir başka çalışmada da, pH 2.0'de 115.6°C'de ısıtmadan sonra stabilitesini koruduğu, buna karşın pH 5.0 ve 6.8 değerlerinde aktivitesini % 40-60 oranında yitirdiği belirlenmiştir (HURST, 1981). Nisinin bu özelliği, asidik karakterde olmayan gıdalarda kullanılabilirliği açısından dezavantaj sağlamaktadır (PIARD ve DESMAZEAUD, 1992). Laktostrepsinler de pH 4.6-5.0 arasında stabil durumda iken, pH 6.0 ve üzerindeki değerlerde geri dönüşümlü bir inaktivasyon göstermektedir (KOZAK ve ark., 1978).

Etki Şekli

TAGG ve ark. (1976: PIARD ve DESMAZEAUD'dan 1992)'na göre, bakteriyosinlerin duyarlı hücreler üzerindeki faaliyeti iki aşamalı bir süreçtir. İlk aşamada, bakteriyosinler konakçı bakterilerin hücre duvarlarındaki spesifik ya da spesifik olmayan reseptörlere tutunmaktadır. Geri dönüşümsüz ikinci aşamada ise, her bir bakteriyosin, spesifik hedef hücresinde patolojik değişimler meydana getirmektedir. Gram-pozitif bakterilerin ürettiği bakteriyosinlerin bu şekilde olan etki mekanizması, laktik asit bakterilerinin salgıladığı bakteriyosinlerde biraz farklılık göstermektedir. Bunların gram-pozitif bakterilere tutunması spesifik değildir, diğer bir ifadeyle, hem duyarlı hem de dayanıklı hücre yüzeylerine tutundukları gözlenmiştir (UPRETI ve HINSDILL, 1975: PIARD ve DESMAZEAUD'dan 1992; DAVEY, 1981; ZAJDEL ve ark., 1985; BHUNIA ve ark., 1991). Gram-negatif bakterilere ise tutunmadıkları görülmüştür (ANDERSON ve ark., 1988: PIARD ve DESMAZEAUD'dan 1992; BHUNIA ve ark., 1991).

Laktik asit bakteriyosinlerinin hücre duvarlarına spesifik olmayan bir tutunma eğilimi göstermelerinin, spesifik reseptörlerin varlığını gizleyebilen hidrofob nitelikteki yapıları ile bağlantılı olabileceği öne sürülmektedir (PIARD ve DESMAZEAUD 1992). Pediyosin ACh ile yürütülen bir çalışmada (BHUNIA ve ark., 1991), bu bakteriyosinin reseptör bölgelerinin proteinler, şekerler, lipidler ya da fosfatlar olmadığı, fakat lipotaykoik asit taşıyan bir fraksiyon olduğu saptanmıştır. Lipotaykoik asit, gram-pozitif bakterilerin hücre duvarlarında bulunan, ancak gram-negatif bakterilerde bulunmayan bir maddedir. Bu da, pediyosin ACh'nin neden yalnızca gram-pozitif bakterilere tutunduğunu açıklamaktadır. Laktostrepsin 5 ile yapılan bir başka araştırmada (ZAJDEL ve ark., 1985), önceden tripsinle muamele edilen bakteriyosinin indikatör hücrelere karşı daha az etkili olduğu ve duyarlı hücrelerin protoplastlarını hiç etkilemediği gözlenmiştir. Bu bulgu, laktostrepsin 5'in hücre duvarında bulunan protein tabiatındaki reseptörlere tutunduğunu ortaya koymuştur. Laktasin F ise, protoplastlar yoluyla bakterisit etki göstermekte, hücre duvarı, bağıışıklık göstermektedir (MURIANA ve KLAENHAMMER, 1991).

Bakteriyostatik etki gösteren laktosin 27 (UPRETI ve HINSDILL, 1975: PIARD ve DESMAZEAUD'dan 1992) dışındaki laktik asit bakteri bakteriyosinleri, litik (ANDERSON ve ark., 1988: PIARD ve DESMAZEAUD'dan 1992; PUCCI ve ark., 1988; BHUNIA ve ark., 1991) ya da litik olmayan (KOZAK ve ark., 1978; DAVEY 1981; BAREFOOT ve KLAENHAMMER 1983; PIARD ve ark., 1990) bir bakterisit etki yoluyla faaliyet göstermektedir. Bakteriyosin, hücre ile temasından sonra, birkaç dakika içinde canlı popülasyonda hızlı bir

azalma sağlamaktadır (BAREFOOT ve KLAENHAMMER 1983; ZAJDEL ve ark., 1985; PIARD ve ark., 1990). Logaritmik gelişme döneminde olan hücrelerin salgıladığı bakteriyosinler, duraklama döneminde olanların salgıladığı bakteriyosinlere göre daha fazla öldürücü etkiye sahiptir (DAVEY 1981; ZAJDEL ve ark., 1985). Değişik araştırmacılara göre, bakteriyosinler hedef hücreden K⁺ iyonu, ATP ve bazen de ultraviyole absorbe eden bileşiklerin sızmasına neden olurlar (UPRETI ve HINSDİLL 1975; PIARD ve DESMAZEAUD' dan 1992; SAHL ve BRANDIS 1983; PIARD ve DESMAZEAUD'dan 1992; ZAJDEL ve ark., 1985; BHUNIA ve ark. 1991). ATP'nin kaybı ve hücre içi pH değerinin korunmasında rol oynayan K⁺ iyonlarının akışı, duyarlı bakterinin enerji rezervlerinin tükenmesine yol açar. Bunun sonucunda, DNA, RNA, protein gibi makromoleküllerin sentezi azalma gösterir. Nisin ve laktokokin A ile gerçekleştirilen çalışmalarda, nisinin enerji yüklü bakteri membranında depolarizasyona yol açan bir madde gibi faaliyet gösterdiği (RUHR ve SAHL 1985; PIARD ve DESMAZEAUD'dan 1992) ve lipozomlarda gözenekler oluşturduğu (SAHL ve ark., 1987; PIARD ve DESMAZEAUD'dan 1992) belirlenmiştir. Bu da, nisinin aktivitesini göstermesi için membran reseptörüne gerek duymadığını ortaya koymaktadır. Laktokokin A da nisin gibi duyarlı hücrelerin sitoplazmik membranlarının geçirgenliğini artırıp membranın elektriksel potansiyelini azaltmakta (VAN BELKUM ve ark., 1991), fakat aktivitesini duyarlı hücrelerin membranında mevcut bir reseptör aracılığıyla ortaya koymaktadır.

Kullanım alanları

Bakteriyosinlerin, doğrudan doğruya ya da starter kültür halinde doğal biyokoruyucular olarak kullanılabilmesi için uygun ve düşük maliyetli üretim yollarının geliştirilmesi gerekmektedir. Şimdiki halde, bakteriyosinlerin saflaştırılma şekli, az miktarda bakteriyosin eldesi üzerinde odaklanmıştır. Endüstriyel boyuttaki uygulamalar için fazla miktarda bakteriyosin üretilmesi zorunludur. Yukarıda değinilen bakteriyosinler içinde, günümüzde yalnızca üç tanesinin ticari isim altında piyasaya sürüldüğü bilinmektedir. Bunlar, nisin preparatı olan "Nisaplin", bir pediococcus preparatı olan "Alta" ve Propionibacterium shermanii hücreleri içeren "Microgard"dır.

Bakteriyosinlerden nisinin ticari üretimine 1950'li yıllarda başlanmış olup, günümüzde yaklaşık 47 ülkede kullanımına izin verilmektedir (DELVES BROUGHTON 1990). Çeşitli peynirler, konserve sebze ve meyveler, kremalar, et mamülleri, dondurma, unlu gıdalar, mayonez ve şekerleme çeşitleri kullanımının uygun bulunduğu ürünlerdir. Doğal yolla oluştuğundan, genellikle toksik olmadığı ve allerjiye yol açmadığı belirtilmektedir (DAESCHEL 1989, DELVES BROUGHTON 1989).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) Uzmanlar Komitesi tarafından kabul edilen günlük alınabilir nisin miktarı, kg vücut ağırlığı başına, 0-82.5 mg arasında değişmektedir (DELVES BROUGHTON 1989). Birleşik Devletler Gıda ve İlaç idaresi (US FDA) ise (1988: DAVIDSON ve HOOVER'den, 1993), bir kişinin günlük alabileceği nisin miktarını 2.9 mg olarak kabul etmiştir.

Birleşik Devletler Gıda ve İlaç idaresi tarafından, pastörize süttten üretilen sürülebilir peynirler ve eritme peynirlerinde, *C. botulinum*'un gelişimini inhibe etmek üzere maksimum 250 ppm düzeyinde nisin kullanımına izin verilmektedir (DAVIDSON ve HOOVER 1993).

Nisin üreten starter kültürlerin, ilk kez isviçre tipi peynirlerde geç şişmeye neden olan *C. tyrobutyricum* ve *C. butyricum*'un gelişimini önledikleri belirlenmiş (HIRSCH ve ark. 1951), daha sonra aynı amaçla eritme peynirinde kullanılmışlardır (MC CLINTOCK ve ark., 1952).

Nisinin, eritme peynirlerinde gelişebilen ve toksin oluşturan *C. botulinum*' a karşı da etkili bir koruma sağladığı, spor yüküne (10-1000/g) ve eritme işlemi ile depolama sırasında nisin aktivitesinde meydana gelen kayba bağlı olarak, 100-250 IU/g arasında değişen düzeyde nisin kullanımıyla ürünün raf ömrünün artırılacağı bildirilmektedir (DELVES BROUGHTON 1989). Çeşitli aroma maddeleri ilavesiyle üretilen eritme peynirlerinde ise 500 IU/g gibi yüksek düzeyde nisin kullanımı gerekmektedir (DELVES BROUGHTON 1989). Ayrıca, eritme peynirinin pH değeri ile tuz ve fosfat içerikleri de *C. botulinum*'un inhibisyonu için gerekli nisin miktarını etkilemektedir (TANAKA ve ark., 1986). Sürülebilir peynirlerde de A ve B tipi *C. botulinum* gelişiminin ve spor oluşumunun önlenmesi ya da geciktirilmesinde 500-10000 IU/g nisin kullanımı gerekmektedir (SOMERS ve TAYLOR 1987). Yüksek rutubet, düşük tuz ve düşük fosfat içeriğine sahip sürülebilir peynirlerde daha yüksek miktarda nisine gereksinim duyulmaktadır.

Camembert peyniri (MAISNIER-PATIN ve ark. 1992) ile Camembert taklidi peynir (WILLIAMS ve TATINI, 1990) yapımında, nisin üreten *L.lactis ssp. lactis* suşlarının starter kültüre dahil edilmesiyle *L.monocytogenes*'in gelişimini inhibe edilebileceği görülmüştür. Ancak nisinin etkili olabilmesi için, üretimde kullanılan sütün listeria yükünün az sayıda (10^1 - 10^3 adet/ml) olması gerekmektedir (MAISNIER-PATIN ve ark. 1992). Nisinin, üretici bakteri suşlarının enzimatik sistemiyle inaktif hale geçebilmesi (HURST, 1966: MAISNIER-PATIN ve ark.'dan 1992) ve/veya peynir üretimi sırasında peyniraltı suyuna geçmesi, peynir yapımı sırasında pıhtıda tutulan nisin miktarının azalmasına yol açabilmektedir. Ayrıca, bir polipeptit olması nedeniyle peynirin olgunlaşması sırasında diğer enzim sistemlerinden de etkilenebilmektedir. Bu nedenlerle, peynirin olgunlaşma döneminde koruyucu etkisi giderek azalma göstermektedir.

Pastörize süt üreten işletmelerin tüketim merkezlerine uzak olduğu ülkelerle sıcak iklime sahip ülkelerde, 30-50 IU/ml arasında değişen miktarlarda nisin kullanımı ile, soğukta, çevre sıcaklığında ve çevre sıcaklığının üzerindeki derecelerde depolama sırasında daha uzun raf ömrüne sahip pastörize süt elde edilebileceği kaydedilmiştir (DELVES BROUGHTON 1989). Tam yağlı sterilize manda sütünde ve çikolatalı sütte, düşük düzeyde nisin kullanılarak ısı işlem süresi %80 oranında azaltılabilmiş ve bu yolla elde edilen ürünler 37°C'de 24 gün süreyle depolamada niteliklerini korumuştur (SHEHATA ve ark., 1976).

Evapöre süt gibi kutuda sterilize edilen ürünlere uygulanan ısı işlem koşullarında, *Bacillus stearothermophilus* ve *Clostridium thermosaccharolyticum* gibi termofilik spor oluşturan, ısıya dayanıklı bakteriler canlı kalabilmekte ve ürün yüksek sıcaklık derecelerinde depolandığı takdirde kısa sürede bozulabilmektedir. Böyle koşullarda, nisin kullanımı ile bu termofilik bozulmalardan kaçınılabileceği ve ürünün daha düşük sıcaklıklarda işlenebileceği bildirilmektedir (DAVIDSON ve HOOVER 1993).

Laktik asit bakterilerinin ürettiği bakteriyosinlerden pediyosin PA-1'in üreticisi olan *P.acidilactici* PAC 1.0'den elde edilen toz halindeki ekstrakt, Cottage peynirinde *L.monocytogenes* gelişimini önlemek amacıyla denenmiş ve bakteri sayısının 100-1000 adet/ml olması halinde etkili bir koruma sağladığı görülmüştür (PUC-CI ve ark. 1988).

Lactobacillus casei GG suşundan, son yıllarda, bir fermente peyniraltı suyu içeceği ile insan sağlığına faydalı olduğu bilinen yoğurt-benzeri ürün üretmek amacıyla yararlanılmıştır (SALMINEN ve ark., 1991)

Ticari bakteriyosin preparatlarından olan "Mikrogard", *Propionibacterium shermanii* ile pH 5.3'e kadar fermente edildikten sonra pastörize edilen A sınıfı yağsız bir süt ürünüdür (WEBER ve BROICH, 1986). Birleşik Devletler Gıda ve İlaç idaresi tarafından Cottage peynirlerinde kullanımına izin verilmektedir (COOPER, 1978; WEBER ve BROICH, 1986). Düşük molekül ağırlıklı (yaklaşık 700 Dalton) bir bakteriyosinle çok düşük konsantrasyonlardaki organik asitler ve diasetilden ibaret olan Mikrogard'ın antimikrobiyel bileşikleri, bu peynirlerde bozulmaya yol açan psikrotrofik bakterileri inhibe ederek ürünün raf ömrünü uzatmaktadır (LYON ve ark., 1993).

SONUÇ

Laktik ve propiyonik asit bakterilerinin ürettiği bakteriyosinlerin birçoğu, gıdalarda bozulmaya yol açan ya da gıda-kökenli olan patojen bakterilerin gelişimini inhibe edici bir etkiye sahip bulunduğu, süt ve ürünlerinde, direk ya da indirek yolla doğal koruma sağlamak amacıyla kullanılabilir.

Bakteriyosinler, nisbeten küçük moleküller olduklarından, katıldıkları gıdanın su fazına kolaylıkla difüze olabilmekte; çoğunlukla ısıya dayanıklı olduklarından, katıldıkları ürüne uygulanan ısı işlemde varlıklarını sürdürmekte ve geniş bir pH aralığında aktivite gösterebilmektedir. Bakteriyosin moleküllerinin katıldıkları gıda sistemlerinde protein ve yağ partiküllerine tutunma, gıda yüzeylerine bağlanma ve düşük bakteriyosin aktivite gösterme olasılıkları ise bazı olumsuz yönlerini oluşturmaktadır. Ancak, moleküler biyoloji alanındaki gelişmeler, bakteriyosinlerin aktivitesinin ve stabilitesinin artırılmasına, konakçı bakteri aralığının genişletilmesine ve herbiri farklı organizmalara karşı aktif birkaç bakteriyosinin bir suş içinde biraraya toplanmasına olanak sağlayarak bu olumsuzların çözüme kavuşturulmasına yardımcı olacaktır.

KAYNAKLAR

- ALI, C., C. LACROIX, D. THUAULT, C.M. BOURGEOIS, R.E. SIMARD, 1995. Characterization of diacetin B, a bacteriocin from *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* bv. *diacetylactis* UL720. Dairy Sci. Abstr., 58: 166.
- AL-ZOREKY, N., J. W. AYRES, W.E. SANDINE, 1993. Characterization of propionibacterial growth metabolites inhibitory for gram-negative bacteria. Dairy Sci. Abstr., 55: 616.
- BAREFOOT, S.F., T.R. KLAENHAMMER, 1983. Detection and activity of lactacin B, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus*. Appl. Env. Microbiol., 45:1808-1815.
- BAREFOOT, S.F., T.R. KLAENHAMMER, 1984. Purification and characterization of the *Lactobacillus acidophilus* bacteriocin lactasin B. Antimicrob. Agents Chemother., 26:328-334.
- BHUNIA, A., M.C. JOHNSON, B. RAY, N. KALCHAYANAD, 1991. Mode of bactericidal action of pediocin AcH, a bacteriocin from *Pediococcus acidilactici*. J. Appl. Bacteriol., 70:25-33.
- BRANEN, A.L., H.C. GO, R.P. GENSKE, 1975. Purification and properties of antimicrobial substances produced by *Streptococcus diacetylactis* and *Leuconostoc citrovorum*. J. Food Sci., 40:446.
- CARMINATI, D., G. GIRAFFA, M.G. BOSSI, 1989. Bacteriocin-like inhibitors of *Streptococcus lactis* against *Listeria monocytogenes*. J. Food Prot., 52:614-617
- COOPER, P.J., 1978. Improving shelf life of cottage cheese. Int. Dairy. Congr. 20:1014.
- COUSIN, M. A., 1982. Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products: a review. J. Food Prot., 45:172.
- DAESCHEL, M.A., 1989. Antimicrobial substances from lactic acid bacteria for use as food preservatives. Food Technol., 42:164.
- DAESCHEL, M.A., T.R. KLAENHAMMER, 1985. Association of a 13.6-megadalton plasmid in *Pediococcus pentosaceus* with bacteriocin activity. Appl. Env. Microbiol., 50:1538-1541.
- DAESCHEL, M.A., M.C. MCKENNEY, L.C. McDONALD, 1990. Bacteriocidal activity of *Lactobacillus plantarum* C-11. Food Microbiol., 7:91.
- DAVEY, G.P., 1981. Mode of action of diplococcin, a bacteriocin from *Streptococcus cremoris* 346. N.Z.J. Dairy Sci. Technol., 16:187.
- DAVEY, G.P., B.C. RICHARDSON, 1981. Purification and some properties of diplococcin from *Streptococcus cremoris* 346. Appl. Env. Microbiol., 41:84.
- DAVIDSON, P. M., D. G. HOOVER, 1993. Antimicrobial components from lactic acid bacteria. In: "Lactic Acid Bacteria". Ed. Salminen, S., A. von Wright. pp. 127-159. Marcel Dekker Inc. 270 Madison Avenue, New York, 10016
- DELVES BROUGHTON, J., 1990. Nisin and its use as a food preservative. Food Technol., 44:100-117.
- DELVES BROUGHTON, J., 1989. Nisin in food preservation. Gıda Sanayii Dergisi, 11:37-41.
- DEVOYOD, J. J., F. POPULAIN, 1988. Les *Leuconostocs* properties: leur role en technologie laitiere. Le Lait, 68:249.
- GEIS, A., J. SINGH, M.TEUBER, 1983. Potential of lactic streptococci to produce bacteriocin. Appl. Env. Microbiol., 45:205-211.
- GONZALES, C.F., B.S. KUNKA, 1987. Plasmid-associated bacteriocin production and sucrose fermentation in *Pediococcus acidilactici*. Appl. Env. Microbiol., 53:2534-2538.
- HANLIN, M. B., N. KALCHAYANAND, P.RAY, B. RAY, 1993. Bacteriocins of lactic acid bacteria in combination have greater antibacterial activity. J. Food Prot., 56:252-255.
- HARRIS, L.J., M.A. DAESCHEL, M.E. STILES, T.R. KLAENHAMMER, 1989. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes*. J.Food Prot., 52:384-387.
- HEINEMANN, B., L. VORIS, C.R. STUMBO, 1965. Use of nisin in processing food products. Food Technol., 19:592.
- HIRSCH, A., E. GRINSTED, 1954. Methods for the enumeration of anaerobic sporeformers from cheese, with observations on the effect of nisin. J. Dairy Res., 21:101.
- HIRSCH, A., E. GRINSTED, H.R.CHAPMAN, A.T.R. MATTICK, 1951. A note on the inhibition of an anaerobic sporeformer in swiss-type cheese by a nisin producing *Streptococcus*. J.Dairy Res., 18:205-206.
- HOLO H., O. NILSEN, I.F NES, 1991. Lactococcin A, a new bacteriocin from *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*: isolation and characterization of the protein and its gene. J. Bacteriol., 173:3879-3887.
- HURST, A., 1981. Nisin. Adv. Appl. Microbiol., 27:85-103.
- JARVIS, B., R.R. MAHONEY, 1969. Inactivation of nisin by α -chymotrypsin. J.Dairy Sci., 52:1448-1450.
- JOERGER, M.C., T.R. KLAENHAMMER, 1986. Characterization and purification of helveticin J and evidence for a chromosomally determined bacteriocin produced by *Lactobacillus helveticus* 481. J.Bacteriol., 167:439-446.
- KLAENHAMMER, T. R., 1988. Bacteriocins of lactic acid bacteria. Biochimie, 70:337-349.
- KOZAK, W., J.BARDOWSKI, W.T.DOBRZANSKI, 1978. Lactostrepcins-acid bacteriocins produced by lactic streptococci. J.Dairy Res., 45:247-257.
- LYON J. W., B. A. GLATZ, 1991. Partial purification and characterization of a bacteriocin produced by *Propionibacterium thoenii*. Appl. Env. Microbiol., 57:701-706.
- LYON, W.J., J. K. SETHI, B. A. GLATZ, 1993. Inhibition of Psychrotrophic organisms by Propionicin PLG-1, a bacteriocin produced by *Propionibacterium thoenii*. J. Dairy Sci., 76:1506-1513.

- MAISNIER-PATIN, S., N. DESCHAMPS, SR. TATINI, J. RICHARD, 1992. Inhibition of *Listeria monocytogenes* in Camembert cheese made with a nisin-producing starter. *Le Lait*, 72:249-263.
- MATHIUE, F., M. MICHEL, A. LEBRIHI, G. LEFEBVRE, 1994. Effect of bacteriocin CP5 and of the producing strain *Carnobacterium piscicola* on viability of *Listeria monocytogenes* ATCC 15313 in solution, broth and skimmed milk, at various incubation temperatures. *Dairy Sci. Abstr.*, 58: 74.
- Mc CLINTOCK, M., L. SERRES, J. J. MARZOLF, A. HIRSCH, G. MOCQUPT, 1952. Action inhibitrice des streptocoques producteurs de nisine sur le developpment des sporules anaerobies dans le fromage de Gruyere fondu. *J. Dairy Res.*, 19:187.
- MOTLAGH, A. M., M. C. JOHNSON, B. RAY, 1991. Viability loss of foodborne pathogens by starter culture metabolites. *J. Food Prot.*, 54:873-878.
- MOTLAGH, A. M., S. HOLLA, M. C. JOHNSON, B. RAY, 1992. Inhibition of *Listeria ssp.* in sterile food systems by pediocin AcH, a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici* H. *J. Food Prot.*, 55:337-343.
- MURIANA, P. M., T.R. KLAENHAMMER, 1987. Conjugal transfer of plasmid-encoded determinants for bacteriocin production and immunity in *Lactobacillus acidophilus* 88. *Appl. Env. Microbiol.*, 53:553.
- MURIANA, P. M., T.R. KLAENHAMMER, 1991. Purification and partial characterization of lactacin F, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus* 11088. *Appl. Env. Microbiol.*, 57:114-121.
- PIARD J. C., M. DESMAZEAUD, 1992. Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. 2. Bacteriocins and other antibacterial substances. *Lait*, 72:113-142.
- PIARD J. C., F. DELORME, G. GIRAFFA, J. COMMISSAIRE, M. DESMAZEAUD, 1990. Evidence for a bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* CNRZ 481. *Neth. Milk Dairy J.*, 44:143-158.
- PUCCI, M.J., E.R. VEDAMUTHU, B.S. KUNKA, P.A. VANDENBURG, 1988. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by using bacteriocin PA-1 produced by *Pediococcus acidilactici* PAC1.0. *Appl. Env. Microbiol.*, 54:2349-2353.
- RAMMELSBURG M., F. RADLER, 1990. Antibacterial polypeptides of *Lactobacillus* species. *J. Appl. Bacteriol.*, 69:177-184.
- REDDY, G.V., K.M. SHAHANI, B.A. FRIEND, R.C. CHANDAN, 1983. Natural antibiotic activity of *Lactobacillus acidophilus* and *bulgaricus*: III: Production and partial purification of bulgarican from *Lactobacillus bulgaricus*. *Cult. Dairy Prod. J.*, 18:15.
- SALMINEN, S., S. GORBACH, K. SALMINEN, 1991. Fermented whey drink and yogurt-type product manufactured using *Lactobacillus* strain. *Food Technol.*, 45:112.
- SCHILLINGER, U., F. K. LUCKE, 1989. Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. *Appl. Env. Microbiol.*, 55: 1901-1906.
- SHEHATA, A. E., S. M. KAHAFATALLA, M. H. I. MAGDOUB, A. A. HOFI, 1976. The use of nisin in the production of sterilized milk drinks. *Egyptian J. Dairy Sci.*, 4:37-42.
- SINHA, R. P., 1991. Antibacterial activity of *Lactobacillus bulgaricus* isolated from yogurt. *J. Dairy Sci.*, 74 (Supplement1) 85.
- SOMERS, E. B., S. L. TAYLOR, 1987. Antibotulinal effectiveness of nisin in pasteurized process cheese spreads. *J. Food Prot.*, 50:842-848.
- SPELHAUG, S. R., S. K. HARLANDER, 1989. Inhibition of foodborne bacterial pathogens by bacteriocins from *Lactococcus lactis* and *Pediococcus pentosaceus*. *J. Food Prot.*, 52:856-862.
- TANAKA, N., E. TRAISSMAN, P. PLANTIGUA, L. FINN, W. MESKE, J. GUGGISBERG, 1989. Evaluation of factors involved in antibotulinal properties of pasteurized process cheese spreads. *J. Food Prot.*, 49:526.
- TSAI, H. J., W. E. SANDINE, 1987. Conjugal transfer of nisin plasmid gene from *Streptococcus lactis* 7962 to *Leuconostoc dextranicum* 181. *Appl. Env. Microbiol.*, 53:352.
- Van BELKUM M. J., J.KOK, G.VENEMA, H.HOLO, I.F. NES, W.N.KONINGS, T. ABEE, 1991. The bacteriocin lactococcin A specifically increases the permeability of lactococcal cytoplasmic membranes in a voltage-independent, protein-mediated manner. *J. Bacteriol.*, 173: 7934-7941.
- VANDEVOORDE, L., M. V. WOESTYNE, B. BRUYNEEL, H. CHRISTIANA, W. VERSTRAETE, 1992. Critical factors governing the competitive behaviour of lactic acid bacteria in mixed cultures. In: "The Lactic Acid Bacteria. Vol. 1: The Lactic Acid Bacteria In Health and Disease". Ed. Wood, B.J.B. pp. 447-475. Elsevier Applied Science. London and New York.
- VINCENT, J. G., R. C. VEOMETT, R. F. RILEY, 1959. Antibacterial activity associated with *Lactobacillus acidophilus*. *J. Bacteriol.*, 78:477.
- WEBER, G.H., W.A. BROICH, 1986. Shelf life extension of cultured dairy foods. *Cult. Dairy Prod. J.*, 21:19.
- WILLIAMS, D. J., S. R. TATINI, 1990. Behavior of *Listeria monocytogenes* in associative growth with nisin producing starter cultures. *J. Dairy Sci.*, 73:87.
- ZAJDEL, J. K., P. CEGLOWSKI, W. T. DOBRZANSKI, 1985. Mechanism of action of lactostrepcin 5, a bacteriocin produced by *Streptococcus cremoris* 202. *Appl. Env. Microbiol.*, 49:969.